

INGENIERÍA GENÉTICA

Son técnicas para la manipulación del genoma; entre ellas, las principales:

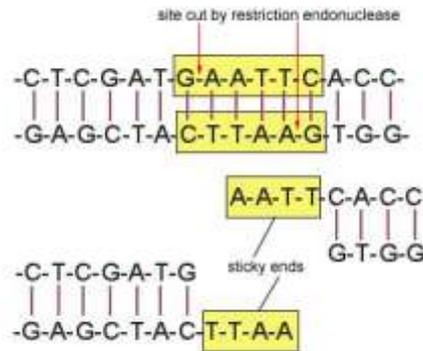
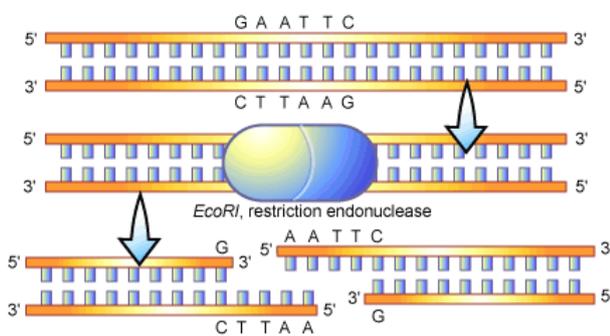
- Técnicas de ADN recombinante
- Clonación de genes
- Hibridación de ácidos nucleicos

Técnica del ADN Recombinante:

Se utilizan enzimas (endonucleasas) de restricción:

- cortan el ADN en puntos concretos, determinados por secuencias cortas (4-8 bases en secuencias capicúas: palíndromos): dejan extremos libres (que son adhesivos o cohesivos con secuencias complementarias)

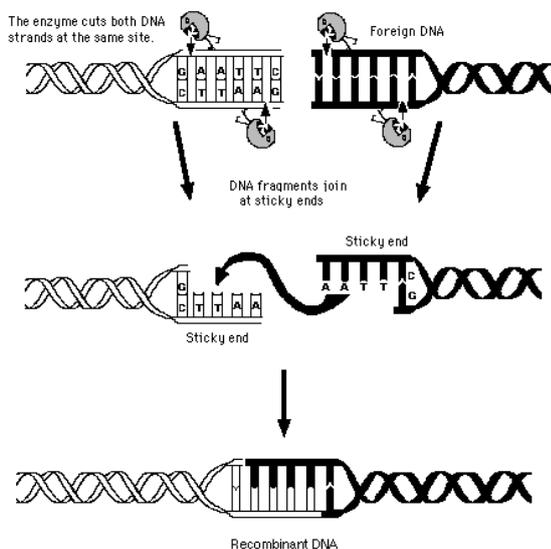
Ejemplo: EcoRI (enzima de E. Coli):



- existen muchos tipos (obtenidos de diferentes bacterias)

Los fragmentos cortados de ADN pueden adherirse a otros ADN, insertándose en él: se forma así un ADN recombinante (in vitro o artificialmente).

Restriction Enzyme Action of EcoRI



Eso permite:

- analizar, estudiar, comparar el fragmento
- transferirlo a otro lugar (a otro organismo, célula, etc)

