

# L'ENGINYERIA GENÈTICA i LA BIOTECNOLOGIA



At harvest time Ted's ethical objections to the use of frog genes in potato breeding were conveniently forgotten.

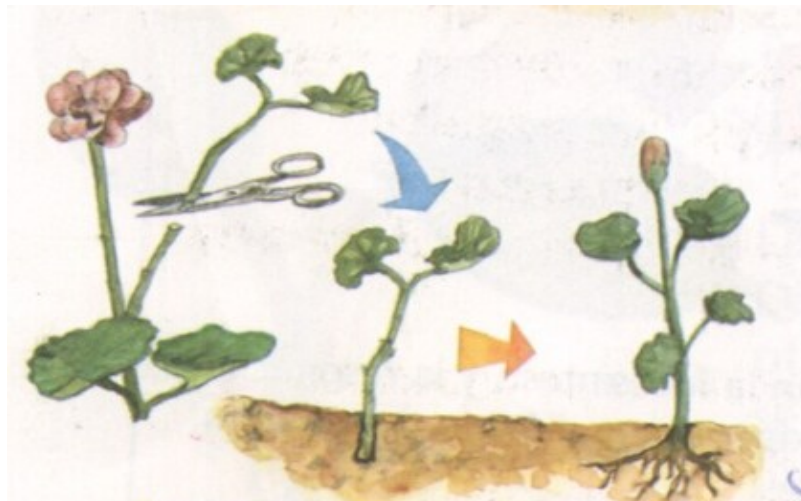
# L'enginyeria genètica i la biotecnologia

- Tècniques per introduir gens en cèl·lules.
- Producció de còpies de DNA.
- Obtenció de la proteïna que codifica el gen.
- Introducció de gens en cèl·lules humanes.
- Obtenció de vacunes recombinants.
- Obtenció d'un animal transgènic.
- Obtenció d'una planta transgènica.
- La clonació reproductiva.
- Medicina regenerativa. Clonació terapèutica. Cèl·lules mare.

# La clonació i les cèl·lules mare

Un pas més en la manipulació genètica és la clonació de genomes sencers que doni lloc a individus genèticament iguals.

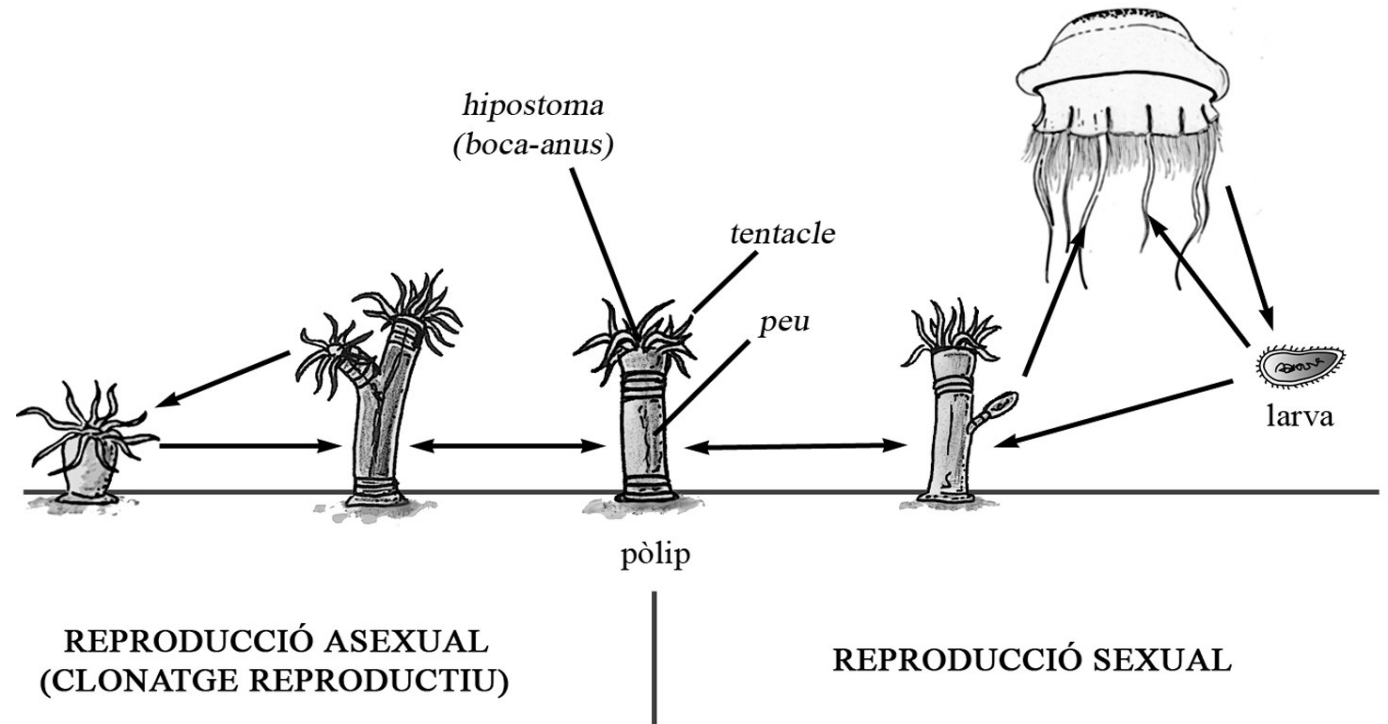
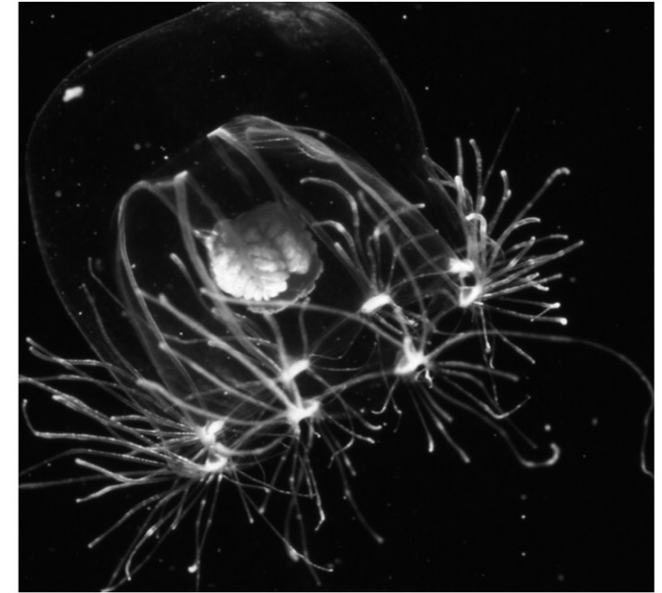
Ja des de molt antic els jardiniers i els agricultors han utilitzat la **reproducció asexual** mitjançant esqueixos, estaquetes i empelts per obtenir nous individus genèticament idèntics al progenitor (**clons**).



