

ENXEÑARÍA XENÉTICA

1- A BIOTECNOLOXÍA

Por **biotecnoloxía** enténdese o uso de organismos vivos ou de compostos obtidos deles para acadar produtos de valor para o ser humano.

Existe unha **biotecnoloxía tradicional** que o ser humano leva empregando dende hai miles de anos e para a cal non se precisan coñecementos de xenética. Por exemplo:

- **O PAN:** Unha vez que se fai a masa do pan, hai que deixala “subir” durante un tempo antes de cocela. O mesmo sucede coa masa da empanada ou das pizzas. Isto débese á acción dunha levadura a *Saccharomyces cerevisiae*, que ao alimentarse de certas substancias da fariña, produce un gas que fai que a masa aumente de volume, dándolle unha textura esponxosa ao pan.

- **PRODUTOS LÁCTEOS:** A partires do leite e grazas á acción de algunhas bacterias, podemos fabricar iogur ou queixo.

- **BEBIDAS ALCOHÓLICAS:** Coma o viño ou a cervexa. Unha vez máis débese á acción da *Saccharomyces cerevisiae*, que converte o azucre en alcohol.

- **VACINAS:** Consisten en introducir no corpo dunha persoa sa, microorganismos mortos ou partes deles. Así, o noso corpo creará defensas contra el para cando entre o microorganismo vivo que si podería producir unha enfermidade.

- **ANTIBIÓTICOS:** Trátase de substancias químicas producidas por microorganismos, coma fungos, que matan outros microorganismos, principalmente bacterias. Permítenos combater infeccións bacterianas.

- **BIOPLÁSTICOS:** Algunhas bacterias fabrican substancias moi semellantes ao plástico como reserva enerxética. A partires destas moléculas podemos fabricar bolsas de plástico biodegradables, é dicir, que unha vez no ambiente sexan degradadas en pouco tempo por microorganismos existentes na natureza. O problema que teñen os bioplásticos na actualidade é que a súa fabricación é máis cara que a dos plásticos normais normais.

- BACTERIAS CAPACES DE DEGRADAR OS HIDROCARBUROS: Existen bacterias capaces de alimentarse de hidrocarburos e que poden ser empregadas para eliminar a contaminación producida por un vertido de petróleo. De feito, foron empregadas en Galicia para tratar de limpar as costas tras o naufraxio do Prestige en 2003.

- OBTENCIÓN DE VARIEDADES DE PLANTAS E ANIMAIS DE UTILIDADE PARA O SER HUMANO: Dende que o ser humano se fixo gandeiro e agricultor, foi seleccionando aquelas plantas e animais máis produtivos ou cunhas determinadas características.

Por exemplo, os tomates que cultivamos derivan dunha variedade silvestre moi distinta da que comemos; o seu froito é máis pequeno e o seu sabor e moito menos agradable. O ser humano, ao longo de miles de anos, foi seleccionando e cultivando aquelas plantas de tomate que producían uns froitos máis grandes e de mellor sabor ata acadar as distintas variedades de tomate agrícola que temos na actualidade.

O mesmo aconteceu con practicamente todas as plantas que comemos, como as patacas, as cenouras, os pementos, as leitugas...

No caso dos animais sucede o mesmo. Actualmente existen distintas variedades de vaca; unhas producen moita carne e outras moita leite. Estas variedades lograronse por selección dirixida durante miles de anos a partir das vacas silvestres e o mesmo aconteceu coas cabras, as ovellas, os porcos... e incluso cos cans e os gatos.

Pero hoxe en día, ademais desta biotecnoloxía tradicional, existe unha biotecnoloxía moderna fundamentada nos logros obtidos pola **enxeñaría xenética**. Disto é do que imos tratar no resto do tema.

2- A ENXEÑARÍA XENÉTICA E OS TRANSXÉNICOS

No século XX, a difusión das ideas de Mendel, a teoría cromosómica que colocaba aos xenes nos cromosomas, os avances tecnolóxicos e, especialmente, o descubrimento da dobre hélice de ADN, marcaron o inicio da bioloxía molecular.

A aplicación de tódolos coñecementos obtidos a través da bioloxía en xeral e da bioloxía molecular en particular, deu lugar a unha nova disciplina, a **enxeñaría xenética**; un conxunto de técnicas que nos permite manipular e modificar o ADN.

A enxeñaría xenética permítenos cortar fragmentos de ADN e introducilos no ADN doutras células ou organismos. Os organismos cuxo material xenético foi alterado por medio de técnicas de enxeñaría xenética denomínanse **organismos modificados xeneticamente (OMX) ou transxénicos**.