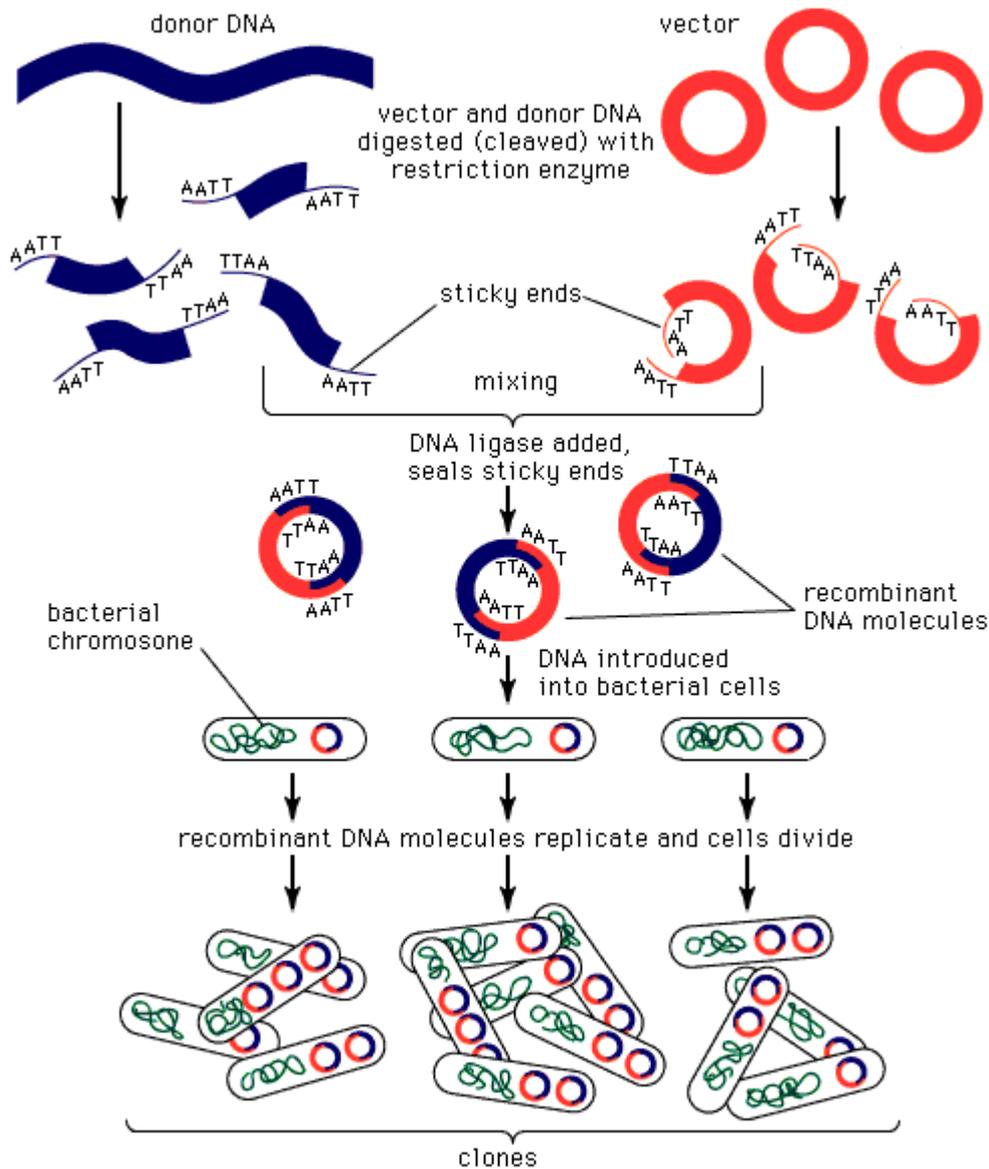
En cualquier caso, hay que amplificar la copia del ADN muchas veces: clonación del gen. Para ello se requiere utilizar un vector, (un ADN capaz de replicarse) que puede ser:

- plásmido (material genético circular extracromosómico de bacterias)
- virus

La técnica de clonación del gen consiste en insertar el fragmento de ADN de interés en el vector elegido (formamos un ADN recombinante)

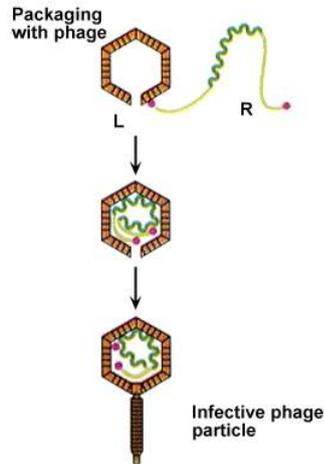
Caso 1: el vector es un plásmido bacteriano

- Se obtiene el fragmento del ADN de interés mediante endonucleasas de restricción
- Se corta con las mismas enzimas el plásmido.
- Se integran los fragmentos de ADN en el plásmido (ADN recombinante: “plásmido quimera”)
- Las sucesivas divisiones de la bacteria que contiene el plásmido generan copias del ADN recombinante que contiene el fragmento de interés: clonación del gen.
- Pueden utilizarse plásmidos que contengan genes resistentes a antibióticos y cultivar las bacterias en medios con esos antibióticos para eliminar las que no contengan esos plásmidos)

