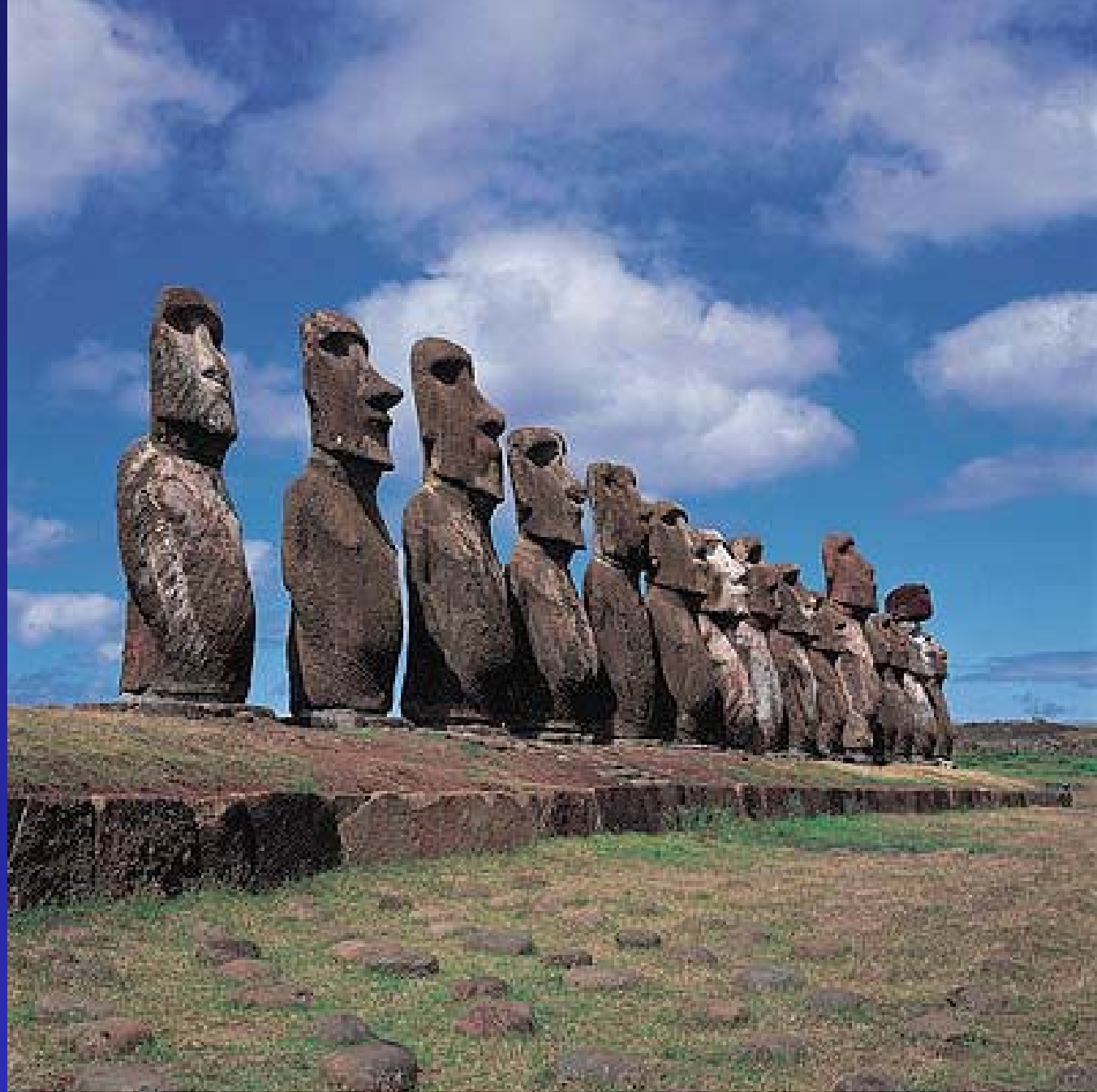


Biotecnología:

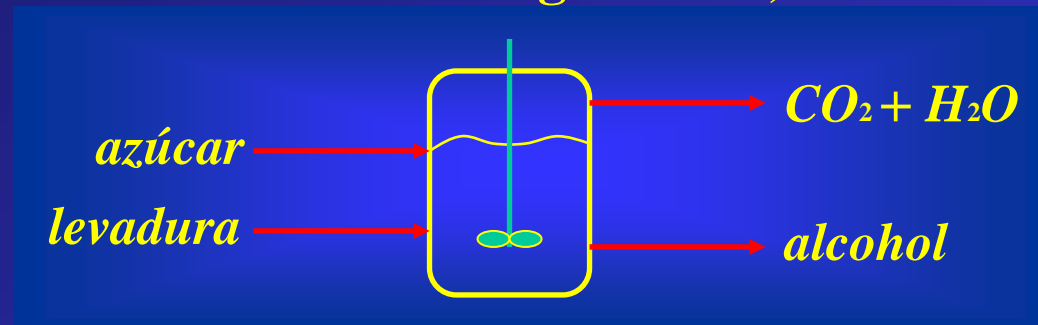
un nuevo desafío para la Ingeniería

Prof. Juan A. Asenjo



**Isla de Pascua, Ahu Tongariki/Easter Island, Ahu Tongariki
© SGF Bank 1998**

- **Edward Jenner (1749 –1823): “cowpox” – smallpox – Vacuna viruela**
- **1850 Luis Pasteur:**
Microorganismos: fermentación no es espontánea
fermentación → levaduras
Esterilización (descubrió los microorganismos)
(Enzimas)



- **1928: Alejandro Flemming : Penicilina**
- **1939: Florey, Chain purificación de penicilina y producción masiva**

USA-Pfizer Producción de ácido cítrico

- **1945: Premio Nobel: Flemming, Florey, Chain**

- **60's - 70's Ingeniería Genética**
- **80's INSULINA: Ingeniería genética de *E.coli* y *S.cerevisiae***
Insulina comercial recombinante
- **Hoy: Eli-Lilly**
 - **Novo-Nordisk**
- **90's: tpA**
- **Vacunas: Contra hepatitis B (Merck, Chiron)**
Sida
- **1990 Sally y Dolly**
- **Enzimas criofílicas**
- **Terapia celular y génica**