PÒLIP

MEDUSA

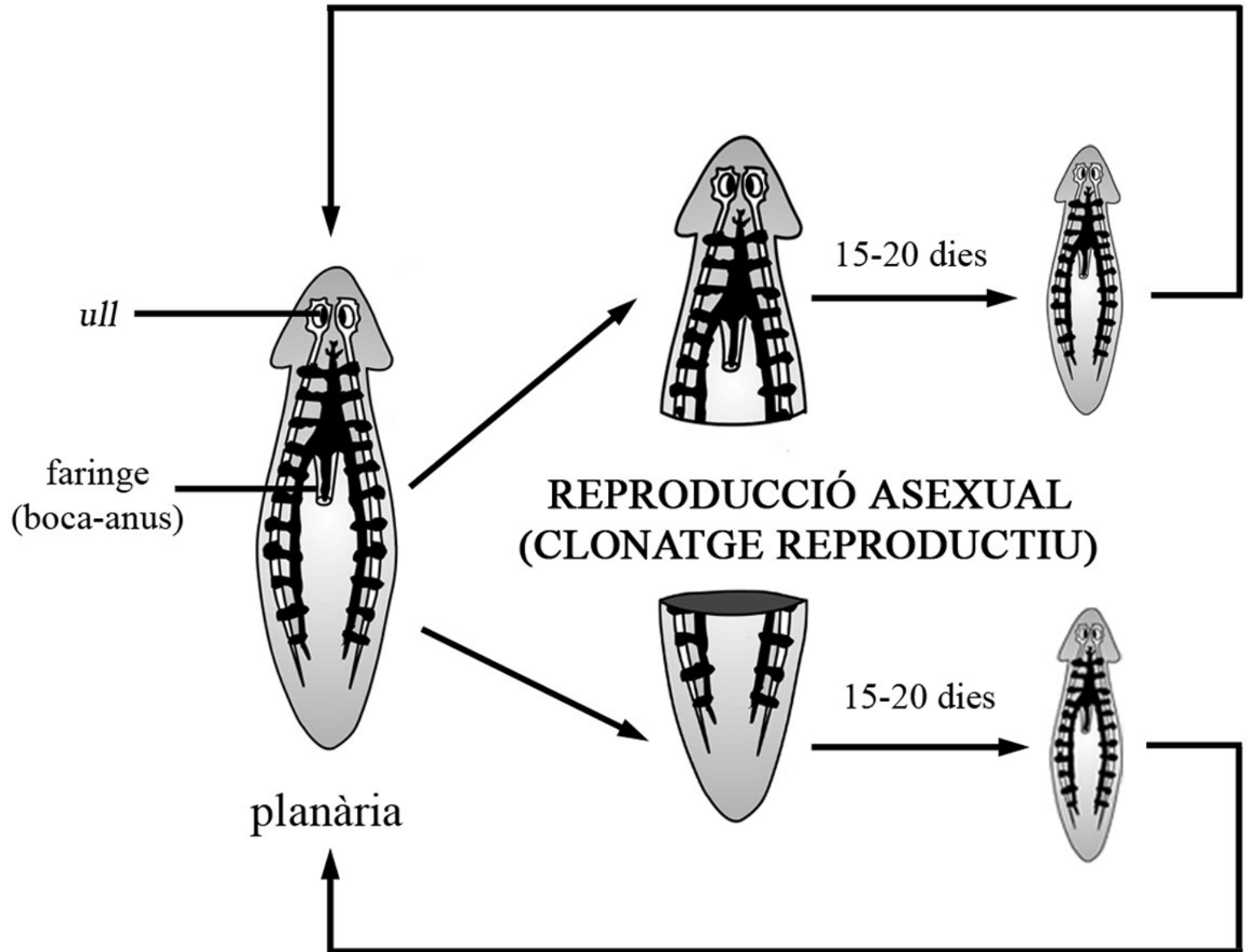
# EL CLONATGE NATURAL EN INVERTEBRATS



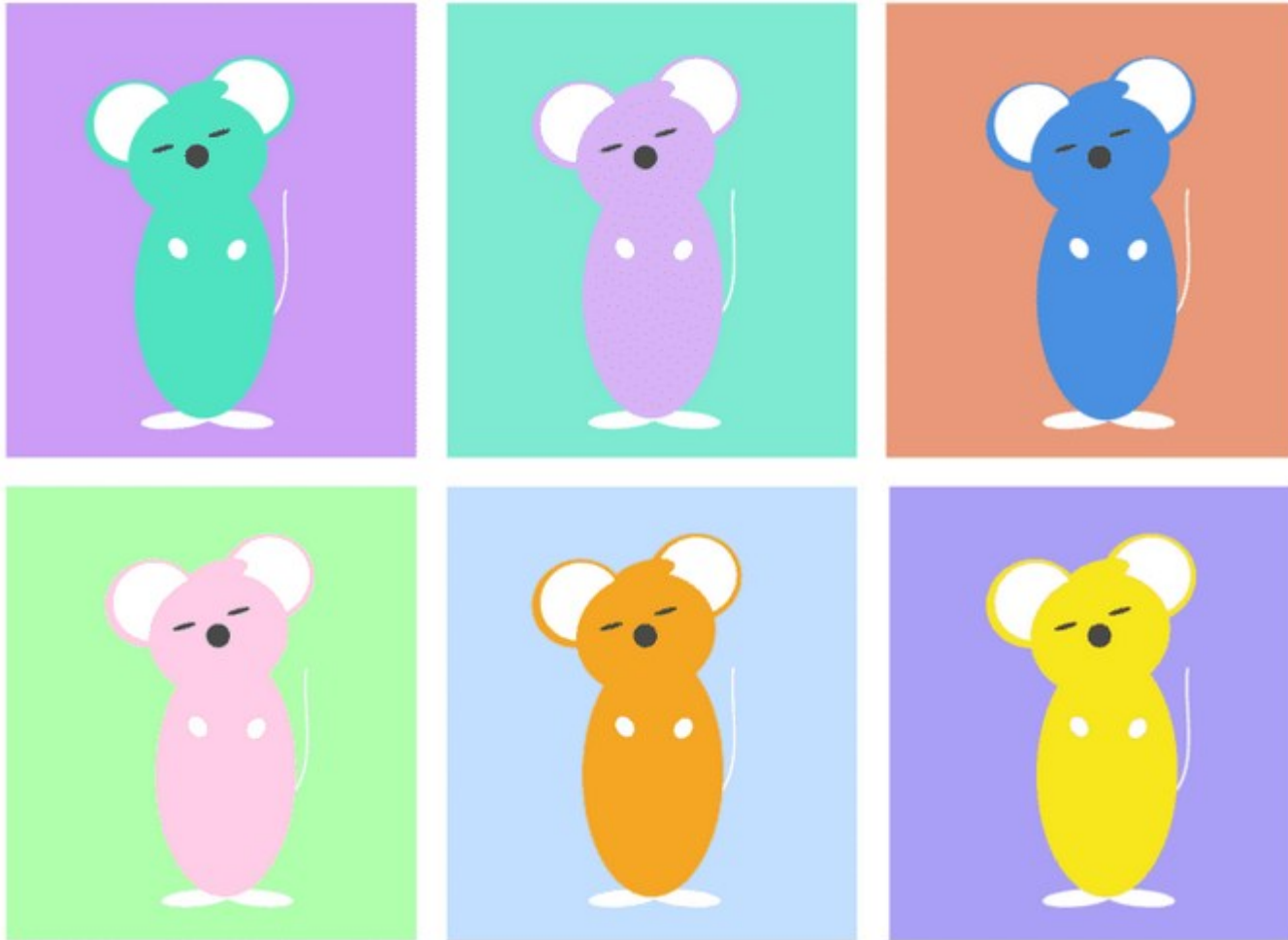
# EL CLONATGE NATURAL EN INVERTEBRATS



PLANÀRIA  
D'AIGUA DOLÇA



# Clonació reproductiva



# Clonació reproductiva

La tècnica que permet generar individus genèticament idèntics a un altre ja existent rep el nom de **clonació**.

Aquesta tècnica equival a una reproducció asexual artificial.

La clonació d'individus pot aconseguir-se de **dues maneres**:

- Per **transferència nuclear somàtica** (exemple ovella Dolly)
- Per **divisió de l'embrió** (exemple mono rhesus Tetra)

# El primer mamífer clònic: l'ovella Dolly

1996

Clonació de l'ovella Dolly a partir d'una cèl·lula adulta

Creadors: Wilmut i Campbell

Mètode usat: per tranferència nuclear.

