Módulo Didáctico:
Recursos Genéticos y Bioseguridad

BIOTECNOLOGÍA TRADICIONAL Y CONVENCIONAL APLICACIONES SECTORIALES

Huancayo, 13 – 15 de Noviembre 2012

Blgo. David Castro Garro
Especialista en Biotecnología
Dirección General de Diversidad Biológica

DEFINICION ACADEMICA DE BIOTECNOLOGIA

"Uso de seres vivos o sus partes para la obtención de bienes o servicios"



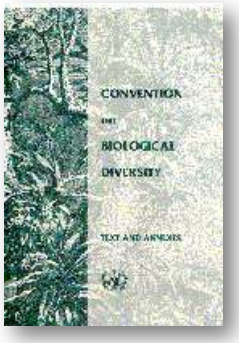
Bien: semilla convencional obtenida por mejoramiento genético o semilla transgénica obtenida por ingeniería genética.

Servicio: el uso de microorganismos en bioremediación (servicio ambiental)



DEFINICIONES DE BIOTECNOLOGIA UTILIZADAS EN MARCOS LEGALES INTERNACIONALES

El Convenio sobre la Diversidad Biológica (CDB):



"… toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos"

DEFINICIONES DE BIOTECNOLOGIA UTILIZADAS EN MARCOS LEGALES INTERNACIONALES

El Protocolo de Cartagena sobre Seguridad de la Biotecnología del CBD:



a) *Técnicas in vitro de ácidos nucleicos, incluidos el acido desoxirribonucleico (ADN) recombinante y la inyección directa de acido nucleico en células u orgánulos; o,*

b) *La fusión de células mas allá de la familia taxonómica que superen las barreras fisiológicas naturales de la reproducción o de la recombinación y que no son técnicas utilizadas en la reproducción y selección tradicional.*

DEFICICIONES DE BIOTECNOLOGIA UTILIZADAS EN MARCOS LEGALES INTERNACIONALES

PARA LA FAO:

" el concepto de biotecnología es mucho mas amplio que el de ingeniería genética; comprende también la genómica y la bioinformática, la selección con ayuda de marcadores, la micropropagación, el cultivo de tejidos, la clonación, la inseminación artificial, el transplante de embriones y otras tecnologías"



BIOTECNOLOGIA TRADICIONAL

Biotecnologías desarrolladas de manera empírica por los pueblos ancestrales y actualmente por comunidades nativas y locales

- Los conocimientos empíricos de la selección y mejoramiento dieron origen a la domesticación de plantas y animales y a su gran diversificación en multitud de variedades y razas que actualmente existen





BIOTECNOLOGIA TRADICIONAL



Sacerdotisa elaborando cerveza

- Los procesos fermentativos para la obtención de alimentos mejorados (queso, pan, vino, chicha de jora, tocosh, etc.) o preparados medicinales y otros de múltiples usos.

- Los conocimientos sobre plantas y aceites vegetales usados en las técnicas de embalsamamiento



BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

Biotecnologías desarrolladas en base al método científico, sin incluir la biotecnología moderna o transgénesis (técnicas de ingeniería genética).







BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

- Los procesos fermentativos controlados: biogás, antibióticos, etc.

Tipos de cultivos:



- Células y microorganismos anaeróbicos
- Células y microorganismos facultativos
- Células y microorganismos aeróbicos





BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

Tecnologías basadas en el cultivo de tejidos

- El cultivo de células y tejidos vegetales

Conjunto muy heterogéneo de técnicas que consiste en aislar un explante y proporcionarle las condiciones físicas y químicas apropiadas en un medio artificial de composición química definida, en condiciones ambientales controladas y en condiciones de asepsia





BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

- **El cultivo de células y tejidos vegetales**



Aplicaciones:

- Estudios básicos: procesos fisiológicos
- Limpieza de patógenos (indexación)
- Micropropagación o propagación clonal masiva



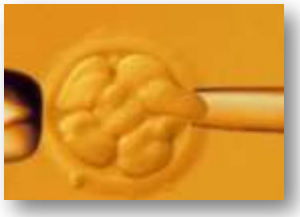
- Obtención de plantas haploides: cultivo de anteras
- Inducción de variación somaclonal
- Producción y conversión de sustancias útiles
- Conservación de germoplasma

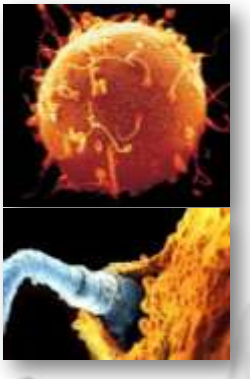


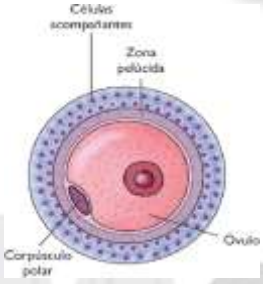
BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

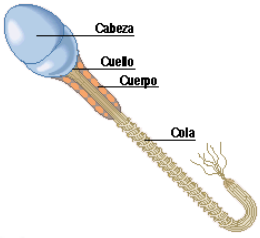
- **Las biotecnologías reproductivas**

Comprende a las técnicas que permiten aumentar la eficiencia reproductiva









BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

- Las biotecnologías reproductivas

ETAPAS DEL DESARROLLO EMBRIONARIO PREIMPLANTACIONAL


cigoto


2 células


4 células


mórula temprana


mórula compactada


blastocisto

BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

- Las biotecnologías reproductivas

Aplicaciones:



- **Inseminación artificial:**
  - Prevención de enfermedades venéreas transmisibles
  - Uso de machos con caracteres genéticos importantes



- **Crioconservación de gametos y embriones:**

Preservar especies amenazadas o en peligro de extinción
Semen puede usarse para recuperar una raza perdida con 6 retrocruzas con hembras de otra raza
En óvulos: técnica poco avanzada: sensibles al frío

BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

- Las biotecnologías reproductivas

Aplicaciones:

Superovulación, transferencia y congelación de embriones:

- Uso intensivo de hembras de alto valor genético.
- Formación de bancos de germoplasma

Micromanipulación de embriones: producción de mellizos cigóticos y quimeras:

Bipartición de embriones para generar animales idénticos a partir de mórulas o de la masa celular interna del embrión en estadio de blastocisto.