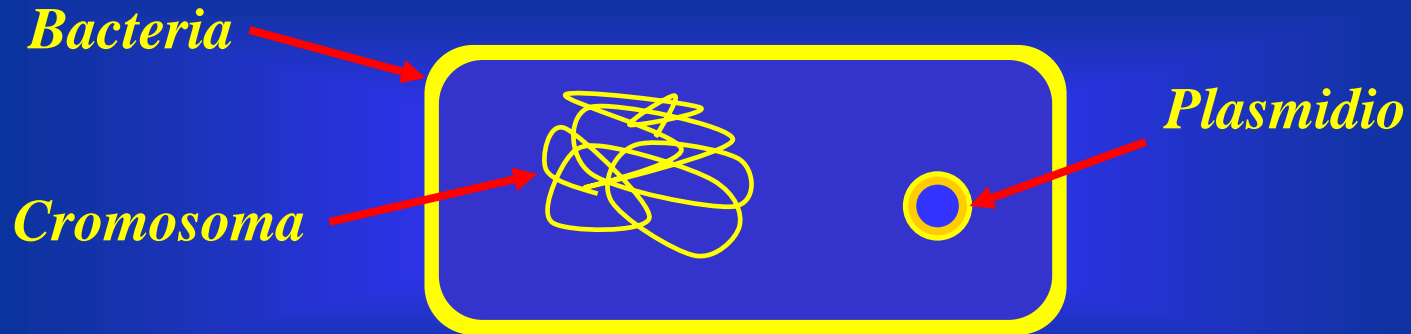
Nueva Biología Molecular

Proteínas “Clonadas”

- Ingeniería Genética
 - Enzimas de Restricción
 - Plasmidios

Obtención de Plasmidios

1.- Se cuenta con bacterias que contienen plasmidios

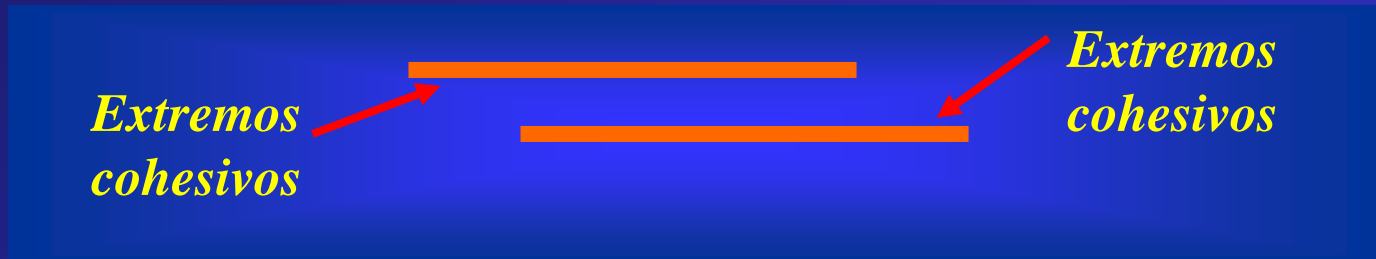


2.- Sacar plasmidio desde bacteria



Principales pasos en la Clonación de un Segmento de DNA Foráneo

1.- Obtención del DNA foráneo



2.- Corte con Enzimas de restricción del plasmidio

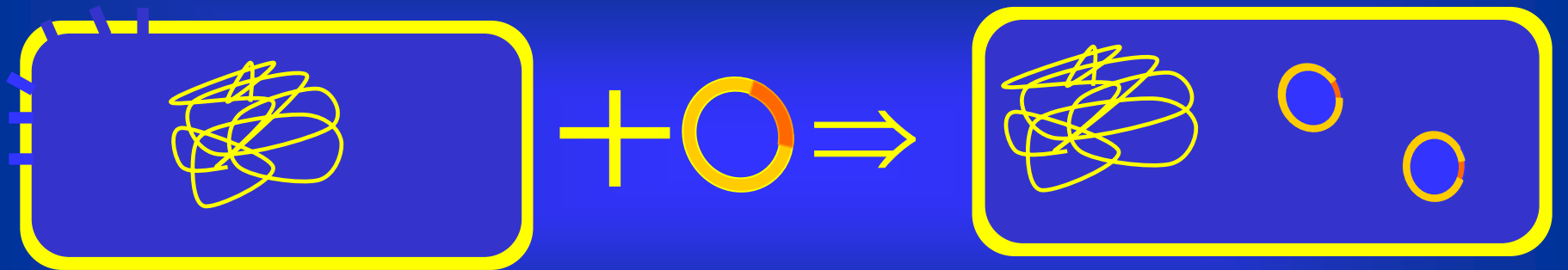


4.- Transformación

4a.- Permeabilización de la célula mediante permeasa



4.b.- Introducción del plasmidio Recombinante en célula anfitriona



Biotecnología

- **Nueva Biología Molecular**
 - **Proteínas “Clonadas”**
 - **Ingeniería de Proteínas**
 - **Ingeniería Metabólica (Systems Biology)**
 - **Genómica Funcional**
-
- **Nuevos Productos Terapéuticos**
 - **Nuevas Vacunas**
 - **Nuevas Enzimas Industriales**
 - **Cultivo de Tejidos, Terapia Génica**