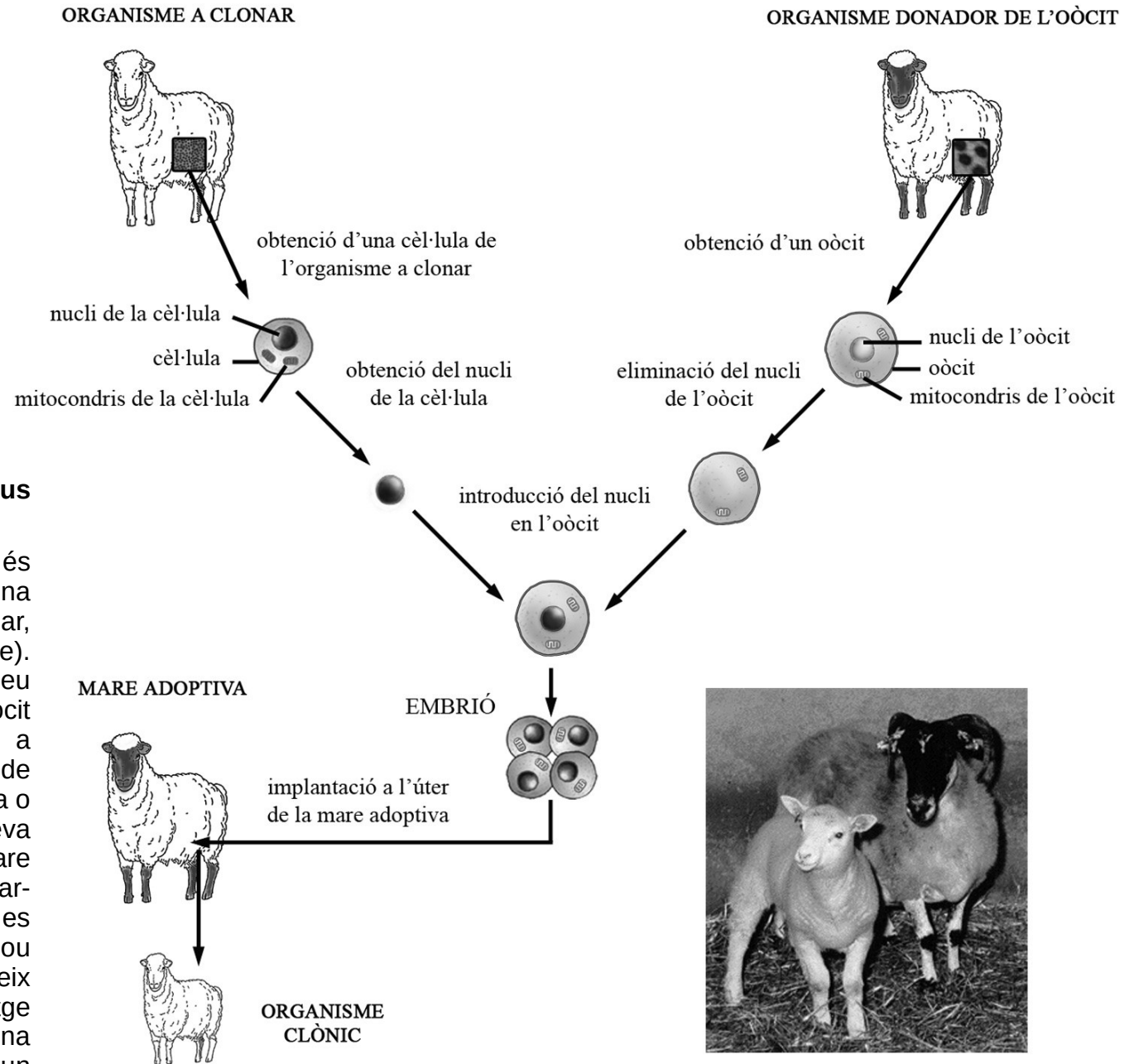




# CLONACIÓ D'UN MAMÍFER (per transferència nuclear)

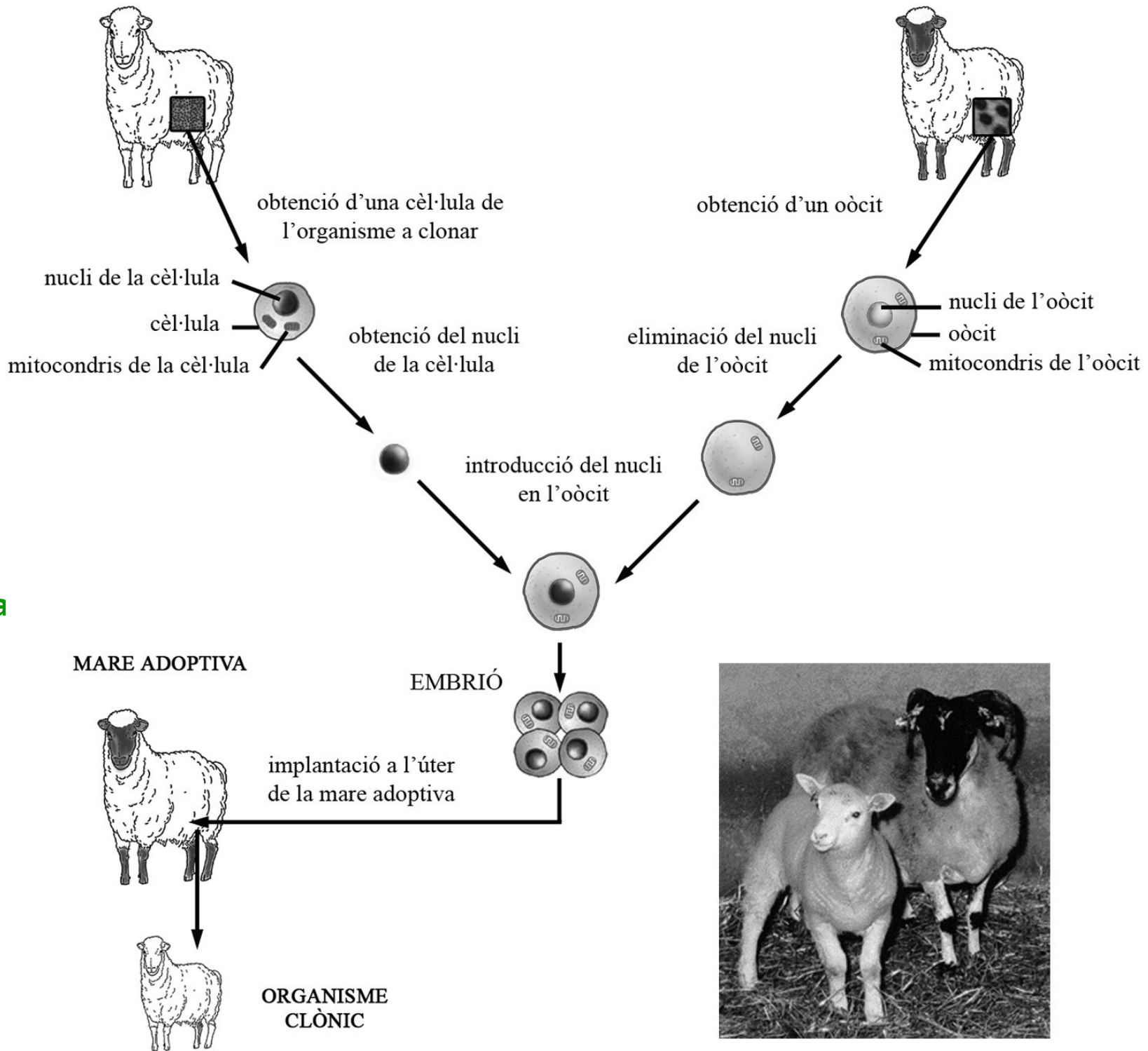
## Com es poden obtenir clons d'individus adults?