15

BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

- Las biotecnologías reproductivas

Aplicaciones:

Determinación y selección de sexo:

Separación de espermatozoides X e Y mediante: citometría de flujo (fluorescencia), anticuerpos para antígenos masculinos, PCR con primers específicos (sexado de ganado vacuno)

En aves:



Z= hembra

W= macho

En mamíferos:



X = hembra

Y = macho

16

BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

- Las biotecnologías reproductivas

Aplicaciones:

- **Producción *in vitro* de embriones:**

  Uso de hembras que no responde a tratamientos ovulatorios

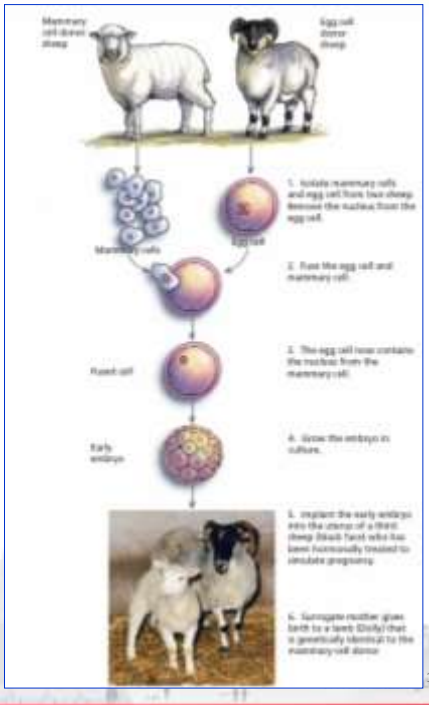
- **Clonación animal por transferencia nuclear:**



DOLLY

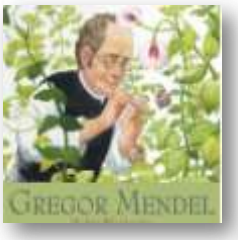
COMO CLONARON A DOLLY

Dolly fue el resultado de una transferencia nuclear desde una célula donante diferenciada a un óvulo no fecundado y anucleado (sin núcleo), implantado después en una hembra portadora



BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

- **Los marcadores genéticos**



El concepto de marcador surge con los trabajos de Mendel: utilizó los colores de las flores (y otros caracteres morfológicos) como marcadores que le permitieron estudiar los patrones de la herencia

Seed		Flower	Pod		Stem	
Form	Cotyledons	Color	Form	Color	Place	Size
Grey & Round	Yellow	White	Full	Yellow	Axial pods, Flowers along	Long (6-7ft)
White & Wrinkled	Green	Violet	Constricted	Green	Terminal pods, Flowers top	Short (~1ft)
1	2	3	4	5	6	7

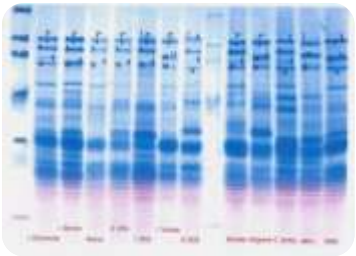
BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

Tipos de marcadores genéticos

- **Fenotípicos:** los polimorfismos de los genes se detectan a través de sus productos



Morfológicos

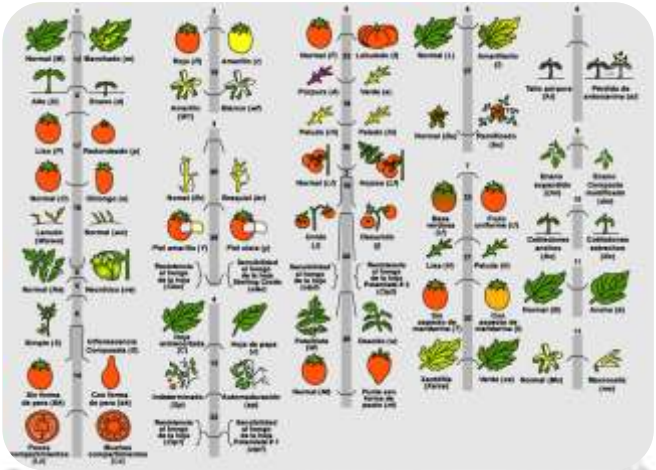


Bioquímicos

BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

- Los marcadores genéticos
- Primeros marcadores utilizados: morfológicos (*fenotípicos*).

Mapa genético de tomate (12 cromosomas) basado en marcadores morfológicos



BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

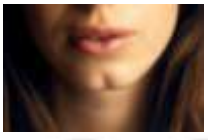
Algunos marcadores morfológicos (fenotípicos) en humanos



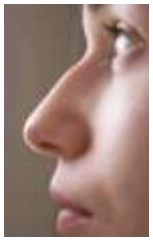
Hipertricosis en oreja



Pico de viuda



Hoyuelo en la Barbilla



Puente de la nariz



Enroscar la lengua

BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

Tipos de marcadores genéticos

- **Genotípicos o moleculares:** polimorfismos de genes u otras secuencias no codificantes que se detectan a nivel del ADN

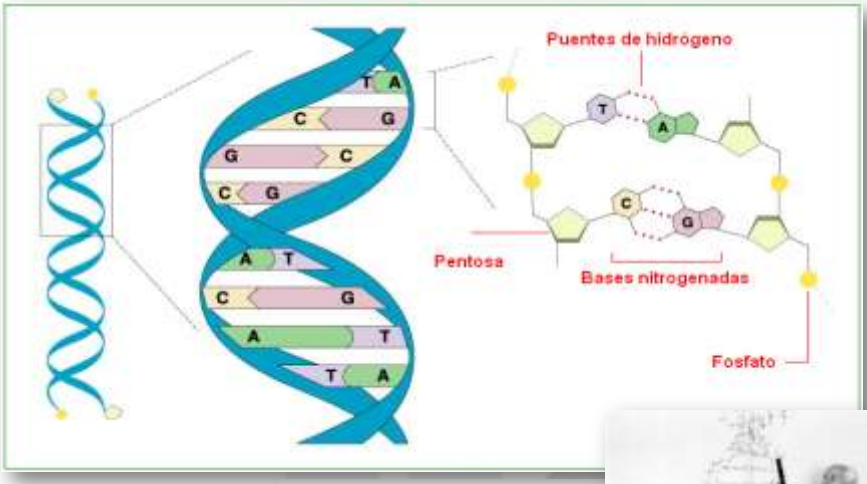
Técnicas para la detección de ADN:

- Amplificación por PCR
- Electroforesis



BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

- **Estructura del ADN**

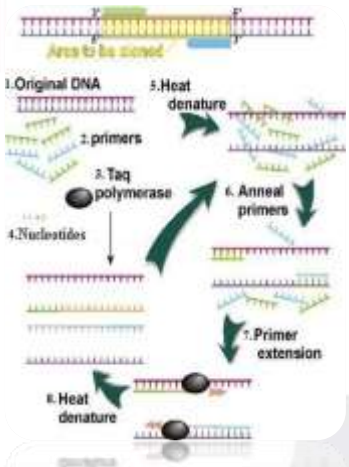


James Watson & Francis Crick
1953



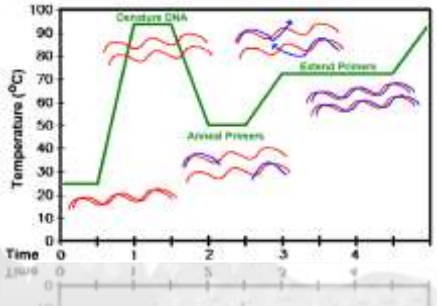
BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

- La PCR (reacción en cadena de la polimerasa)



- Denaturación 94-96° C
- Hibridación 50-65°C
- Extensión 72°C





BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

- Electroforesis:

Técnica de separación de moléculas según su movilidad en un campo eléctrico y en un soporte solido hidratado (gel)





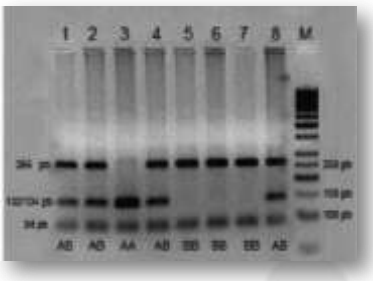


BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

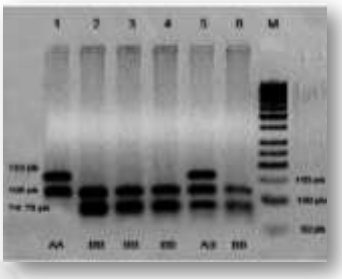
Tipos de marcadores genéticos

➢ **Genotípicos o moleculares:** polimorfismos de genes u otras secuencias no codificantes que se detectan a nivel del ADN

Marcadores RFLP



Variantes del gen de Kappa caseína

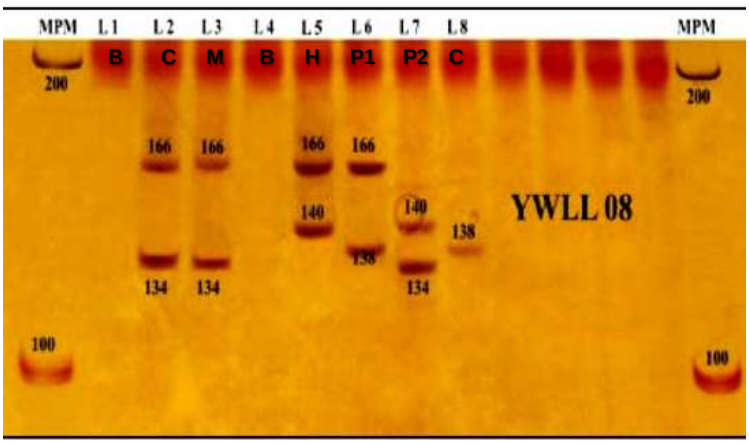


Variantes del gen de Beta lactoglobulina

Veli & Rivas, 2010

27

Marcadores microsatélites

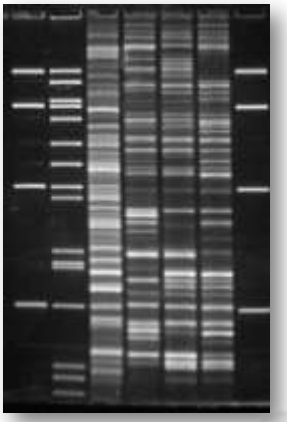


L1 y L4 = blanco MPM = marcador de peso molecular
L2 y L8 = patrón de alelos (control)
L6 y L7 = posibles padres L5 = cría L3 = madre

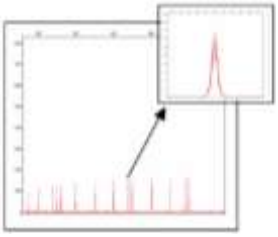
28

BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

Marcadores AFLP



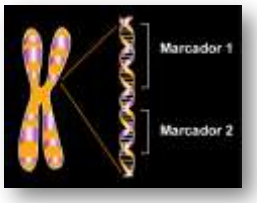
Electroforesis SDS-PAGE



Electroforesis capilar

BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

- **Los marcadores genéticos**



- Son puntos de referencia ubicados en los cromosomas.
- Su herencia suele responder a las leyes de Mendel.



- Permiten elaborar mapas genéticos o de ligamiento.
- Permiten establecer diferencias (*polimorfismos*) entre dos individuos (*genotipos*) pertenecientes a la misma especie (o a especies emparentadas).

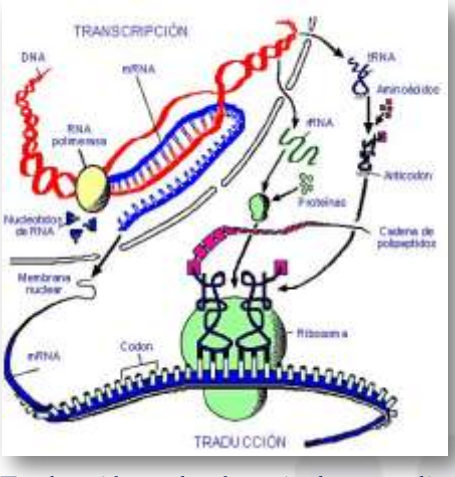
BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

- Diferencias entre marcadores morfológicos y moleculares

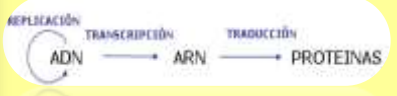
Marcadores morfológicos	Marcadores moleculares
Influencia del ambiente	Sin influencia ambiental y neutros
Bajo número	Cantidad ilimitada
Baja cobertura del genoma	Amplia cobertura del genoma
Bajo nivel de polimorfismo	Alto nivel de polimorfismo
Menos informativos (dominantes o recesivos)	Más informativos (en general codominantes)
Caracteres de madurez	Análisis en fases tempranas
Entrenamiento y subjetividad	Sencillos, rápidos y objetivos

31

EL DOGMA CENTRAL DE LA BIOLOGIA MOLECULAR



Unidireccionalidad de la información: la información contenida en los genes se transforma en proteínas:



Transcripción es la síntesis de una copia de RNA a partir de un segmento de DNA. El RNA se sintetiza mediante la enzima RNA polimerasa.