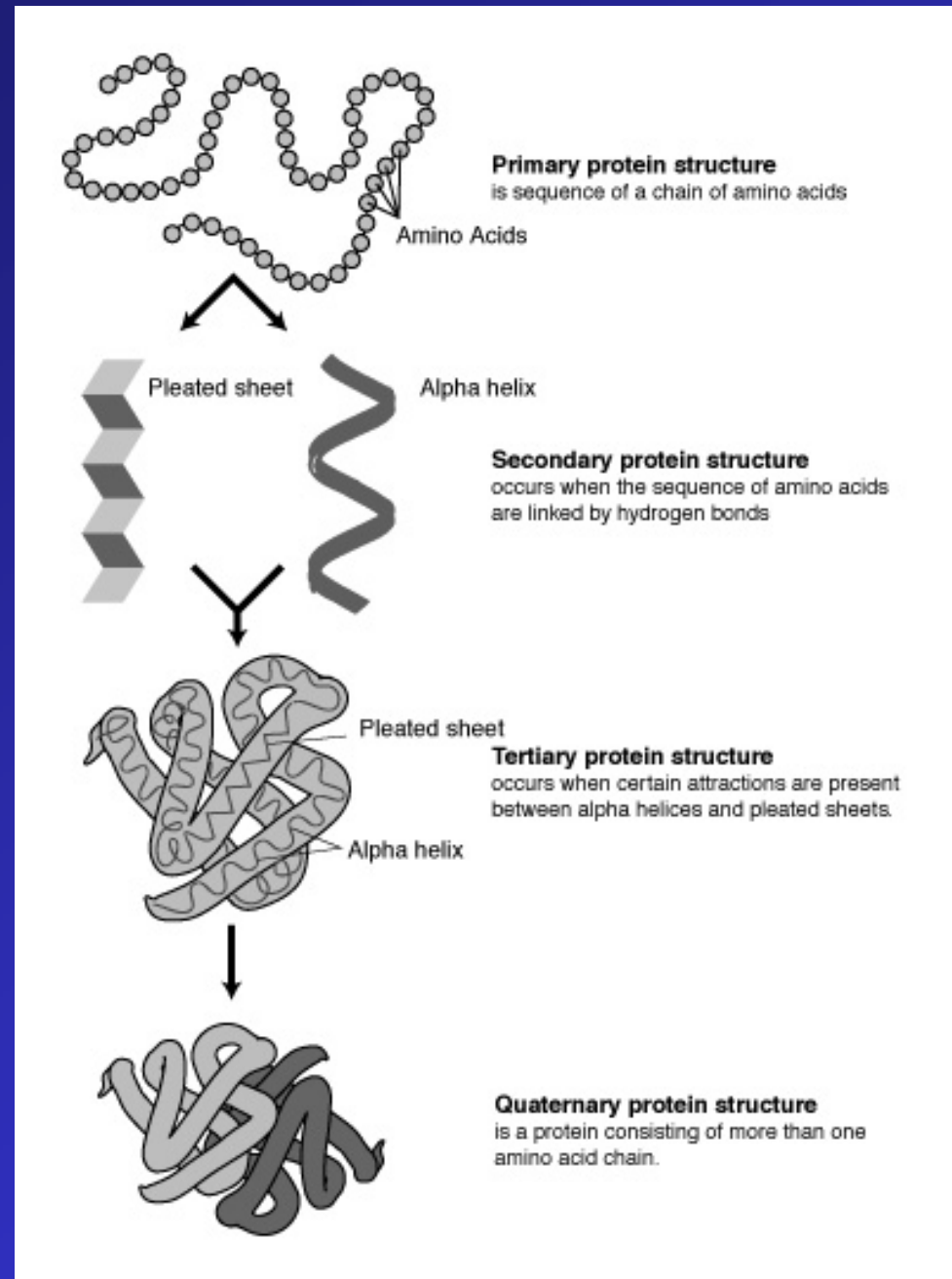
Estructura de las Proteínas

- **Estructura Primaria:** secuencia lineal de aa
- **Estructura Secundaria:** algunos aa interactúan
- **Estructura Terciaria:** cadenas de aa interligadas
- **Estructura Nativa:** proteína se encuentra activa
- **Proteína denaturada:**
 - No tiene actividad
 - No posee puentes disulfuro

Proteínas

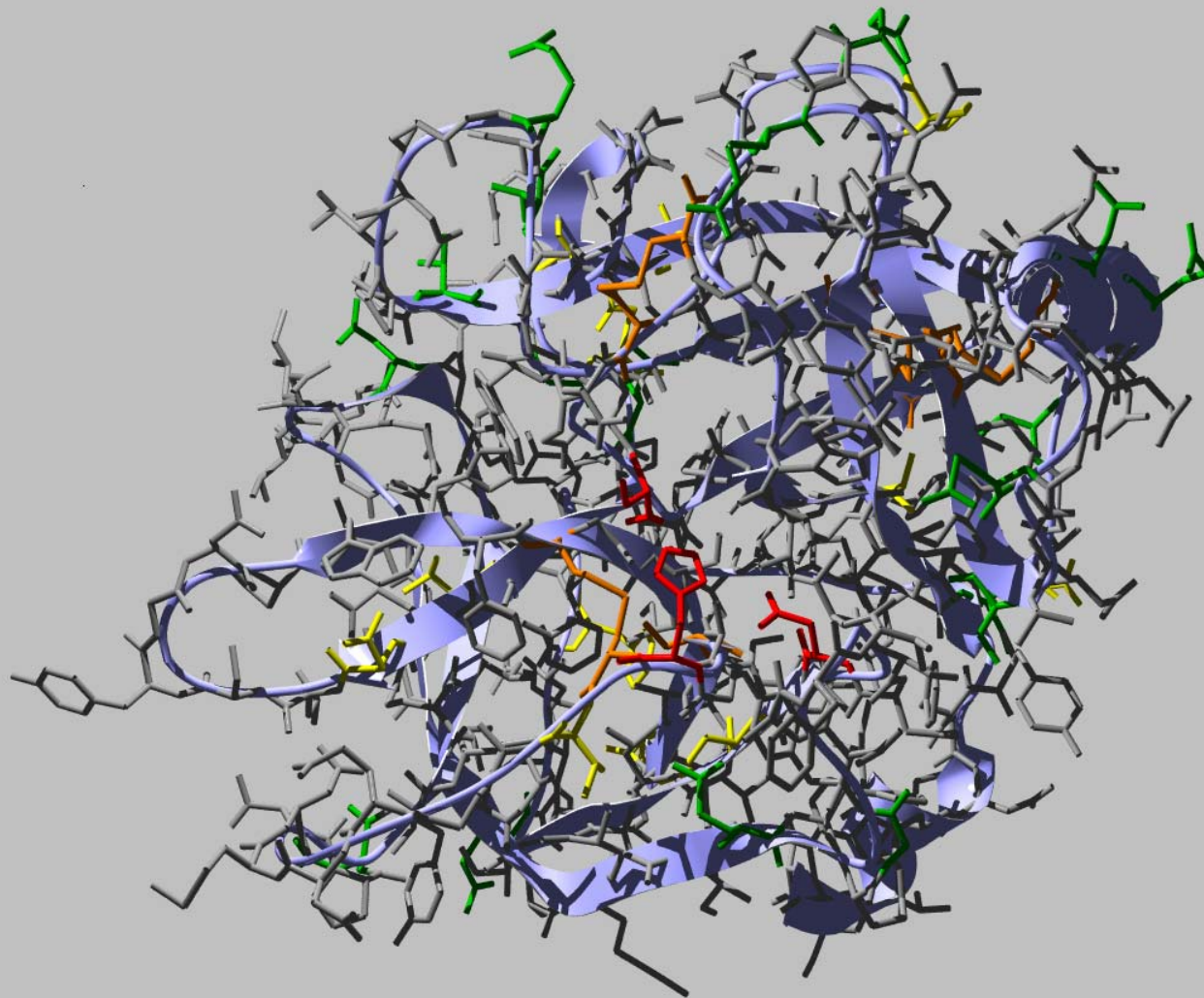
Cuatro niveles de
estructura:
desde 1 dimensión
a 3 dimensiones

Desde análisis
estructural
a análisis funcional



Ingeniería de Proteínas

Proteasa criofílica antártica



Ingeniería de Proteínas

- **Proteasas activas a baja temperatura (Criofílicas, Psicrofílicas)**
- **para detergentes**
- **para industria de alimentos**
- **Para aplicaciones médicas**

Ingeniería de Proteínas

- Estudios de Relación Estructura-Función
- Mutagénesis Sitio-Dirigida
- Mutagénesis al Azar