La manera d'obtenir clons d'individus adults és conceptualment senzilla. S'obté el nucli d'una cèl·lula qualsevol de l'individu que es vol clonar, (aquest conté tot el genoma de l'organisme). S'agafa un oòcit d'una donant i s'elimina el seu nucli. S'introdueix el nucli obtingut en l'oòcit anucleat i es deixa que comenci a desenvolupar-se un embrió en condicions de laboratori. Un cop ha assolit l'estadi de mòrula o de blàstula primerenca i s'ha comprovat la seva viabilitat, es transfereix a l'úter d'una mare adoptiva, on nidarà i acabarà de desenvolupar-se. En teoria, amb això n'hi ha prou perquè es desenvolupi un clon del progenitor, un nou organisme que tindrà exactament el mateix material genètic. Aquest tipus de clonatge implica un trasplantament nuclear entre una cèl·lula diferenciada d'un organisme adult i un oòcit d'una donant.

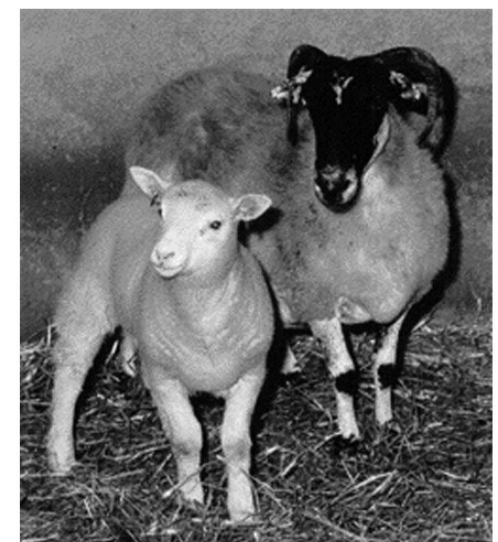


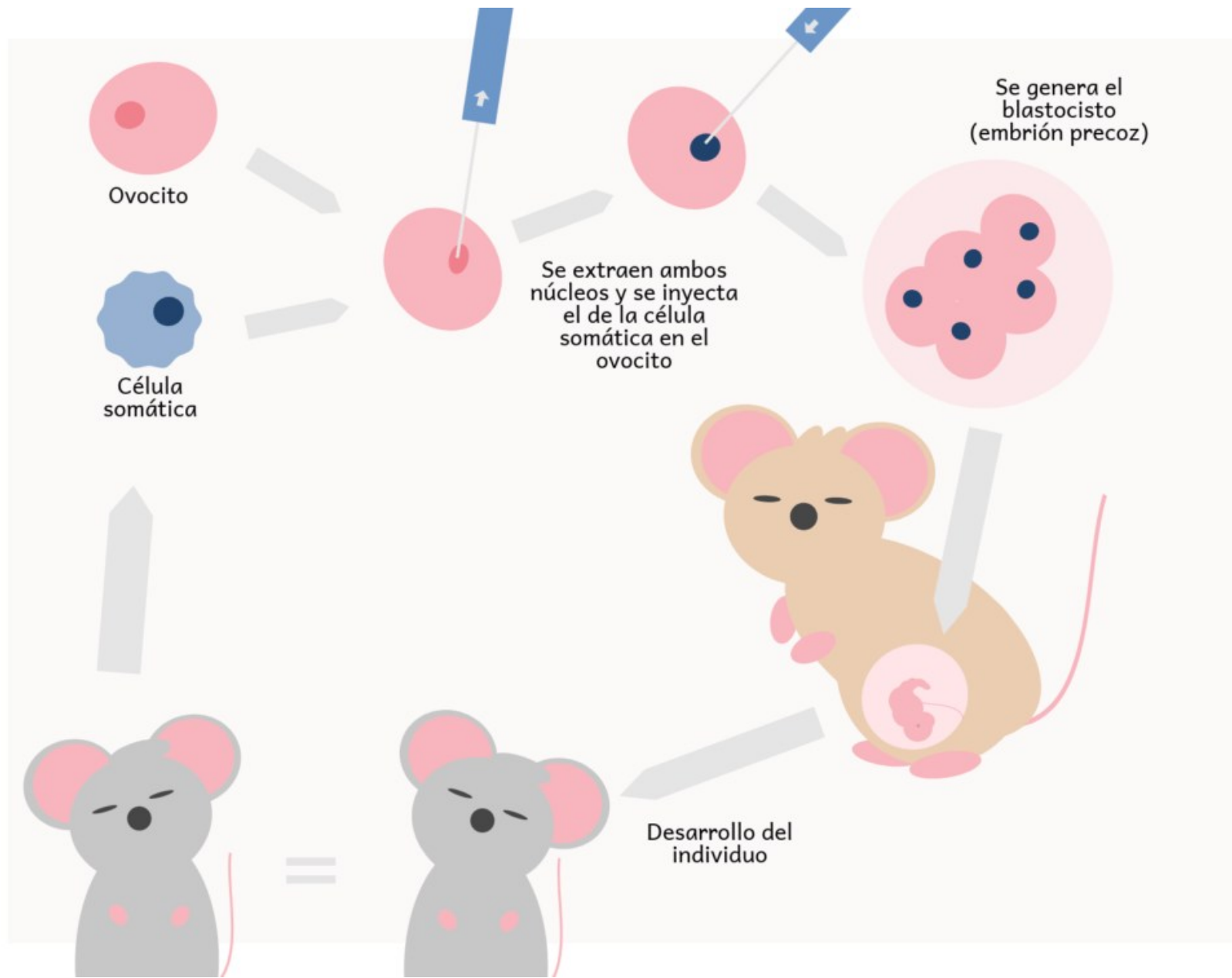
ORGANISME A CLONAR

ORGANISME DONADOR DE L'OÒCIT



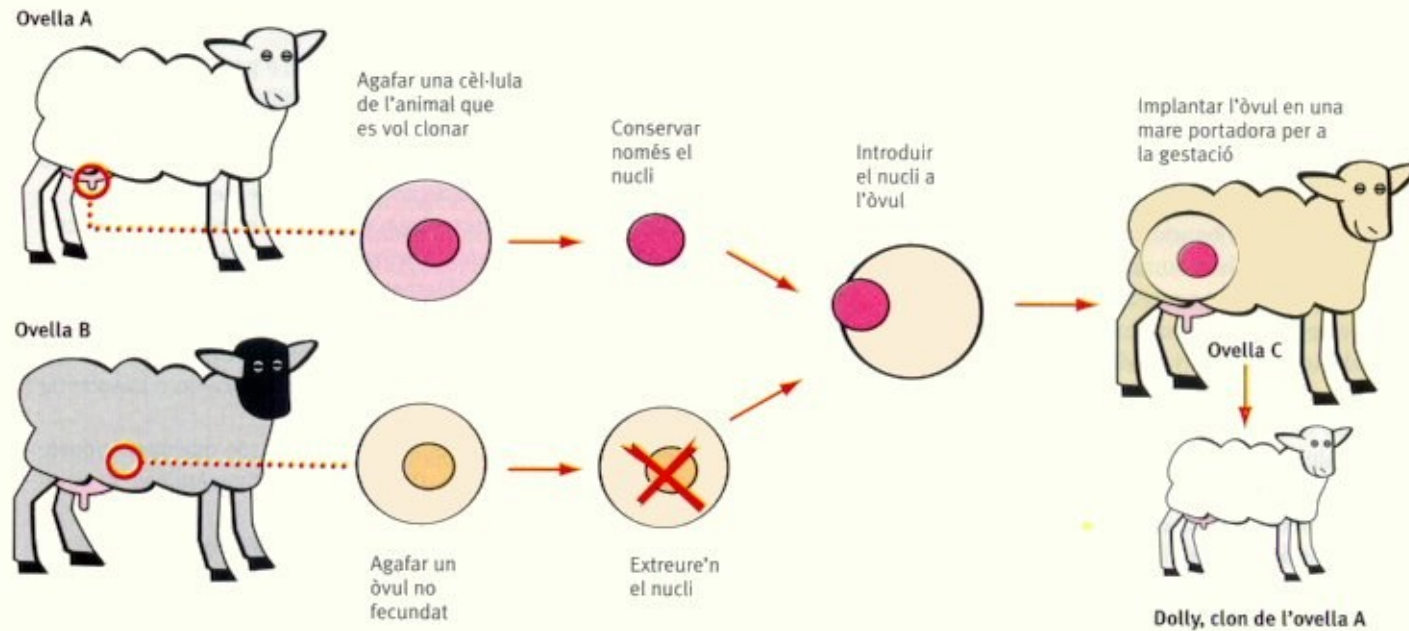
**CLONACIÓ D'UN MAMÍFER (per transferència nuclear)**