Traducción es la síntesis de un polipéptido especificado por un mRNA.

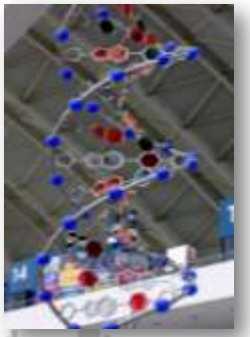
32

BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

- **Las "ómicas"**

Estudio de los genes y genomas y de cómo se expresan en un organismo en distintos estadios y condiciones.





En contraste con la genética, que se centra en los genes y la herencia, el objetivo de las omicas es **entender los genes y sus productos y cómo, cuándo y porqué se sintetizan dichos productos.**

33

BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

GENOMICA

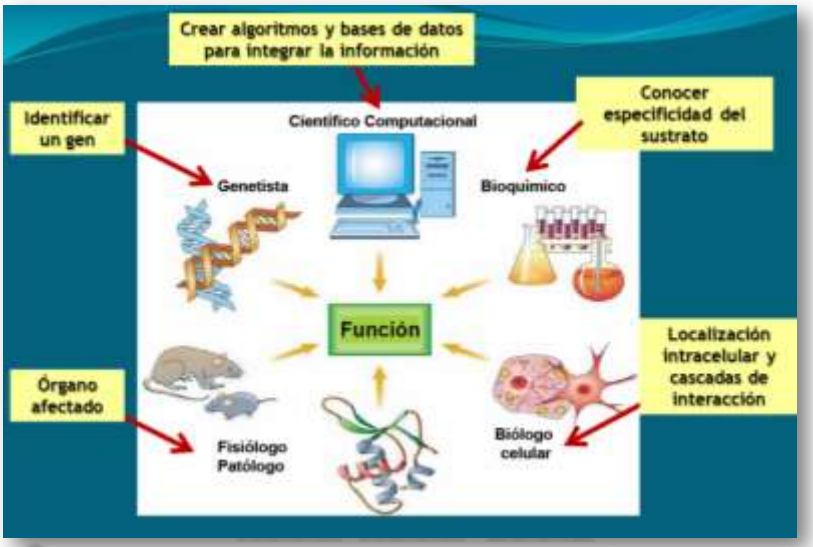
Caracterización molecular de los genomas en su totalidad:

- **Genómica Estructural**: identificación y estudio de variantes estructurales de la secuencia en los genomas (polimorfismos, mutaciones, repeticiones o inserciones de nucleótidos, estructura tridimensional de proteínas conocidas.

- **Genómica Funcional:** función biológica de los genes y sus productos; organización y rutas de control (Era post-genómica: enfoque sistémico)

34

GENOMICA FUNCIONAL

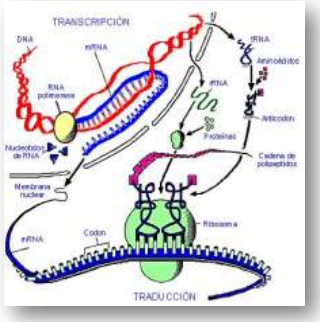


GENOMICA ESTRUCTURAL

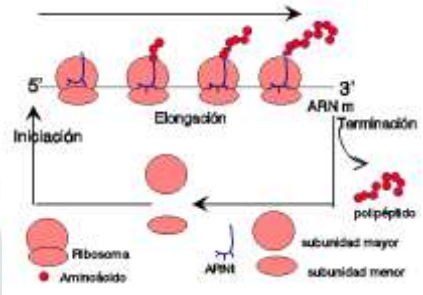
35

BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

TRANSCRIPTOMICA



Estudia y compara conjuntos de ARN mensajeros o transcriptos presentes en una célula, tejido u organismo

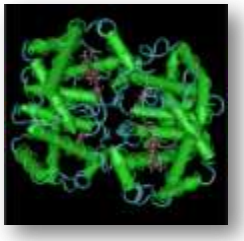


36

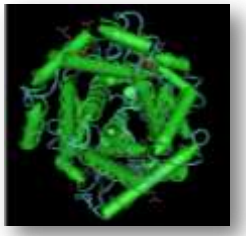
BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

PROTEOMICA

Se ocupa de la función y regulación de las proteínas codificadas por el genoma







Hemoglobina normal

Hemoglobina mutante

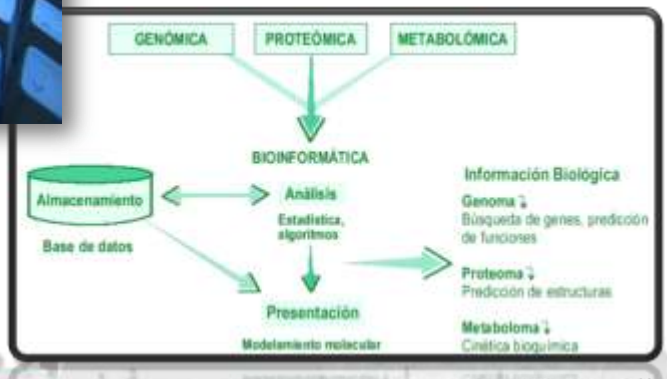
37

BIOTECNOLOGIA CONVENCIONAL

BIOINFORMATICA



Abarca todas las aplicaciones de los computadores en las ciencias biológicas.