Actualmente obtemos moitos produtos a partires de organismos transxénicos, como por exemplo a insulina coa que se trata aos diabéticos.

A insulina é unha proteína e a súa síntese está codificada nun único xene. Para obter esta insulina, empréganse bacterias que non producen insulina, pero ás que se lles introduce no seu xenoma o xene da insulina humana. Deste xeito esta bacteria pasa a producir insulina que nós podemos empregar para tratar aos diabéticos.

Como se fai isto?:

1º- Localízase o xene que se quere manipular. Neste caso o xene da insulina humana. Para iso necesitamos coñecer a súa secuencia de nucleótidos.

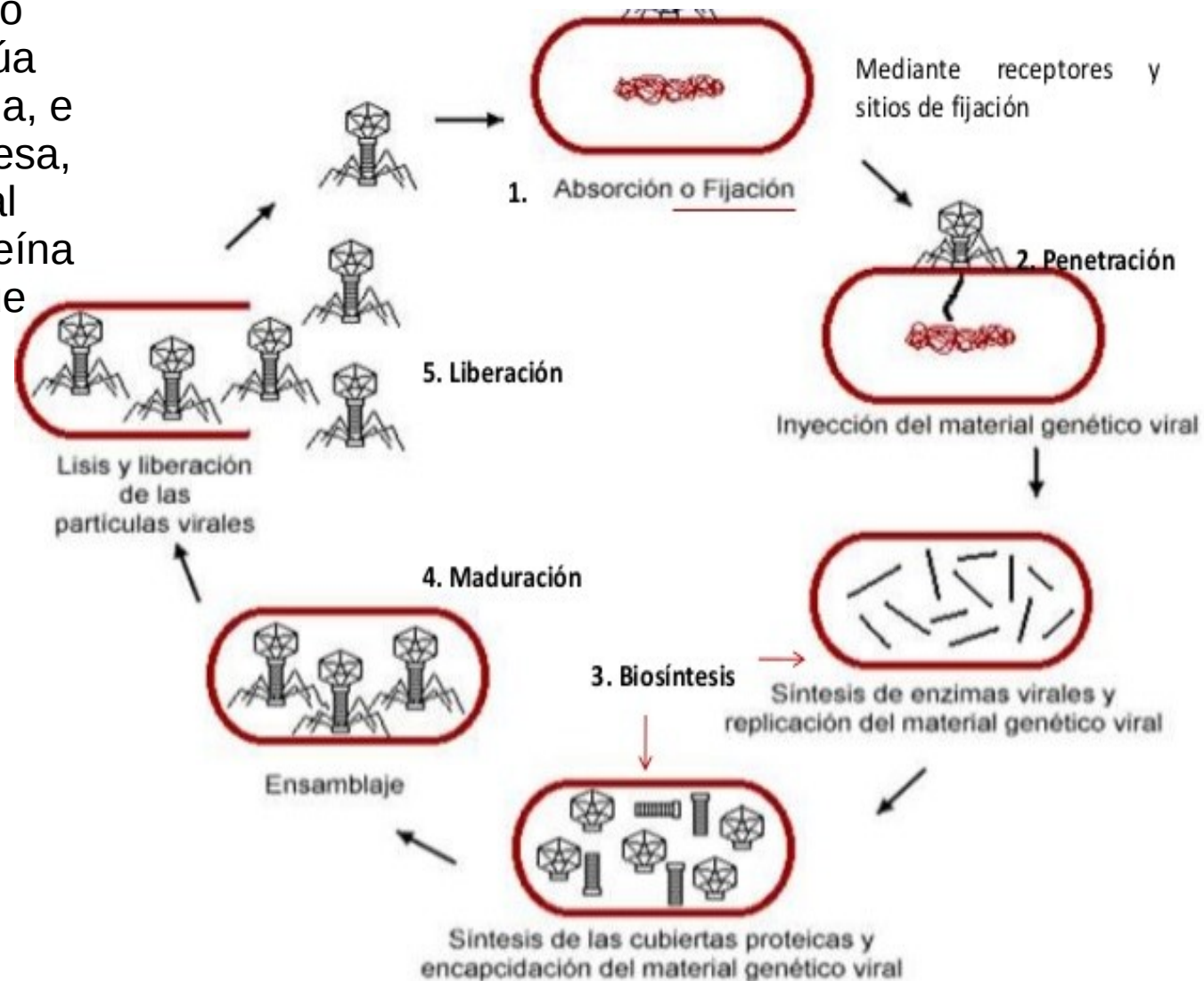
2º- Íllase o xene por medio dunhas encimas (proteínas) especiais, as **encimas de restrición**. Estas encimas cortan o ADN por zonas específicas. Por exemplo, se nós sabemos que o xene da insulina comeza cos nucleótidos ATTAC e que remata cos nucleótidos CCCGG, collemos unha encima de restrición que detecte a secuencia ATTAC e outra que detecte a secuencia CCCGG. Se poñemos estas encimas en contacto co xenoma humano, vano cortar neses puntos, polo que nos deixarán xenes da insulina libres. Poderíase dicir que as encimas de restrición veñen sendo unha especie de tesoiras microscópicas teledirixidas.