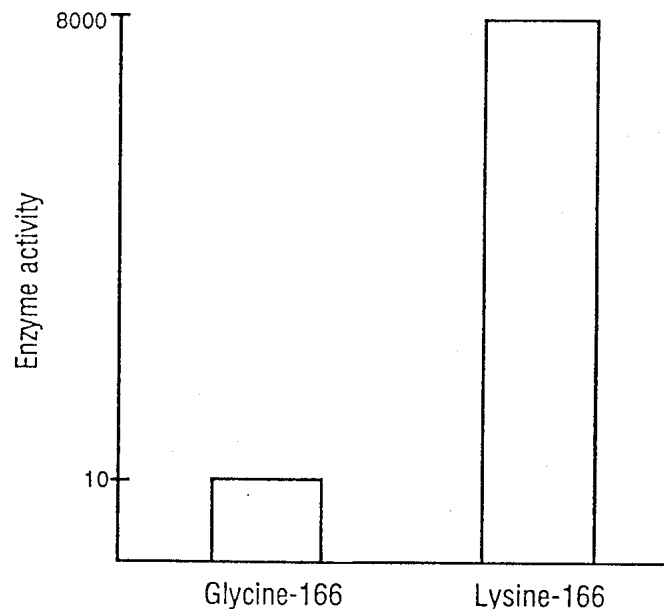
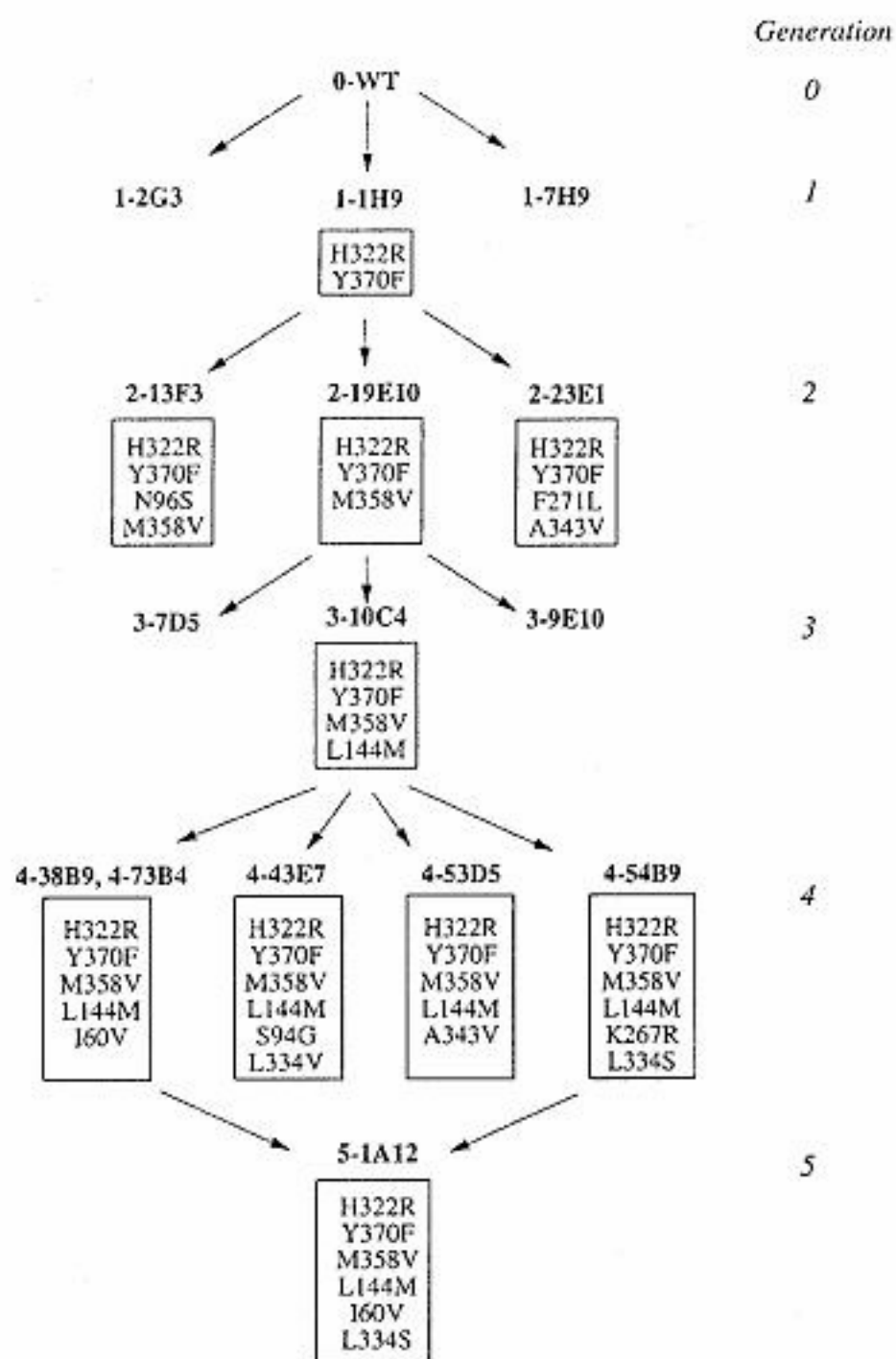


Figure 7 Engineering higher efficiency, lysine-166 subtilisin hydrolyzes a specific substrate 800 times faster than the parent enzyme (glycine-166). (Reprinted with permission of Genencor, 1988.)