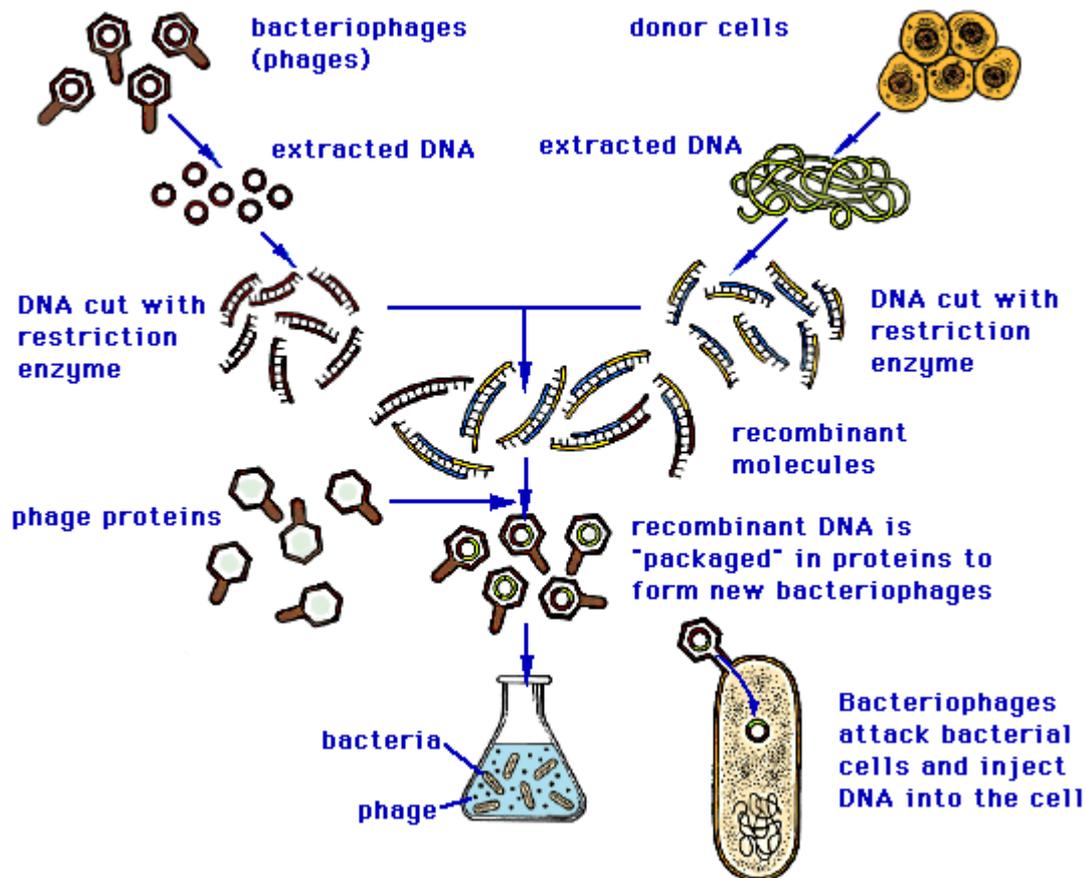


Caso 2: el vector es un virus

- Se obtiene el fragmento del ADN de interés mediante endonucleasas de restricción
- Se extrae el ADn del virus (extrayéndolo de la cápsula proteica)
- Se corta con las mismas enzimas el ADN viral.
- Se integran los fragmentos de ADN en el ADN viral (ADN recombinante)



- Se vuelven a reconstruir los virus (ADN + cápsula proteica): fagos recombinantes
- Se infecta un cultivo de bacterias con los fagos recombinantes, de forma que los virus introducen el ADN recombinante en las bacterias:
- Las bacterias replican los ADN virales recombinantes con los genes de interés: clonación del gen.