3º- Introdúcese o xene no organismo de interese. Neste caso unha bacteria. Para iso úsanse **vectores**; estruturas con capacidade de penetración nas células que utilizadas para introducir nelas os fragmentos de ADN de interese. Os vectores máis utilizados son:

-Plásmidos: Pequenas moléculas de ADN circular que se atopan libres no citoplasma das bacterias. Os plásmidos, cando se atopan libres no medio, fóra dunha célula, son capaces de penetrar noutras células e introducirse no seu material xenético.

-Virus: Formas acelulares compostas por unha envoltura proteica en cuxo interior se atopa o material xenético do virus. Os virus, para reproducirse insiren o seu material xenético no ADN das células. Ese material xenético ten a información precisa para facerse co control da célula e obrígala a que produza máis virus, o cal, normalmente, termina por matar a célula (Ver http://recursostic.educacion.es/ciencias/biosfera/web/profesor/animaciones/ciclo_litico.swf e figura).

Se nós eliminamos dun virus o material xenético que codifica a súa reprodución e eliminación da célula, e lle incluimos o xene que nos interesa, esa célula será unha célula normal que ademais vai a producir a proteína que codifica ese xene, no caso que nos ocupa a insulina.



Para poder meter o xene da insulina dentro dun plásmido ou dun virus, primeiro teremos que cortar o ADN do plásmido ou do virus. Iso faise novamente mediante encimas de restrición. A continuaciónponse en contacto o ADN do vector cortado co fragmento de ADN que se correspondan co xene da insulina e empréganse outras encimas, as ligasas, proteínas que insertan os fragmentos cortados no ADN dos vectores. Digamos que fan o mesmo que as encimas de restrición pero á inversa. Son algo así como pegamento microscópico.

4º- Ponse en contacto o vector modificado coa célula que queremos modificar, neste caso unha bacteria. Pasado un certo tempo o vector introducirá o seu ADN, e en consecuencia o xene da insulina, no ADN da bacteria.

5º- Confirmación: Unha vez xa temos a bacteria co xene da insulina, temos que asegurarnos de que realmente foi infectada polo vector e de que realmente recibiu ese xene. Para iso, no vector, ademais de introducir o xene de interese, neste caso a insulina, tamén se introduce un xene que fará resistente á bacteria a un antibiótico. Así, unha vez todo o proceso finalizou, suminístraselle á bacteria un antibiótico, se sobrevive quere dicir que recibiu o xene de resistencia e, en consecuencia, tamén o da insulina.

6º- Clonación: Unha vez temos unhas poucas bacterias que sabemos que recibiron o xene da insulina, todo o que temos que facer é crear as condicións adecuadas para que a bacteria se reproduza. As bacterias reproducense de forma asexual por bipartición, é dicir, a partires dunha célula fórmanse dúas células xeneticamente idénticas (clons).

Así, cando teñamos un número importante de bacterias transxénicas co xene da insulina, seremos capaces de obter grandes cantidades de insulina coas que tratar aos enfermos de diabetes.