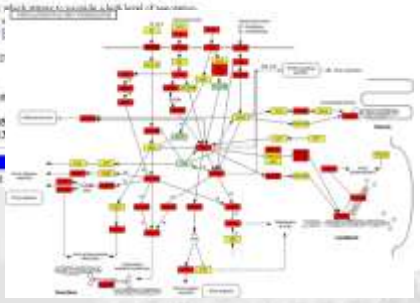
38

Bases de Datos en línea



NCBI

EMBL



KEGG

19/11/2012

LOS COLORES DE LA BIOTECNOLOGIA

Verde: Agrícola (biocombustibles, biofertilizantes, plantas GM)
Blanca: Industrial
Roja: Salud, Medicina, Diagnóstico
Gris: Fermentación clásica y tecnología de bioprocesos, Ambiente (geomicrobiología, biorremediación)
Azul: Acuicultura, Biotecnología Costera y Marina
Amarilla: Biotecnología de alimentos, Ciencias de la Nutrición
Negra: Bioterrorismo, biocrímenes, guerra biológica
Marrón: Biotecnología de desiertos y zonas áridas
Dorada: Bioinformática, nanobiotecnología
Rosada: Patentes, publicaciones, invenciones

Edgar J. DaSilva. (2005) División de Ciencias de la Vida de UNESCO.

19/11/2012

BIOTECNOLOGÍA VERDE

Aplicaciones de la biotecnología en al campo de la agricultura

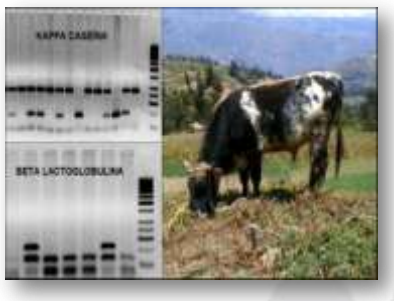


19/11/2012

www.minam.gob.pe

BIOTECNOLOGÍA VERDE

- Selección asistida por marcadores moleculares relacionados con característicos fisicoquímicas de la leche



Objetivo: identificación de potenciales reproductores portadores de genes para rendimiento quesero

19/11/2012

www.minam.gob.pe

BIOTECNOLOGÍA VERDE

- Uso de marcadores moleculares en pruebas de filiación genética:
- Objetivo: identificación de parentesco en animales de importancia económica y pecuaria (camélidos, equinos, perros, ovinos, etc.)



19/11/2012

www.minam.gob.pe

BIOTECNOLOGÍA VERDE

- Biotecnología aplicada a la autenticación del origen genético de productos alimenticios de alta cotización.

Objetivo: utilización de técnicas basadas en el análisis de ADN para la identificación de especies en múltiples productos cárnicos y pesqueros



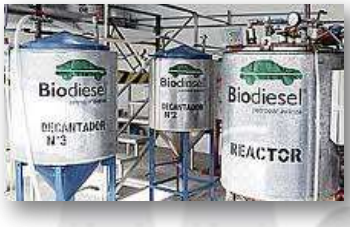
19/11/2012

www.minam.gob.pe

BIOTECNOLOGÍA BLANCA

Uso de células y enzimas para sintetizar productos fácilmente degradables, que requieren menor energía y generan menos desechos durante su producción.

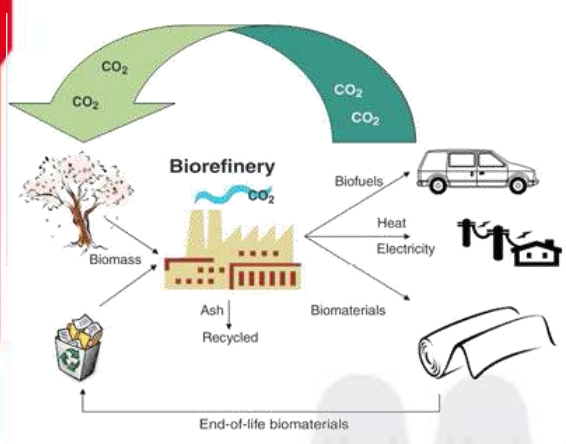
BIOTECNOLOGIA BLANCA = BIOTECNOLOGIA INDUSTRIAL



19/11/2012

BIOTECNOLOGÍA BLANCA

Biorrefinerías





Ralstonia eutropha

85% de su peso

Poli-hidroxibutirato (PHB)

Plásticos biodegradables

19/11/2012

BIOTECNOLOGÍA BLANCA

Uso de enzimas en los detergentes

Ventajas:

- Alta selectividad y eficiencia en comparación con los procesos químicos.
- Son biodegradables y pueden funcionar en solventes orgánicos, alta concentración de sales y otras condiciones extremas.





1988

19/11/2012

www.minam.gob.pe

BIOTECNOLOGÍA BLANCA

Uso de enzimas en la industria del papel

La remoción de la lignina requiere de altas temperaturas y de tratamientos con oxígeno y cloro, que resultan en la formación de derivados clorados tóxicos





Como alternativa puede emplearse el "biopulping", un tratamiento con xilanasas, enzimas que degradan el xilano de la hemicelulosa, eliminando la lignina a la que está asociada

19/11/2012

www.minam.gob.pe

BIOTECNOLOGÍA AMARILLA

Se refiere al uso de los organismos vivos y/o biomoléculas en la industria alimentaria. Principalmente se basa al uso de enzimas para la producción y procesamiento de los alimentos.



La producción del pan, cerveza, vino, entre otros, por las antiguas civilizaciones, fueron una de las primeras aplicaciones de la biotecnología.

Enzimas que degradas los azúcares y los convierten en alcohol, CO_2 y otras sustanacias que dan textura, aroma y sabor a los alimentos.

19/11/2012

BIOTECNOLOGÍA AZUL

Uso de organismos marinos completos, sus células o moléculas para proveer soluciones de utilidad para la sociedad.

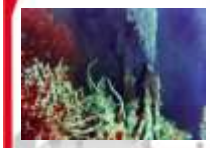


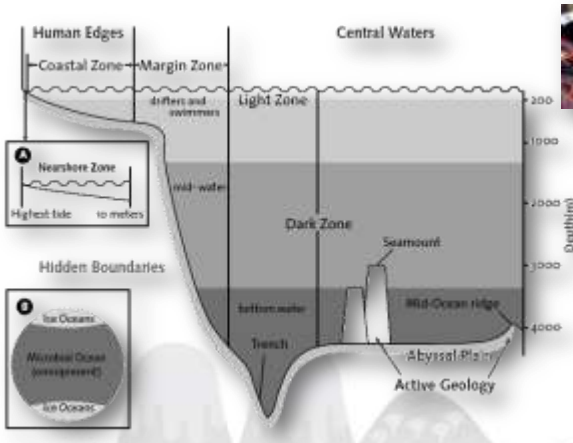
19/11/2012

BIOTECNOLOGÍA AZUL

El 80% de los seres vivos del mundo se encuentran en ecosistemas acuáticos que reúnen por tanto, gran parte de la biodiversidad del planeta







Source and courtesy of: Baseline Report of the Census of Marine Life.