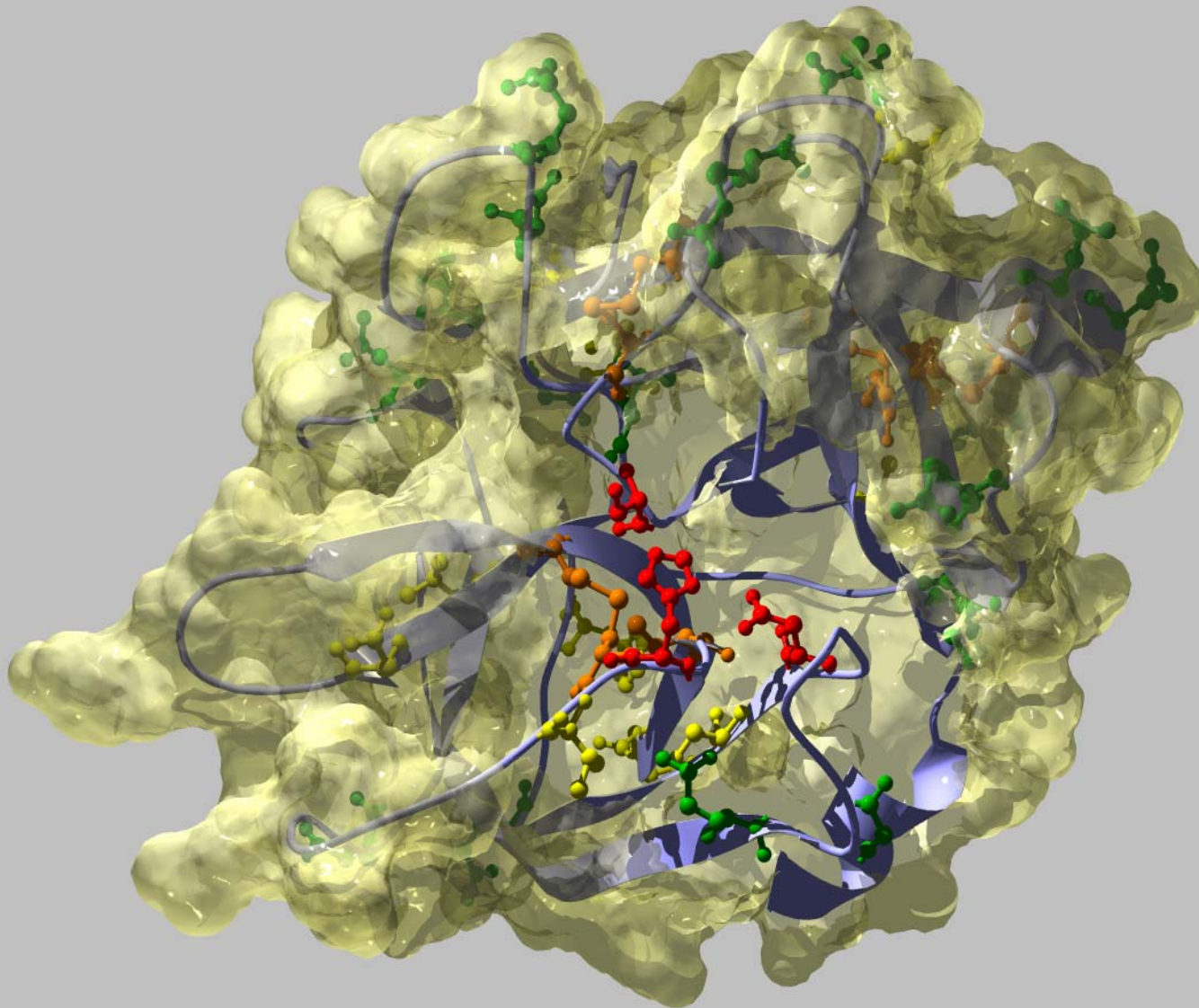
Mutagénesis al azar (random)

Evolución dirigida

**“Gene shuffling”
 (“barajar” genes)**



Proteasa criofílica antártica



Metabolómica

Ingeniería Metabólica

- **Systems Biology: qué viene después de la Genómica**
- **Uso de Análisis de Flujos Metabólicos y Tecnología de Microarrays de Genes**

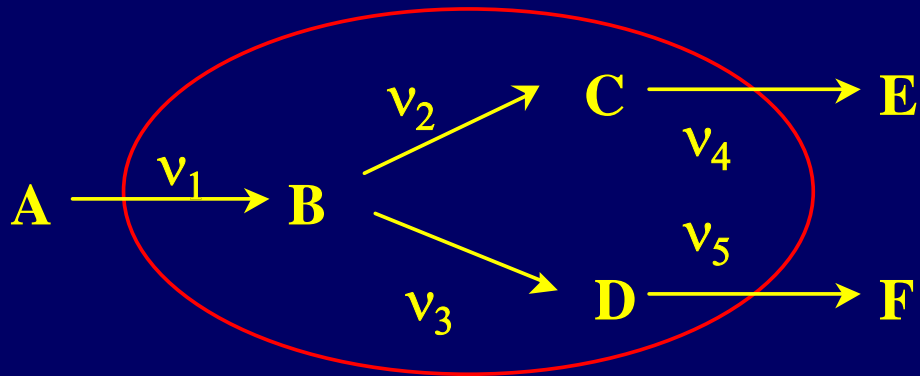
[illegible]