BENEFICIOS DOS TRANSXÉNICOS

- **Resistencia a pragas e un menor uso de insecticidas:** En España cultívase dende o ano 1995 unha variedade de millo transxénico (millo-Bt) resistente ao ataque dos trades, larvas de bolboretas que destrúen as plantas de millo ao perforar os seus talos. Ao xenoma deste millo incroporouse un xene procedente de certas bacterias que fabrican unha proteína velenosa para os trades. As larvas que atacan as plantas transxénicas de millo morren intoxicadas.
- **Retraso na maduración e aumento na durabilidade dos alimentos:** No ano 1994 comercializouse un tomate transxénico que tiña inhibido o xene que interviña na maduración. Deste xeito os tomates tardaban máis tempo en podreecer podéndose recoller da planta maduros e transportalos así ás tendas. Por desgraza os tomates maduros sofren moitos danos no seu transporte, polo que a empresa que os creou non puido obter beneficios.
- **Producción de plantas resistentes a condicións climáticas desfavorables:** Os peixes que viven nas zonas polares producen unha substancia anticonxelante que evita que se conlexe o seu sangue. Conseguiuse introducir o xene que produce esa substancia en fresas, de tal xeito estas fresas son resistentes ás xeadas.
- **Plantas resistentes a herbicidas:** Introdúceselle a unha planta un xene que lle dá resistencia ante un herbicida en concreto. Logo votamos ese herbicida sobre a nosa plantación, e dado que dita planta é resistente ao herbicida, morrerán tódalas demais plantas (malas herbas) pero a que nós queremos cultivar non.
- **Diminución dos labores de labranza tradicionais:** Por exemplo, no caso anterior, como xa non temos que arrincar malas herbas, nos aforramos ese traballo.
- **Alimentos con determinados nutrientes:** O arroz é un alimento de longa duración e fácil de conservar, polo que se emprega moito para combater a fame en moitos países do mundo. Pero o arroz non ten vitamina A, polo que se unha persoa só se alimenta de arroz terá déficits alimentarios. Conseguiuse unha variedade transxénica de arroz que produce vitamina A.
- **Aumento da produtividade:** Recente logrouse introducir o xene que sintetiza a hormona do crecemento humano no salmón do norte. O resultado son salmóns dúas veces máis grandes que os atopados na natureza.

- Obetención de medicamentos:** Por exemplo obtención de insulina para tratar aos diabéticos. Outros exemplos son:
- + Factor VIII de coagulación: As persoas con hemofilia non producen esta proteína.
 - + Hormona de crecemento: Hai nenos que non producen esta hormona e sofren de ananismo.
 - + Interferón: Substancias que nos axuda a combater enfermidades víricas.
 - + Antibióticos: Empregámoslos para combater enfermidades bacterianas.
- Cría de porcos con órganos que teñan proteínas humanas:** Actualmente aínda non se pode facer, pero isto permitiría que animais coma os porcos tivesen órganos que puidesen ser compatibles coas persoas, de tal xeito que se farían transplantes de órganos coma riles ou corazóns sen risco de rexeitamento.
- Diminución nos custos de produción:** Ao conseguir plantas tranxénicas con menos requerimentos (que necesiten menos auga, menos fertilizantes, menos herbicidas, etc.) os custos da súa produción serán menores.
- Mellora da calidade:** Mellor sabor, textura, cor, etc.

RISCOS DOS TRANXÉNICOS

- Pon en perigo a biodiversidade:** Cando nós creamos unha planta tranxénica, nada impide que o pole desa planta fecunde ás plantas naturais. Se isto sucede, estamos introducindo nunha especie natural novos xenes e iso pode alterar o equilibrio entre as especies. Por exemplo, se o millo tranxénico resistente ao trade escapa á natureza, probablemente o trade desaparecerá e as especies que se alimenten del pode que tamén.
- Aparición de alerxias a proteínas extrañas:** Por exemplo, no caso das fresas resistentes ao frío, se unha persoa é resistente á proteína anticonxelante dos peixes e se come unha fresa tranxénica, vai ter unha reacción alérxica.
- Adquisición de resistencia aos antibióticos por parte das bacterias:** Como xa vimos, na produción de tranxénicos empréganse xenes resistentes a antibióticos. Por accidente podemos crear bacterias resistentes a antibióticos que nos ataquen e estariamos indefensos ante elas.

- Monopolio de multinacionais sobre os alimentos: Cada vez estanse a crear máis plantas transxénicas cuxas sementes non son viables. Deste xeito, se nós mercamos unha planta de tomate, non poderemos empregar as sementes deses tomates para obter máis tomates o ano que ven. Isto obríganos a mercar tódolos anos as plantas. Se nalgún momento tódalas plantas fosen así (existen multinacionais que están a traballar para que isto suceda no futuro), nada impediría que as empresas que as comercialicen incrementasen os prezos, agravando os problemas de fame no mundo. Algunhas das multinacionais que están levando a cabo esta política son Monsanto, Pioneer, Agrevo e Novartis.

- Erosión xénica: O uso masivo de transxénicos pode facer, e de feito está a facelo, que as variedades tradicionais de plantas desaparezan. Hai que recordar que estas variedades son o resultado de miles de anos de selección. Se desaparecen farano para sempre e non sabemos o que nos depara o futuro, tal vez algún día as volvamos necesitar.

- TRABALLO VOLUNTARIO: Que é a bóveda da fin do mundo? Onde está? Cal é a súa finalidade?

SABES O QUE COMES?