19/11/2012

www.minam.gob.pe

BIOTECNOLOGÍA AZUL

Los organismos marinos concentran un número muy elevado de compuestos químicos diferentes, algunos de los cuales son novedosos para la ciencia.



Biodiesel a partir de algas

Ventajas

- Producen 30 veces mas partiendo de la misma cantidad de materia por su alto contenido de aceite
- Crecimiento extremadamente rápido
- No se requiere del uso de tierras de cultivo productivas
- Usan aguas residuales como fuente alternativa de nutrientes
- No es tóxico: no contiene sulfuros ni sulfatos
- Altamente biodegradable

19/11/2012

www.minam.gob.pe

BIOTECNOLOGÍA AZUL

Algas como nutracéuticos

Análisis fisicoquímicos:

- 60-70% del peso es proteína
- Contiene ácidos grasos esenciales (linolénico, araquidónico…)
- Vitaminas: pro vitamina A y B12
- Minerales: hierro

Cianobacterias



Espirulina maxima

Propiedades terapéuticas

- Modulador inmunológico: estimulación antigénica
- Antioxidantes
- Disminuye los triglicéridos
- Efectos prebióticos: crecimiento de la microflora intestinal

19/11/2012

BIOTECNOLOGÍA AZUL

El gusano de Pompeya, poliqueto de aguas profundas que habita en los tubos de los respiraderos hidrotermales de los fondos marinos.

Su cuerpo tolera varias temperaturas extremas a la vez : la cola soporta temperaturas tan altas como 80°C y su cabeza soporta temperaturas más frías de 22°C (22 °F).

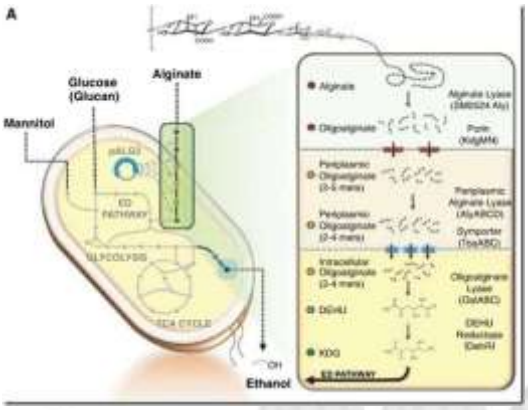


Alvinella pompejana

19/11/2012

BIOTECNOLOGÍA AZUL

Los azúcares que componen esta alga —glucanos, manitol y alginato— complican su fermentación.



Wargacki *et al.* 2012

Científicos insertaron los genes necesarios para la fermentación del alginato generando un rendimiento superior al 80% del esperado.



Algas marrones

19/11/2012

BIOTECNOLOGÍA ROJA

Referida a la prevención, diagnóstico y tratamiento de enfermedades nuevas y conocidas.









19/11/2012

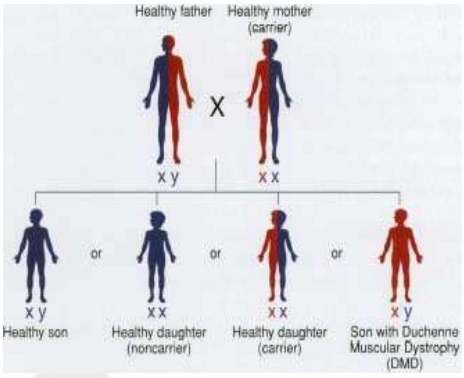
BIOTECNOLOGÍA ROJA

- Análisis genético por métodos moleculares de embriones preimplantacionales

Objetivo:

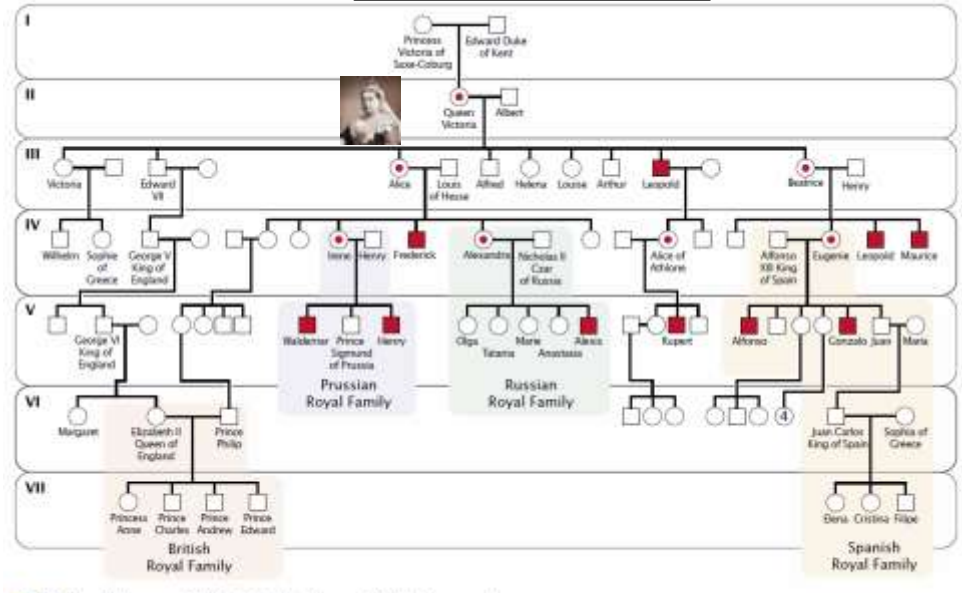
Diagnostico temprano de mutaciones responsables de enfermedades monogénicas





19/11/2012

BIOTECNOLOGÍA ROJA



19/11/2012

6.8 Classic hemophilia is inherited as an X-linked recessive trait. This pedigree is of hemophilia in the royal families of Europe.

BIOTECNOLOGÍA ROJA

El 10% del ADN libre que circula en la sangre de la madre es del feto.





Usando muestras de sangre de la madre y el padre, científicos han logrado secuenciar el genoma de un feto de una forma no invasiva, sin poner en riesgo al bebé.