Metabolic Flux Analysis

Metabolic Flux Balance

$$dX/dt = S v - b$$

in SS: $S v = b$ or $S r = 0 \rightarrow S_c r_c + S_m r_m = 0$



S Stoichiometric Matrix
r Rate (Flux) vector
c Calculated
m Measured

$$S r = 0 =$$

	v_1	v_2	v_3	v_4	v_5
B	1	-1	-1	0	0
C	0	1	0	-1	0
D	0	0	1	0	-1

$$\begin{bmatrix} v_1 \\ v_2 \\ v_3 \\ v_4 \\ v_5 \end{bmatrix} \Rightarrow$$

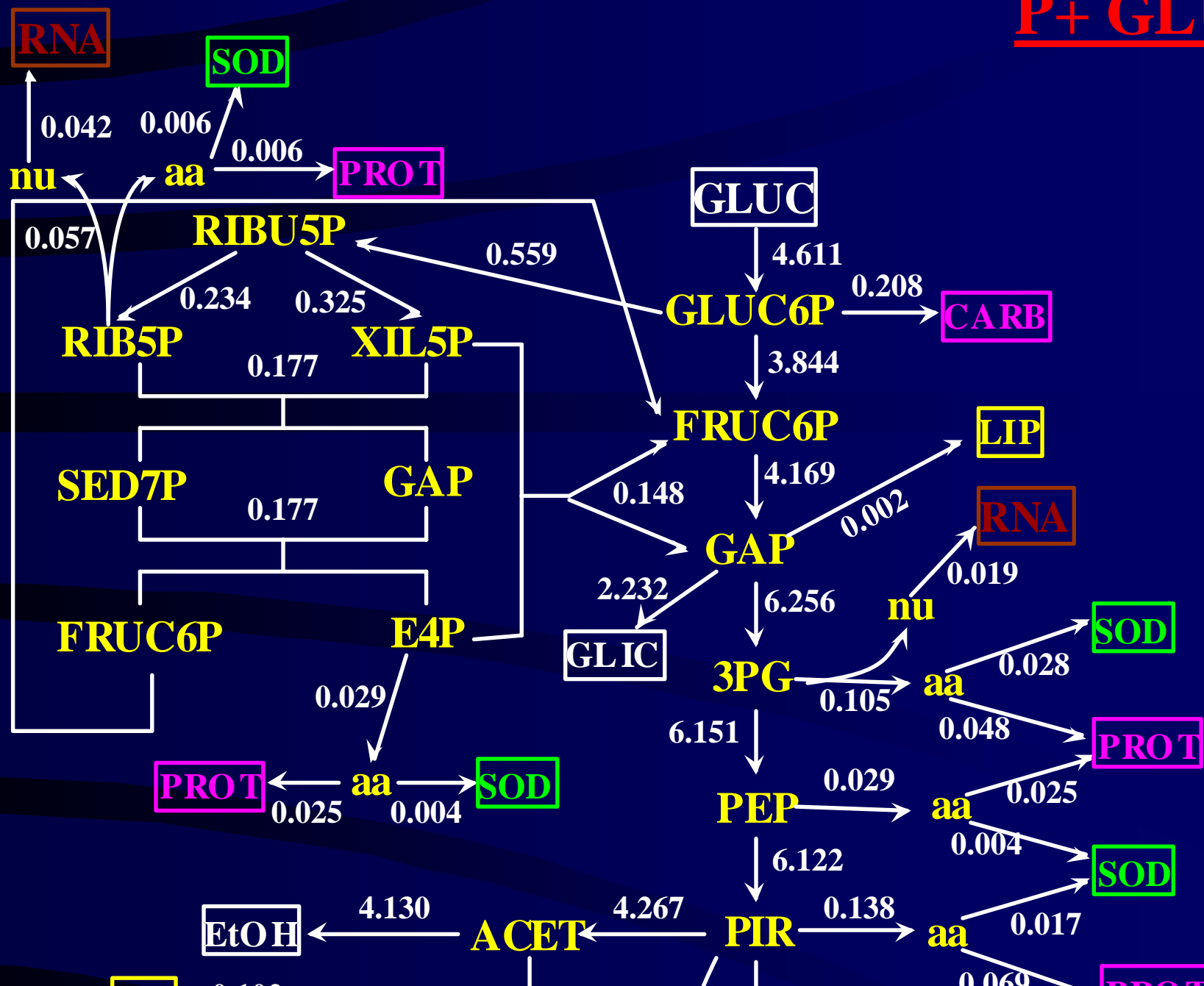
	v_1	v_2	v_3
B	1	-1	-1
C	0	1	0
D	0	0	1

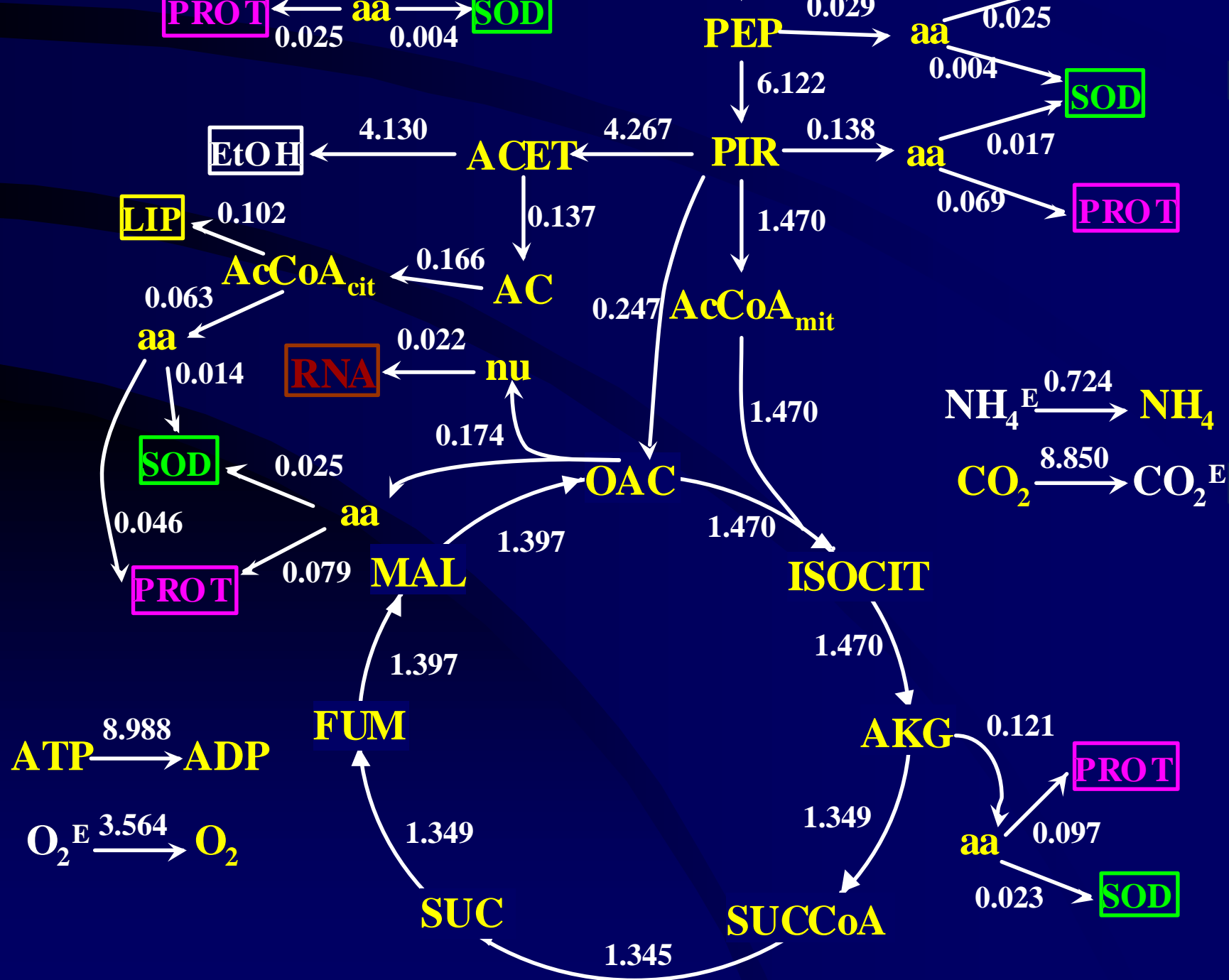
$$\begin{bmatrix} v_1 \\ v_2 \\ v_3 \end{bmatrix} +$$