Lista vermella e verde dos alimentos transxénicos de Greenpeace:

<http://www.greenpeace.org/espana/es/reports/gu-a-roja-y-verde/>

- Actividades:

1- Imaxínate que se atopa vida en Marte e que os organismos marcianos teñen un código xenético diferente ao noso. Poderíamos empregar as técnicas de enxeñaría xenética para introducir un xene marciano nun organismo da Terra e obter así organismos terrestres con características marcianas? Por que?

2- Os organismos transxénicos levan no seu ADN xenes doutras especies. Si te comes un organismo transxénico, podes incorporar ao teu ADN eses xenes? Por que?

3- Emprega a lista vermella e verde de alimentos transxénicos de Greenpeace e mira a ver se na vosa casa mercades produtos transxénicos.

3- A CLONACIÓN

A clonación é unha técnica que nos permite obter copias xenéticamente idénticas de individuos completos ou partes deles.

Para poder levar a cabo esta técnica precisamos de células totipotentes ou células nai. Trátase de células coa capacidade de converterse en calquera parte dun organismo ou nun organismo completo.

Tanto os vexetais como os animais máis sinxelos, posúen células nai. Grazas a iso, se collemos unha ramiña dunha árbore e a plantamos no chan, poderemos obter unha árbore adulta xenéticamente idéntica á orixinal. Esta é tamén a razón pola cal se lle arrincamos un brazo a unha estrela de mar, esta logra rexeneralo e a partires dese brazo se orixina outra estrela de mar xenéticamente igual á orixinal.

Pero nos animais máis complexos, coma nós, en estado adulto, non existen células nai.

Grazas aos novos coñecementos en xenética, xa podemos lograr células nai en animais complexos, o cal abre as portas á súa clonación.

Basicamente existen 2 tipos de clonación:

- Clonación reprodutiva: Consiste en crear individuos completos xenéticamente idénticos ao orixinal.

- Clonación terapéutica: Consiste en crear órganos xenéticamente idénticos aos do individuo orixinal.

Así, mediante a clonación reprodutiva poderíamos crear unha persoa xeneticamente idéntica a ti, mentres que mediante a terapéutica poderíamos crear un fígado xeneticamente igual ao teu.

Para obter unha célula nai que nos permita obter individuos ou órganos clónicos séguense os seguintes pasos:

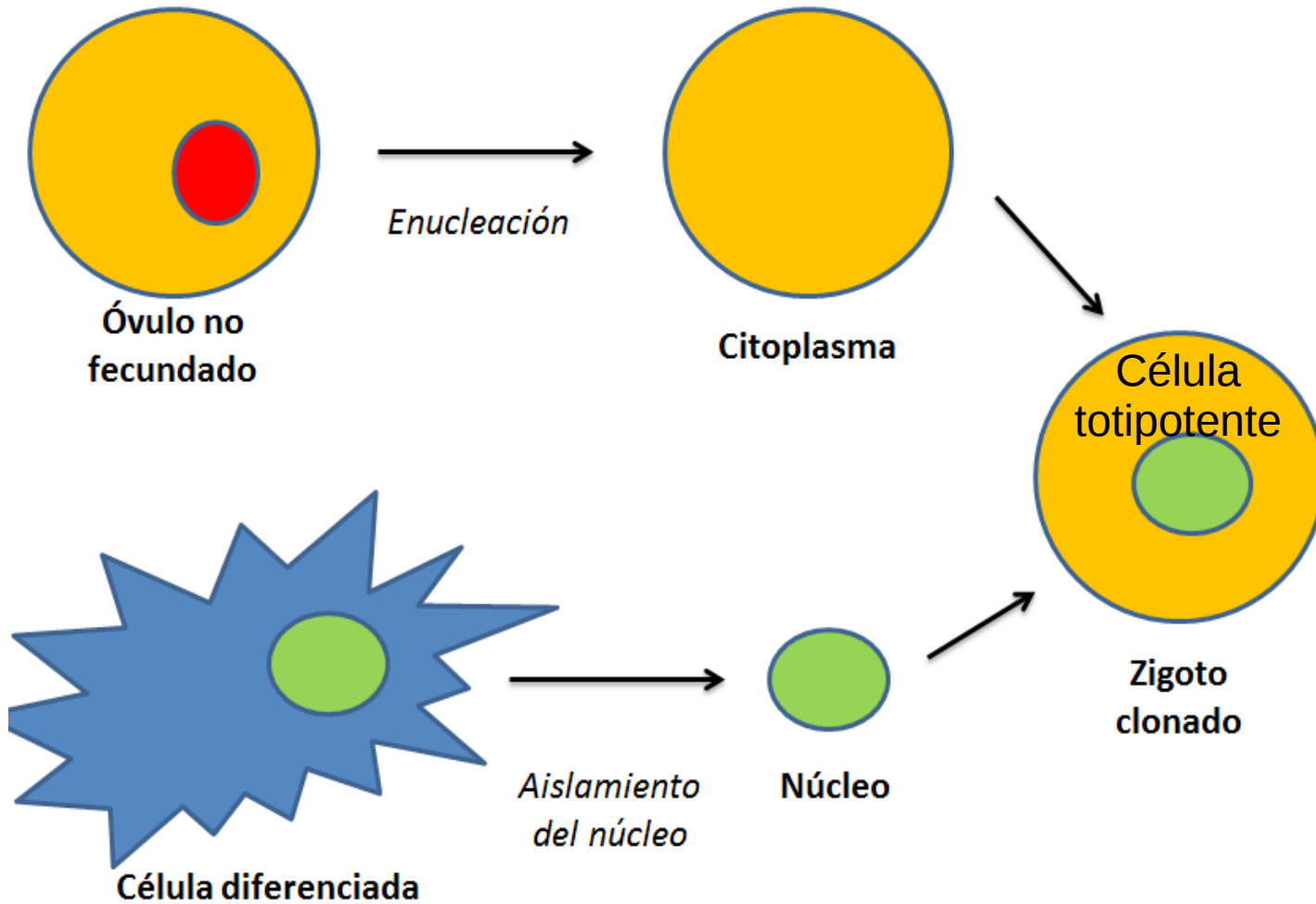
1- A un óvulo extráeselle o núcleo.