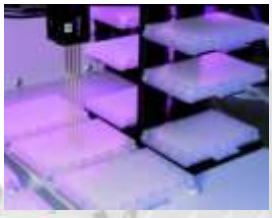
Kitzman *et al*. (2012)

19/11/2012

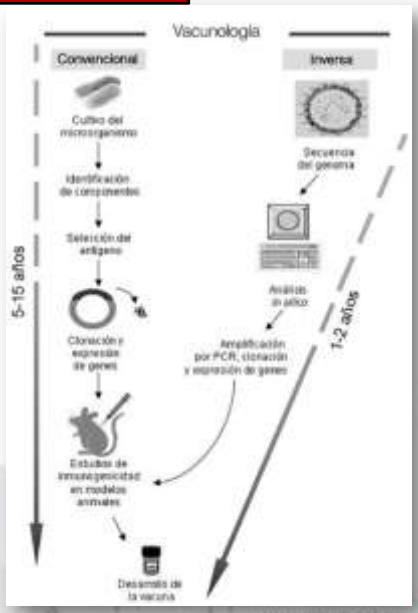
BIOTECNOLOGÍA ROJA

- **Vacunas derivadas del uso de los genomas: vacunología inversa**

Objetivo: Análisis de las secuencias de genomas de patógenos para identificar los antígenos más probables a ser candidatos vacunales y seleccionarlos en función de su predicción como proteínas de superficie o secretadas



Primera vacuna en 1776 contra la viruela. (Edward Jenner)



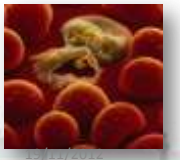
19/11/2012

BIOTECNOLOGÍA ROJA

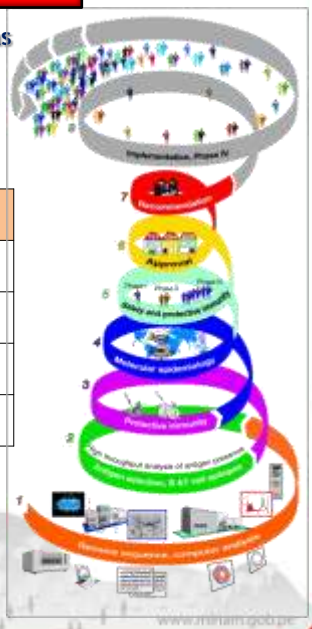
- Vacunas de patógenos para humanos desarrolladas y en desarrollo por vacunología inversa







PATÓGENO	REFERENCIA
Meningococcus B(meningitis)	Pizza *et al.*, 2000
Porphyromonas gingivalis	Ross et al., 2001
Mycobacterium tuberculosis	Betts, 2002
Plasmodium falciparum	Long y Hoffman, 2002



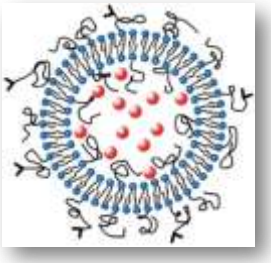
BIOTECNOLOGÍA ROJA

- **Liposomas:**

nanopartículas basadas en lípidos

Uso:
Vehículos de suministro de medicamentos y vacunas: aumento de sus propiedades terapéuticas.

Ventajas:
- Optimización de la orientación a un sitio determinado (por ejemplo, las células tumorales)
- Liberación controlada de la droga.



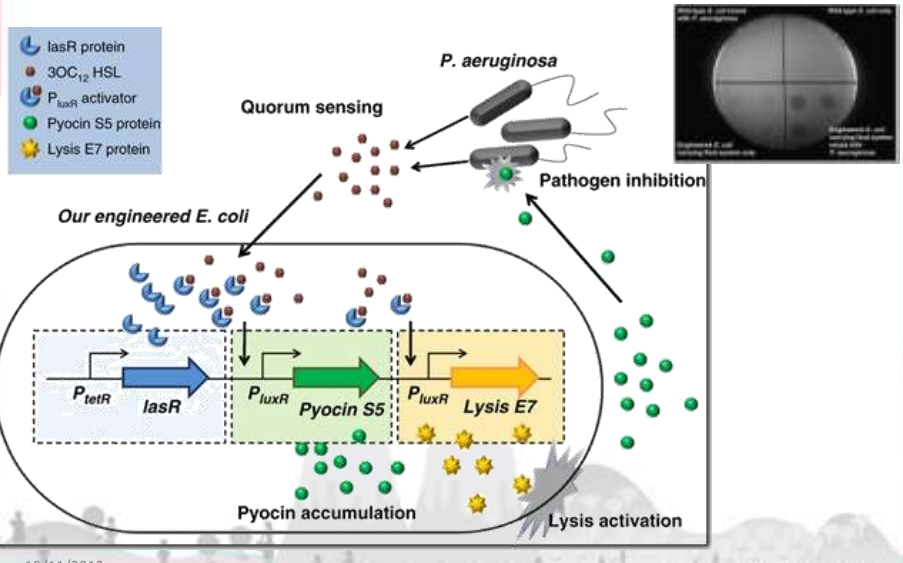
Estructura del Liposoma: doble capa de fosfolípidos

Permite absorber y transportar sustancias hidrosolubles (vitamina C y conservantes químicos), agentes liposolubles (como vitamina E y fragancias)