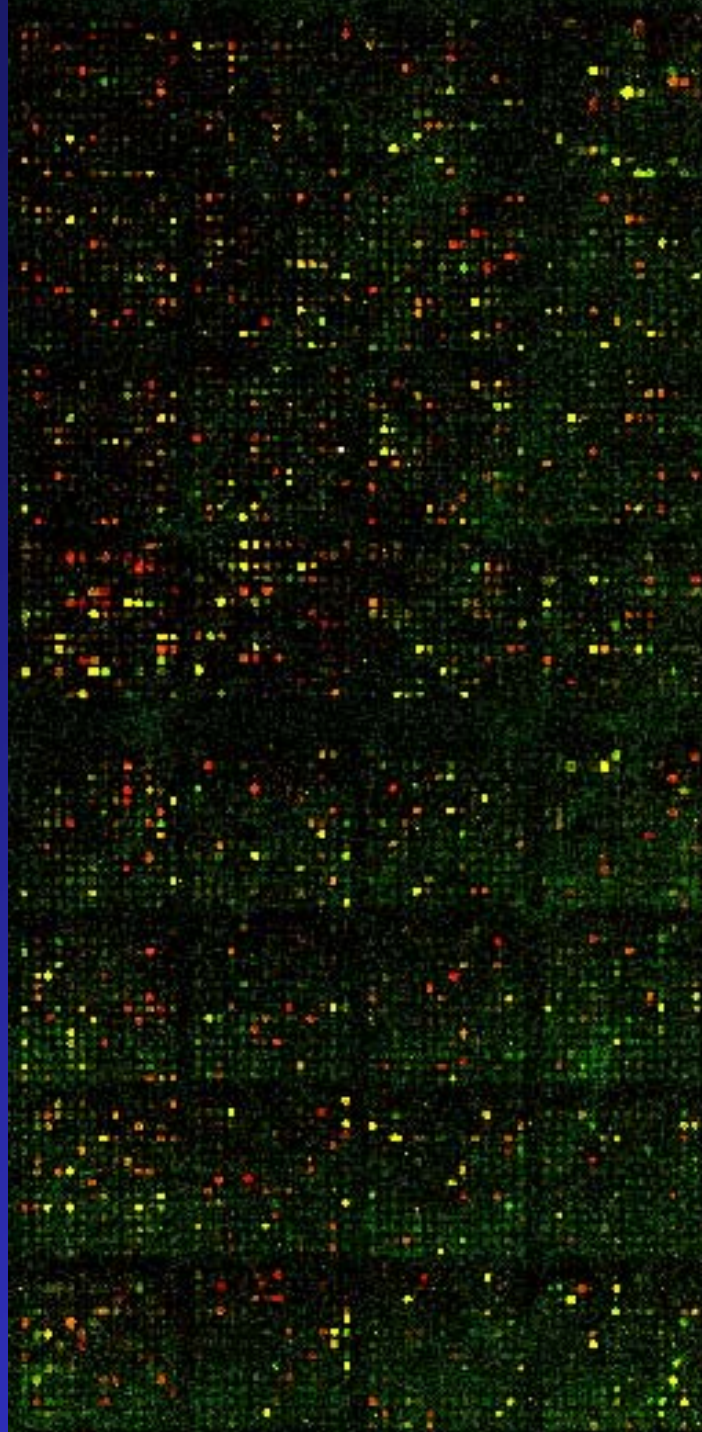
	v_4	v_5
B	0	0
C	-1	0
D	0	-1

$$\begin{bmatrix} v_4 \\ v_5 \end{bmatrix}$$

P+ GLUC

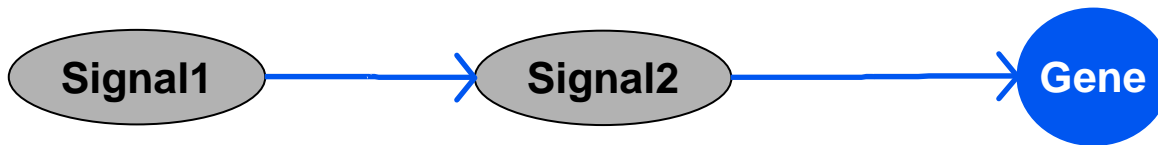






Genes regulando el metabolismo

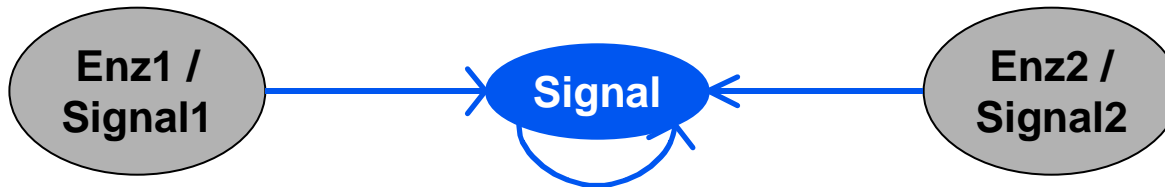
Gen



Flujo Metabólico de Enzima



Señales = Biochemicals / Reguladores



Estados

1	Activo
-1	Inactivo

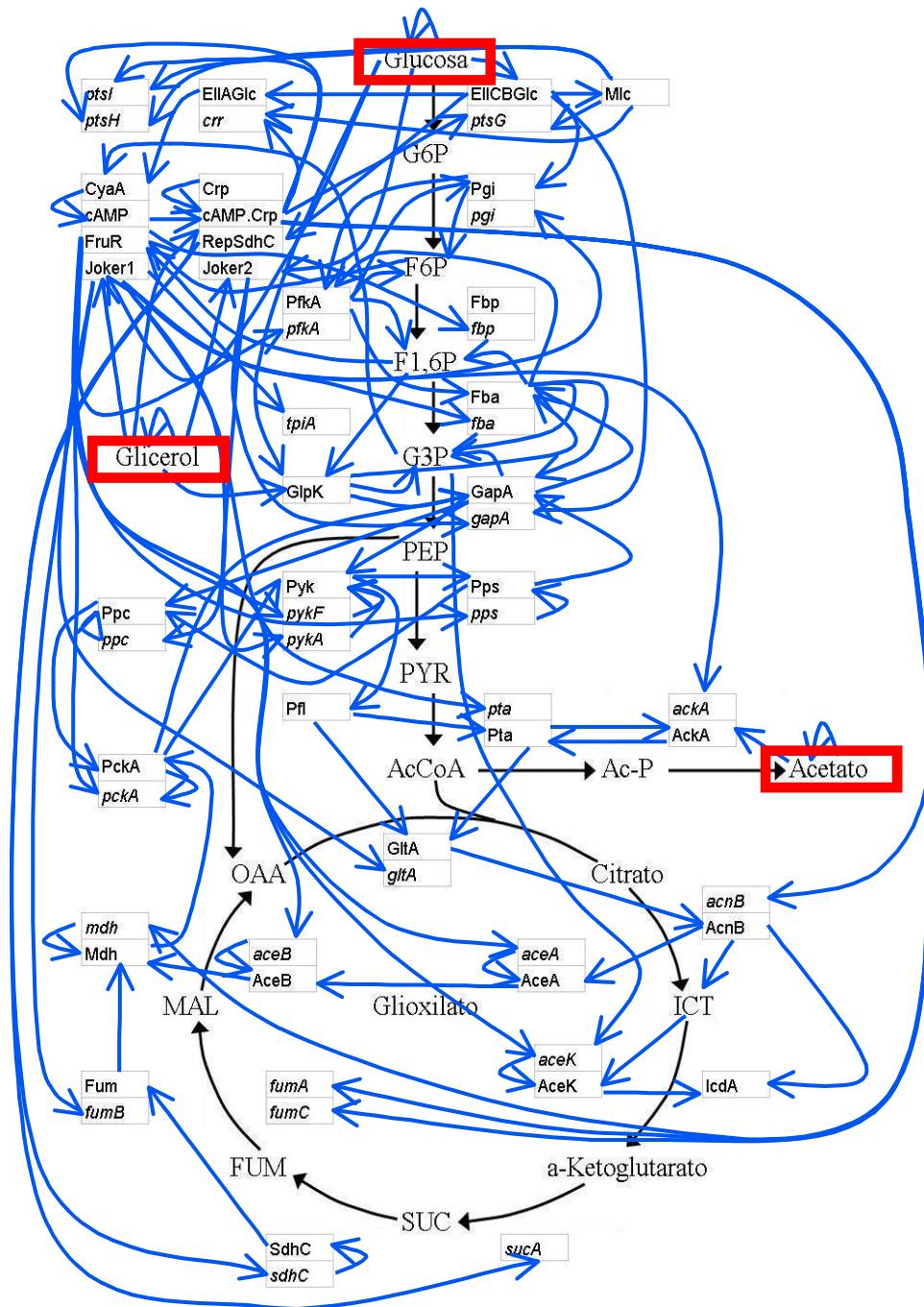
1 / 2 / 3 ↑

0 ○

-1 / -2 / -3 ↓

1 / 2 / 3 Activo

0 Inactivo

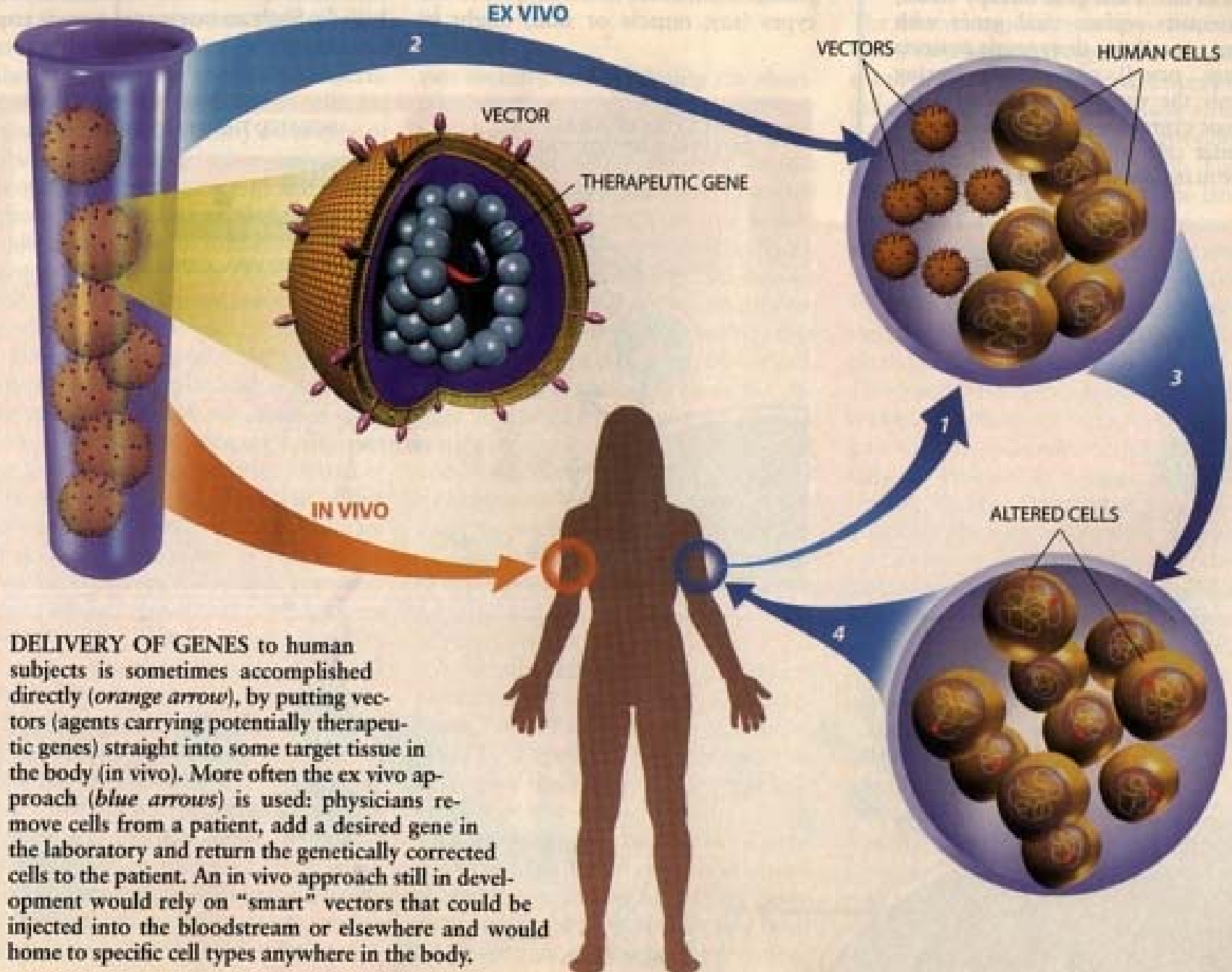


Cultivo de Tejidos

- tejidos
- células (e.g. sanguíneas)
- órganos

Células para Terapia Celular

Vectores para Terapia Génica



DELIVERY OF GENES to human subjects is sometimes accomplished directly (orange arrow), by putting vectors (agents carrying potentially therapeutic genes) straight into some target tissue in the body (in vivo). More often the ex vivo approach (blue arrows) is used: physicians remove cells from a patient, add a desired gene in the laboratory and return the genetically corrected cells to the patient. An in vivo approach still in development would rely on "smart" vectors that could be injected into the bloodstream or elsewhere and would home to specific cell types anywhere in the body.

Terapia Génica

- **Alcoholismo**
- **Osteoporosis**
- **Parkinson**
- **Cancer (e. mama - gene BRCA-1)**
- **Artritis**
- **Hemochromatosis**
- **Alzheimer**

The possibilities/perplexities of stem cells

Evan Y. Snyder and Angelo L. Vescovi

A recent paper in *Science* by Clarke et al.¹ adds another piece to the puzzle that is the "stem cell." It joins a series of other reports²⁻⁸ from the past two years suggesting that mammalian cells with exceptional and unanticipated capacities to mature into a broad range of phenotypes may be isolated from a variety of organs at multiple ages, grown to abundance in culture, and reimplanted into other regions with apparent accommodation to these new environments. Nevertheless, questions are emerging at a far greater rate than answers.

Primordial cells with this degree of self-renewal and potential have come to be termed stem cells (SCs). Because their "potential" has typically been revealed by forcing the cells to mature in altered environments or in regions and developmental stages other than those of their origin, the implications of these findings for understanding normal development remain areas of intense speculation. That such cells, however, may be the repository of