2- A unha célula somática extráeselle o núcleo.

3- Introdúcese o núcleo da célula somática no óvulo sen núcleo, obténdose así un cigoto.

4- Estimúlase electricamente o óvulo co novo núcleo para que se comece a dividir.

Como se obtén unha célula totipotente?



No caso da clonación terapéutica habería que reprogramar ese cigoto para que non dera lugar a un individuo completo senón a un só órgano, é dicir, para que manifestase só o material xenético que codifica a información para a creación dun órgano en particular. Isto aínda non se logrou, polo que a clonación terapéutica, a día de hoxe é un caso teórico que se podería lograr no futuro. De conseguilo teríamos unha forma de lograr órganos para transplantes que non fosen rexeitados polo receptor.

- TRABALLOS VOLUNTARIOS:

- 1- Busca información sobre a ovella Dolly; quen foi, como naceu, como morreu?
- 2- Busca información sobre os bancos de cordóns umbilicais; que son? Para que serven? Quen os pode empregar?

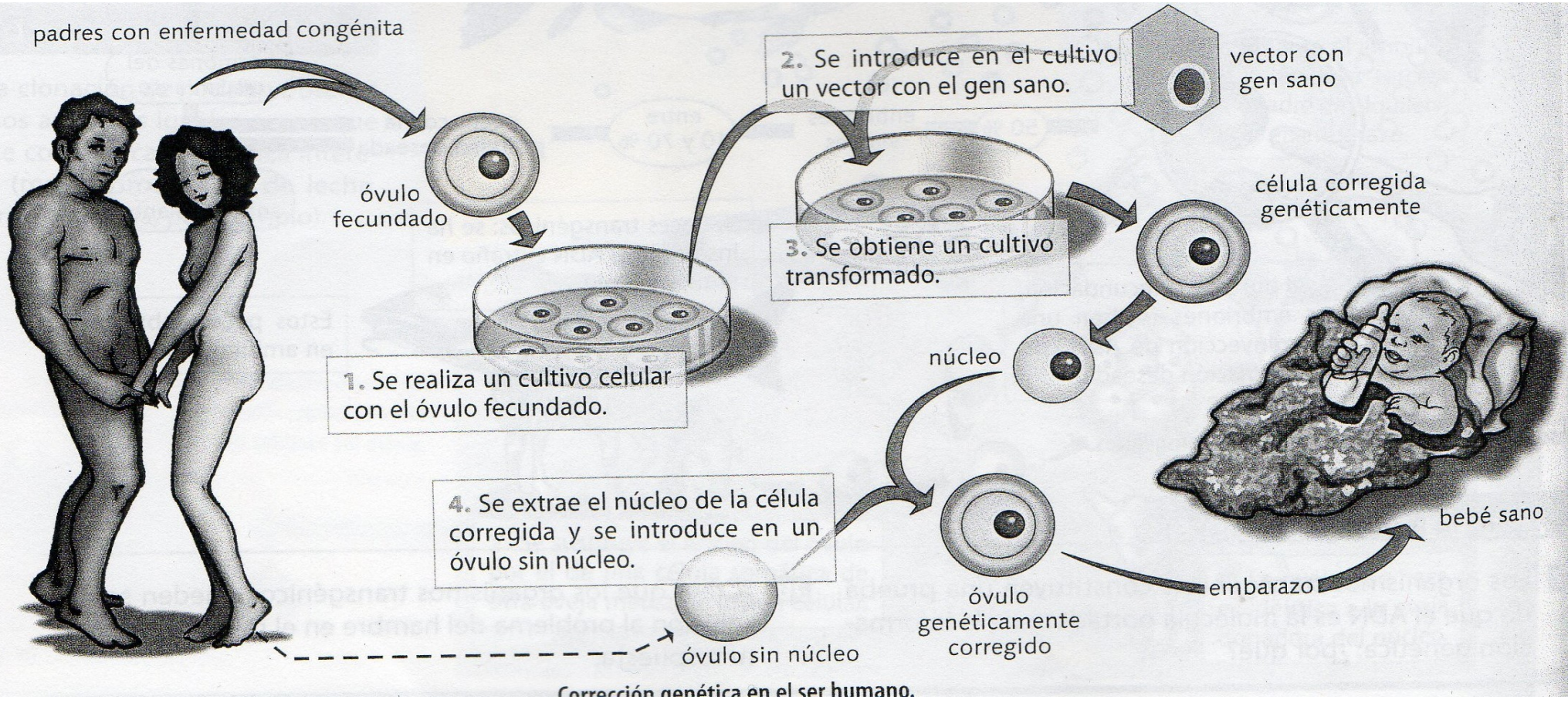
- Actividades:

- 1- Se fixéramos un clon teu, sería idéntico a ti, é dicir, tería a túa mesma personalidade, gustos e afeccións? Por que?
- 2- Se fixéramos un clon de Pau Gasol, inevitablemente acabaría sendo un bo xogador de baloncesto?

Existe un lugar de onde podemos obter células nai na nosa especie: os cordóns umbilicais. As células sanguíneas dos cordóns umbilicais son totipotentes, polo que se se conservan tralo nacemento do individuo, poderían servir nun futuro para realizarlle un transplante plenamente compatible con el.

Para iso se crearon os bancos de cordóns, lugares nos que se conservan estas células por si a futura persoa adulta as precisa. De momento só existen bancos de cordóns privados, é dicir, para que nos conserven as células nai dos cordóns umbilicais dos nosos fillos hai que pagar.

- COMBINACIÓN DE DISTINTAS TÉCNICAS DE ENXEÑARÍA XENÉTICA: HUMANOS TRANSXÉNICOS: Se sabemos que toda a descendencia dunha parella vai sufrir unha enfermidade xenética, poderíamos empregar algunhas das técnicas de enxeñaría xenética vistas ata o de agora para dar lugar a un individuo san. A día de hoxe aínda non se posúe a tecnoloxía axeitada para facelo, pero se se conseguise estaríamos a falar de seres humanos transxénicos.



4- TERAPIA XÉNICA

É unha técnica que permitiría tratar certas enfermidades xenéticas a través da modificación xenética dos tecidos afectados.

Se coñecemos cal é o xene defectuoso e a súa localización, e sabemos cal é o xene normal, a técnica consistiría en substituír o xene defectuoso en tódalas células que o expresan polo xene correcto. Isto lograríámolo por medio dun vector, concretamente un virus.

En primeiro lugar habería que buscar un virus que de forma natural detecte e ataque ás células de interese. Por exemplo, para unha enfermidade xenética que afecte ao fígado, poderíamos empregar un virus da hepatite.

A continuación habería que eliminar o material xenético que produce a enfermidade e introducirlle o xene san. Deste xeito, o virus seguirá recoñecendo esas células, pero en lugar de utilizalas para producir máis virus o que faría sería inxectarlles o xene normal: a persoa curaríase.

Esta técnica tamén se podería aplicar para curar o cancro. Se conseguíssemos modificar xenéticamente un virus para que detectase e eliminase as células tumorais (canceríxenas), teríamos a porta aberta para curar todo tipo de cancros.

Se empregamos un virus sobre o organismo completo, coma neste caso, estamos a empregar a terapia xénica in vivo. Se a aplicamos sobre células que logo introducimos no corpo do organismo entón empregamos a terapia xénica ex vivo (Ver imaxe central da páxina 91 do libro de texto).

Teoricamente a terapia xénica é posible, pero a día de hoxe aínda non se conseguiu levar a cabo con éxito.