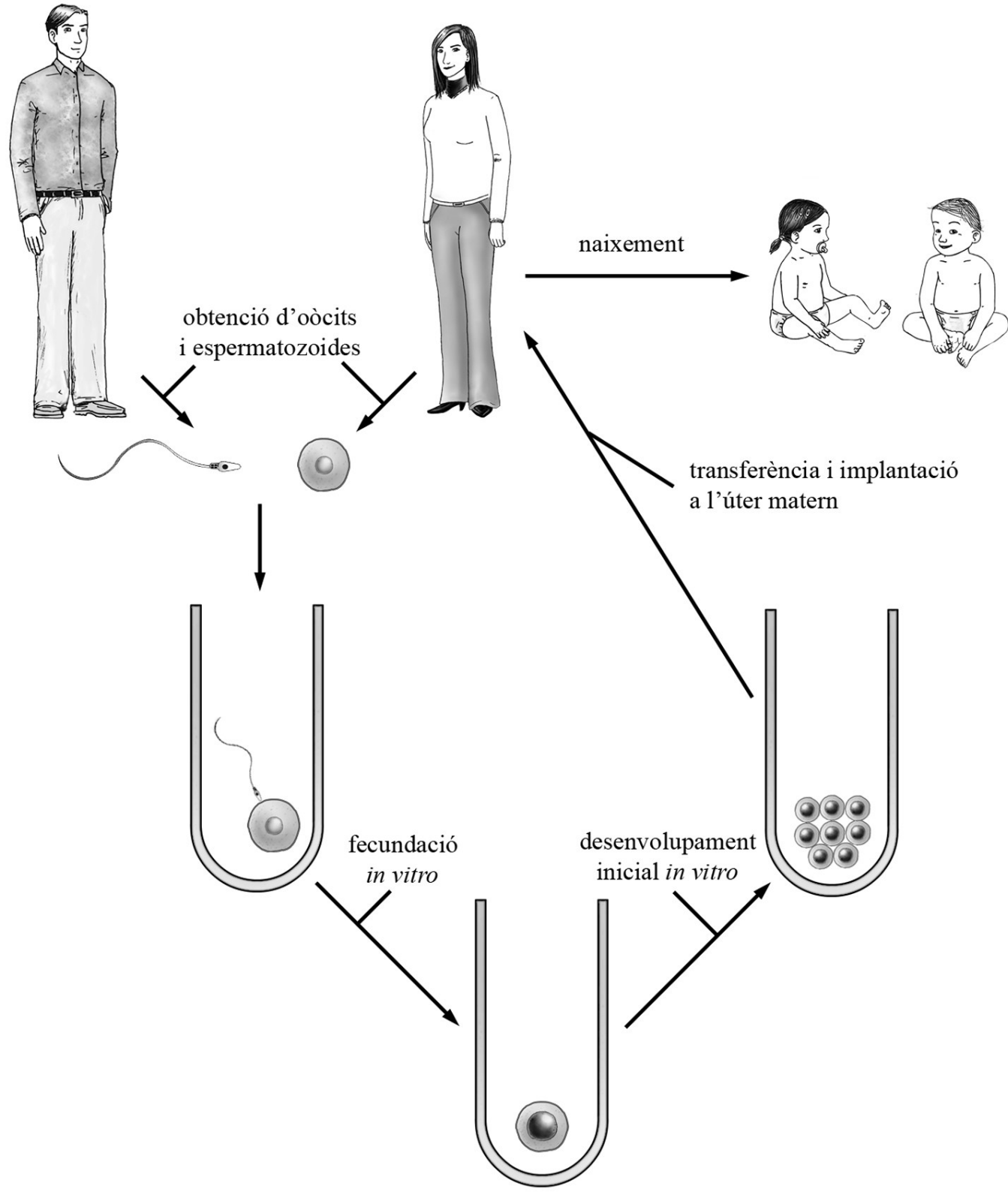
## Clonación reproductiva

## La clonació "tipus Dolly"



Clonació per transferència nuclear

# LA TRANSMISSIÓ GÈNICA EN FILLS BIPARENTALS

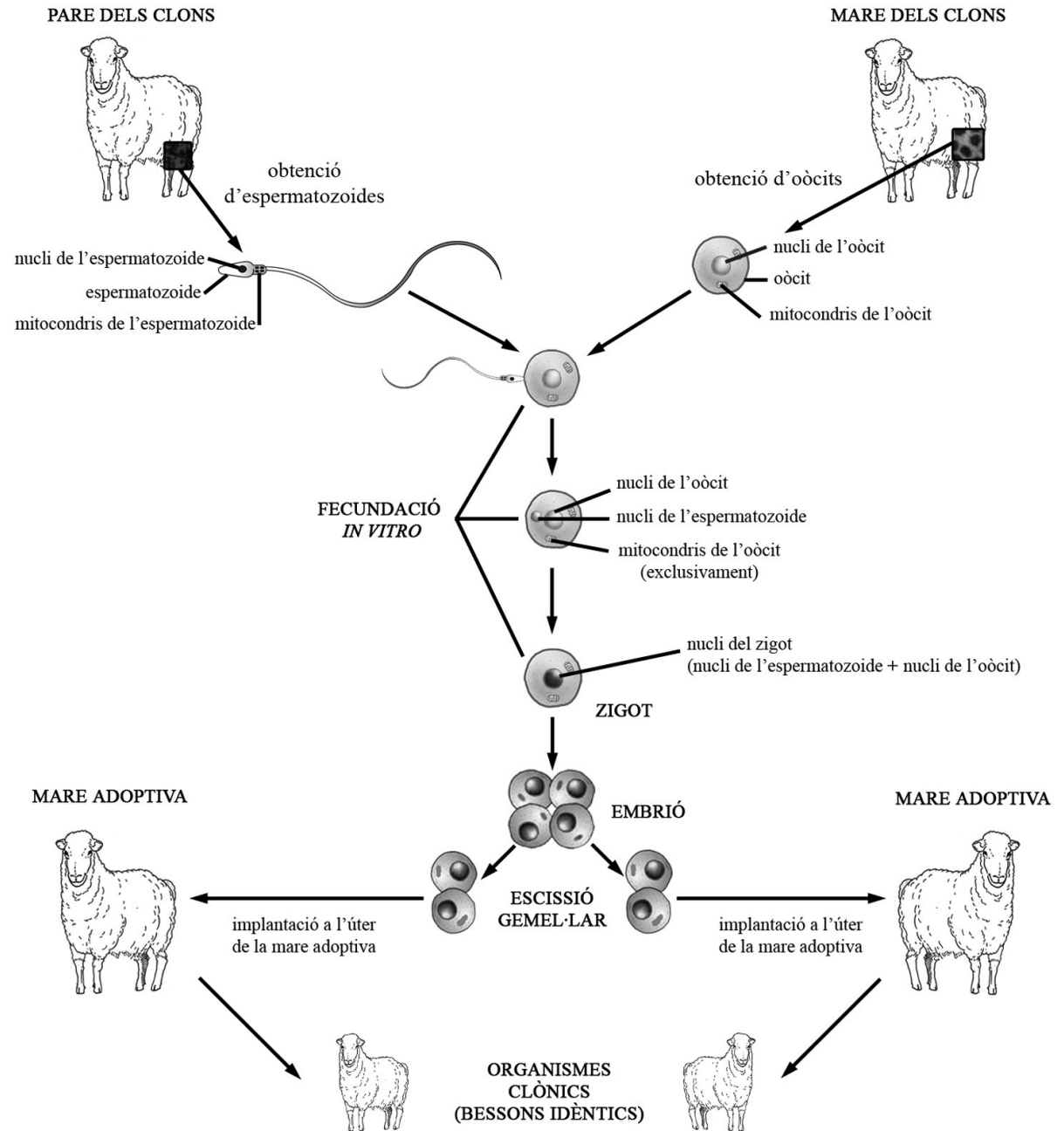


# OBTENCIÓ D'ANIMALS CLÒNICS (per divisió de l'embrió)

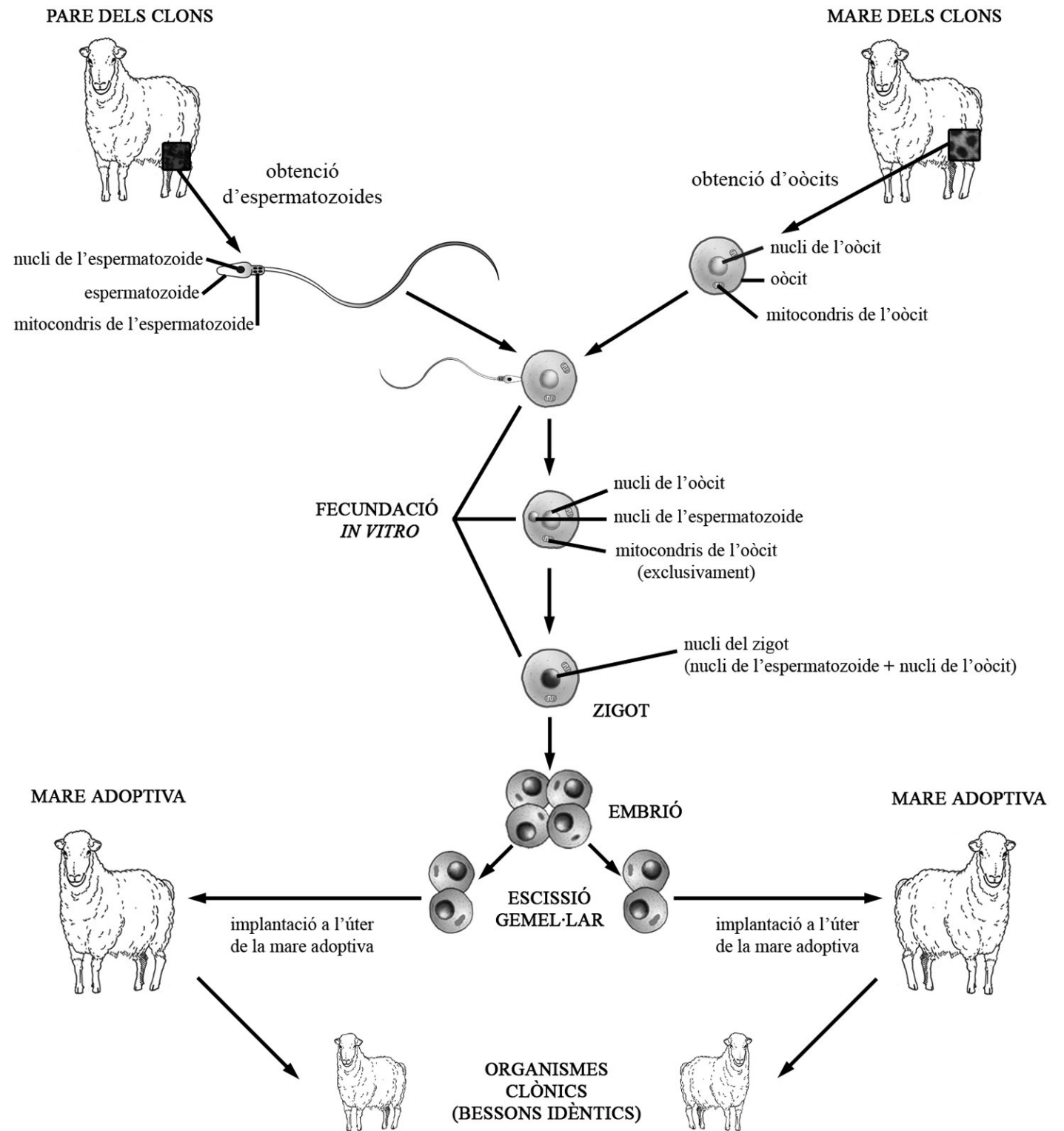
## Com es generen animals clònics per divisió de l'embrió?

La tècnica de clonatge per divisió de l'embrió simula la generació espontània de bessons, per la qual cosa es coneix també amb el nom d'**escissió gemel·lar**.

Es realitza una fecundació in vitro amb oòcits i espermatozoides i es deixa que els zigots generats es desenvolupin al laboratori fins l'estadi de mòrula. Un cop assolit aquest estadi s'escindeix mecànicament l'embrió en dues meitats, es deixa que s'estabilitzin i es comprova la seva viabilitat. Després, en el cas dels mamífers, es transfereixen a l'úter d'una mare adoptiva perquè hi nidin i s'hi desenvolupin. En néixer seran bessons idèntics, és a dir, clons.