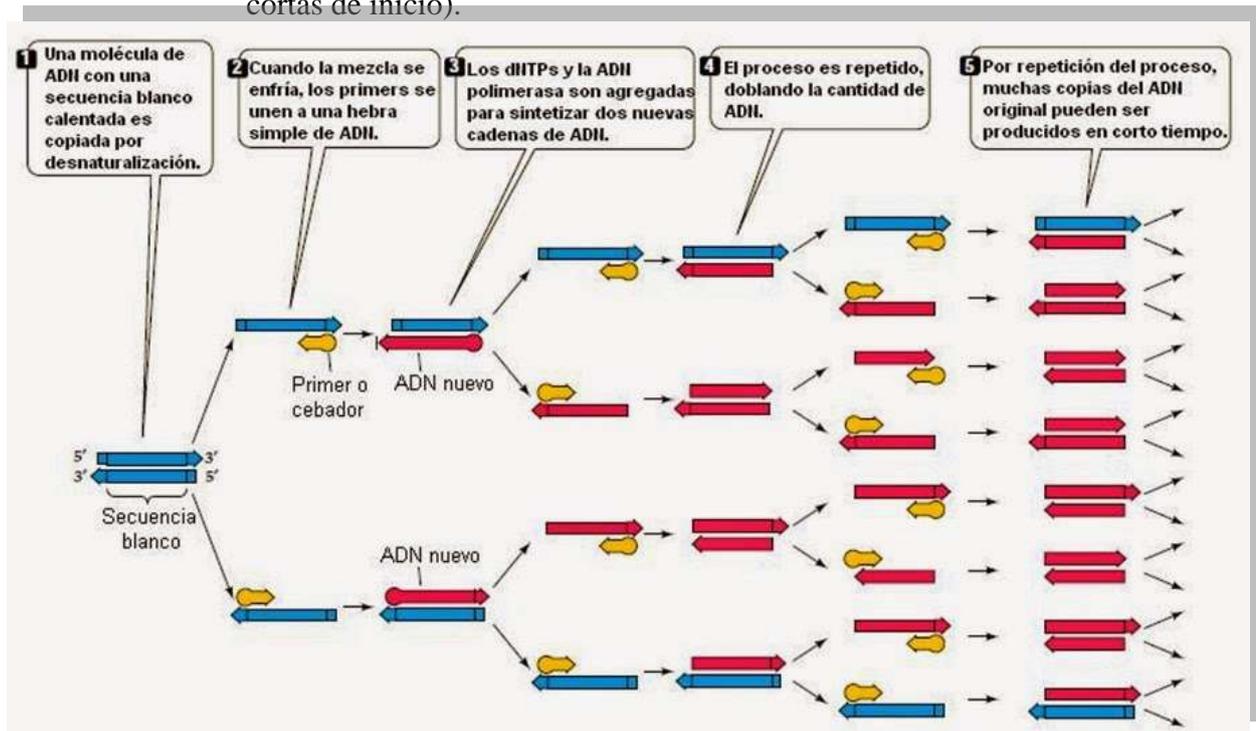


Clonación de genes:

Generación de copias idénticas de un gen o un fragmento de ADN

Puede hacerse:

- Mediante vector (plasmado o virus): ya visto
- Mediante la técnica PCR de “reacción en cadena de polimerasa”. Consiste en:
 - o Separar mediante calor las hebras de un ADN (95°C)
 - o Utilizar la ADN polimerasa de una arqueobacteria (*Thermus aquaticus*) para replicar miles de veces el fragmento de ADN (se utilizan cebadores o secuencias cortas de inicio).



Hibridación de ácidos nucleicos:

Apareamiento de hebras complementarias de ARN o ADN:

- Se separan mediante calor las hebras de una doble cadena (desnaturalización del ADN)
- Se aparean o híbridan las cadenas con otras que sean complementarias (ADN-ADN , ADN-ARN , ARN-ARN)

Esta técnica permite comprobar la similitud (complementariedad) entre cadenas de ácidos nucleicos (por ejemplo, para ver si dos muestras de ADN proceden del mismo individuo o de individuos con secuencias genéticas iguales: parientes, etc.)

Si el ácido nucleico con el que se compara el fragmento (para ver si es complementario) se ha marcado radiactivamente, se puede ver si hay hebras híbridas marcadas radiactivamente.

APLICACIONES DE LA INGENIERÍA GENÉTICA

1. Aplicaciones médicas

- Obtención de proteínas humanas como fármacos

(se evitan problemas de alergias y respuestas inmunitarias).

Se ha experimentado con:

Insulina (diabéticos)

Interferón (sustancia que activa el sistema inmunitario, que se emplea ontra infecciones bacterianas o víricas)

Hormona del crecimiento (casos de “enanismo”)

- Técnicas de diagnóstico clínico:

Identificación de los genes responsables de enfermedades o patologías (enfermedades genéticas o predisposiciones). Por ejemplo:

Predisposición al Alzheimer

Oncogenes (tumores)

Fibrosis quística

Distrofia muscular

Permite un diagnóstico precoz, siempre que se conozca al menos una parte de la secuencia genética responsable de la enfermedad o la predisposición genética: se lanzan “sondas” de ADN marcadas radiactivamente para ver si se hibridan)

- Terapia génica:

Consiste en incorporar genes a un individuo para el tratamiento de enfermedades.

Consiste en introducir genes mediante vectores (virus) en las células del paciente,

bien “in vivo” (los vectores se introducen en la sangre)

bien “ex vivo” (se cultivan in vitro las células del paciente y luego se reintroducen)

Se ha ensayado en:

- “niños burbuja” (inmunodeficiencias congénitas)

2. Aplicaciones en agricultura y ganadería

Se crean organismos transgénicos: q a los que se les introducen genes de otras especies que les confieren alguna propiedad de interés (resistencia a herbicidas en plantas, crecimiento acelerado, etc)