5- PROXECTO XENOMA HUMANO: Estuda polo libro (páxina 93)

6- OUTRAS APLICACIÓNS DA BIOTECNOLOXÍA MODERNA: PEGADA XÉNICA E PCR

O proxecto xenoma humano desvelou que o que nos diferencia do resto das persoas é un 0,01 % do noso material xenético. Dentro desta parte do noso ADN, existen fragmentos moi variables duns individuos a outros e que case se podería dicir que son auténticos marcadores da individualidade (Pegada xénica). A estes fragmentos chámaselles **ADN Hipervariable**.

A través destes fragmentos de ADN tan característicos de cada individuo, pódense facer probas de ADN que nos permitan identificar a persoa á que pertence a mostra. Por exemplo, se nunha escena dun crime, atopamos un pelo, sangue ou calquera resto biolóxico do criminal, podemos extraer os fragmentos de **ADN hipervariables** e cotexalos con mostras biolóxicas de sospeitosos. Se os fragmentos da mostra da escena do crime coincide cos de algún sospeitoso, xa temos ao culpable.

Tamén serven para facer **probas de paternidade**. Chámanse así porque normalmente fanse para comprobar cal é o pai, pois sobre a nai, ao ser a que dá a luz, non soe haber dúbidas.

Estes fragmentos hérdanse, polo que unha parte virán do noso pai e outra da nosa nai. Se temos dúbidas de que somos fillos da nosa nai ou do noso pai, comparando estes fragmentos cos seus sairemos de dúbidas. Se por exemplo, estes fragmentos non coinciden para nada cos do noso pai, quere dicir que non somos fillos del e pola contra se queremos que alguén nos recoñeza como fillo seu (pola herdanza por exemplo) facendo esta proba poderemos demostralo (Ver debuxo inferior da páxina 91 do libro de texto).

Nos últimos anos en España levantouse unha gran polémica con nenos que foron roubados e separados dos seus pais biolóxicos ao nacer, para darllos a outras familias que non podían ter fillos. Tamén existe unha gran polémica coas vítimas do franquismo, pois a maior parte delas seguen enterradas en fosas comúns e os seus familiares descoñecen onde están os restos dos seus avós, tíos...

O ADN hipervariable serviríanos para descubrir quen son os auténticos pais dos nenos roubados e para identificar os restos que se desenterren das fosas comúns.

Pero para facer todas estas probas precísanse varias copias destes fragmentos. Para copiar partes do material xenético existe unha técnica ideada por Kary Mullis en 1983 e que lle valeu o premio Nobel en química en 1993, que se chama **PCR**. Ven sendo unha especie de fotocopiadora do ADN chamada termociclador. Ao meter unha mostra de ADN neste aparello, este simula o proceso de replicación de ADN que se produce nas células. En cada ciclo produce unha copia, programando a termocicladora para varios ciclos teremos varias copias dese fragmento de material xenético.

- ACTIVIDADE VOLUNTARIA: Resolve o misterio:

Na casa dos McCachis produciuse un asasinato. O mordomo e tódolos membros da familia (pai, nai, fillo e dúas fillas) son sospeitosos. Na escena do crime atopáronse restos de sangue de dúas persoas, así que a policía tomou mostras de sangue a tódolos McCachis para ver se o sangue de algún deles concorda co atopado sobre a vítima.

Resulta que na viaxe ao laboratorio as etiquetas dos tubos que conteñen as mostras da familia McCachis perdéronse e agora non se sabe a quen pertence cada unha delas.

Sabendo que os fragmentos de ADN hipervariable para cada mostra son os que aparecen no cadro, e que o Fragmento B está ligado ao cromosoma X e o fragmento D ao cromosoma Y, responde ás seguintes preguntas:

a) Saberías dicirme a quen pertence cada unha das mostras? Razona a túa resposta.

b) Quen son os asasinos? Razona a túa resposta

McCachis 1	McCachis 2	McCachis 3	McCachis 4
Fragmento A			
Fragmento B	Fragmento B		
		Fragmento D	Fragmento D
Fragmento E	Fragmento E	Fragmento E	Fragmento E
	Fragmento F	Fragmento F	
		Fragmento G	
Fragmento H		Fragmento H	
Fragmento I	Fragmento I		Fragmento I
			Fragmento J
McCachis 5	McCachis 6	Sospeitoso 1	Sospeitoso 2
	Fragmento B		Fragmento B
			Fragmento C
Fragmento D		Fragmento D	
Fragmento E	Fragmento E	Fragmento E	Fragmento E
Fragmento F	Fragmento F		Fragmento F
Fragmento H	Fragmento H		
Fragmento I		Fragmento I	
		Fragmento J	