19/11/2012

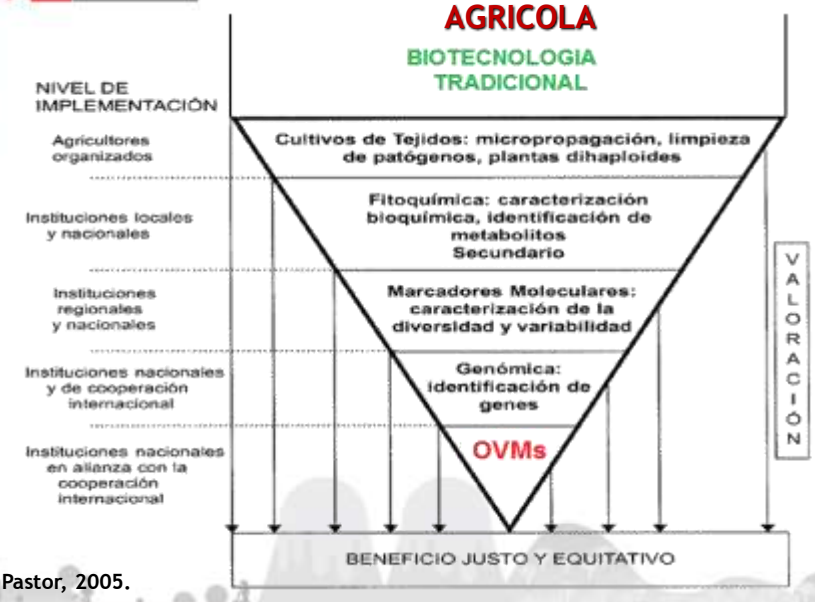
BIOTECNOLOGÍA ROJA

Bacterias suicidas para combatir enfermedades



19/11/2012

PIRAMIDE DEL USO DE LA BIOTECNOLOGIA AGRICOLA



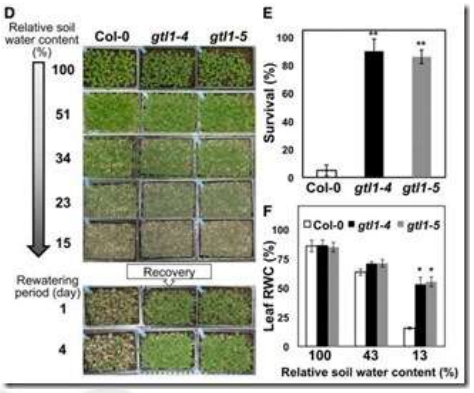
Pastor, 2005.

19/11/2012

BIOTECNOLOGÍA MARRÓN

Investigadores de la Universidad de Purdue han identificado una mutación en el gen *gtl1* de *Arabidopsis thaliana* que reducía su número de estomas pero que no afectaba su capacidad de asimilar el CO2.

Yoo *et al*. (2011).

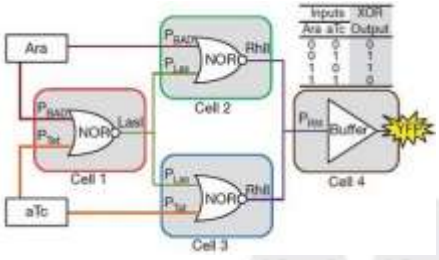


Se está buscando desarrollar plantas resistentes a suelos secos y altamente salinos.

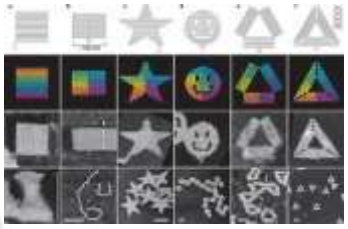
19/11/2012

BIOTECNOLOGÍA DORADA

Uso de las herramientas informáticas y modelos computacionales disponibles en internet para el diseño de genes, enzimas, rutas metabólicas (*in silico*); así como también novedosas nanoestructuras dentro de contextos biológicos.



Circuitos logicos biológicos



Nanobiotecnología: Origami de ADN

19/11/2012

BIOTECNOLOGÍA ROSA

Los procesos en los que interviene algún organismo vivo o alguna biomolécula obtenida de ellos son protegidos bajo patentes. Sin embargo, aún es un tema bastante complejo.

EJEMPLOS DE PATENTES DE ORGANISMOS Y GENES EN EEUU Y EUROPA

	Número de patente
Codificación de gen aislado para el enzima implicado en la biosíntesis de penicilina.	US 4.885.251
Codificación de gen aislado para la eritropoyetina humana, hormona estimuladora del crecimiento de las células de los glóbulos rojos.	US 4.703.008 EP 148.605
Plásmidos recombinados y microorganismos que expresan ser precursores de la enzima quimosina (renina).	EP 077.109
Pseudomonas con plásmidos múltiples para degradar hidrocarburos (Chakrabarty, ver texto).	US 4.259.444
Característica insecticida *Bacillus Thuringiensis*	EP 178.151
Transferencia del gen proteicida (inhibidor de la tripsina) del "cowpea" vigna unguiculata a los cereales.	US 5.306.863 EP 122.791
Gen de planta/promotor	
Semilla y planta de maíz mutagenizado en triptofano (Hibberd)	US 4.581.847
Oncoratón (Harvard, ver texto)	US 4.736.866 EP 169.672
Ratón inmunodeficiente para el estudio de enfermedades auto- inmunes.	US 5.175.384
Fármacos expresados en la leche de animales de granja.	US 5.322.775
Plantas resistentes a herbicidas	EP 242.236

Tienen que satisfacer los tres requisitos básicos de la patentabilidad:

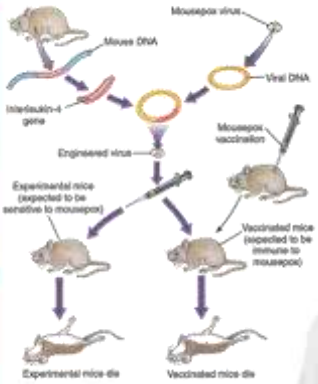
i) ser nuevas;
ii) entrañar una actividad inventiva (es decir, no ser evidentes); y,
iii) tener una aplicación o utilidad industrial.

19/11/2012

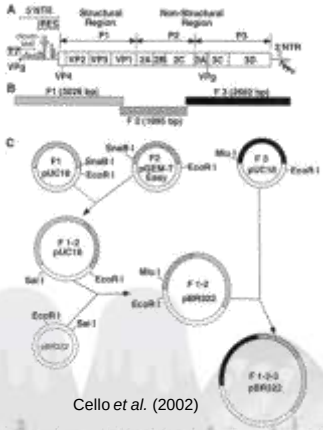
BIOTECNOLOGÍA NEGRA

Uso de las herramientas de la ingeniería genética y biología molecular para el desarrollo de agentes patógenos más infecciosos, virulentos y resistentes.

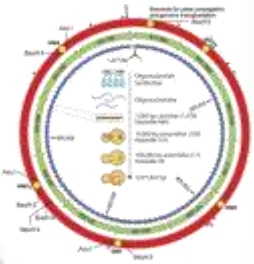
Moorchung *et al.* (2009)



Jackson *et al.* (2001)



Cello *et al.* (2002)



Venter *et al.* (2010)

19/11/2012


PERÚ
Ministerio del Ambiente
MUCHAS GRACIAS POR SU ATENCION
David Castro Garro
dcastro@minam.gob.pe
19/11/2012
www.minam.gob.pe