# OBTENCIÓ D'ANIMALS CLÒNICS (per divisió de l'embrió)



# Curiositats

Per a que nasqués Dolly va ser necessari:

- Manipular i anuclear 400 oòcits
  - A 277 se'ls va poder introduir amb èxit un nou nucli.
    - Només 50 van donar lloc a petits embrions viables per ser trasplantats a uters de mares adoptives.
      - Només 13 de les mares adoptives van quedar embarassades.
        - Només 1 va donar llum a un ovella viva



# La medicina regenerativa i la clonació terapèutica

# La medicina regenerativa i la clonació terapèutica

## Què són?

La **medicina regenerativa** és una branca de la biomedicina que té per objectiu el guariment de malalties degudes al funcionament anòmal de determinades cèl·lules, teixits o òrgans tot reemplaçant-los per cèl·lules, teixits o òrgans funcionals i immunològicament compatibles amb el pacient.

Una de les diverses tècniques utilitzades per obtenir les noves cèl·lules, teixits o òrgans és la **clonació terapèutica**.

**El trasplantament convencional d'òrgans i teixits com a mètode terapèutic presenta tres inconvenients:**

- L'escassetat d'òrgans disponibles.
- El rebuig immunològic i la necessitat de dependre de medicaments immunosupressors de per vida.
- La impossibilitat tècnica d'aconseguir determinats òrgans i teixits (com per exemple teixit nerviós)

Gràcies a la **clonació terapèutica** es poden generar gairebé tots els tipus cel·lulars i d'aquesta manera arribar a regenerar els teixits danyats.

En la clonació terapèutica es fa servir, igual que en la reproductiva, la **tècnica de la transferència nuclear somàtica**.

Els objectius però de tots dos tipus de clonació són ben diferents: en la clonació reproductiva és la generació d'individus complets idèntics i en la clonació terapèutica és l'**obtenció de cèl·lules mare pluripotents**.

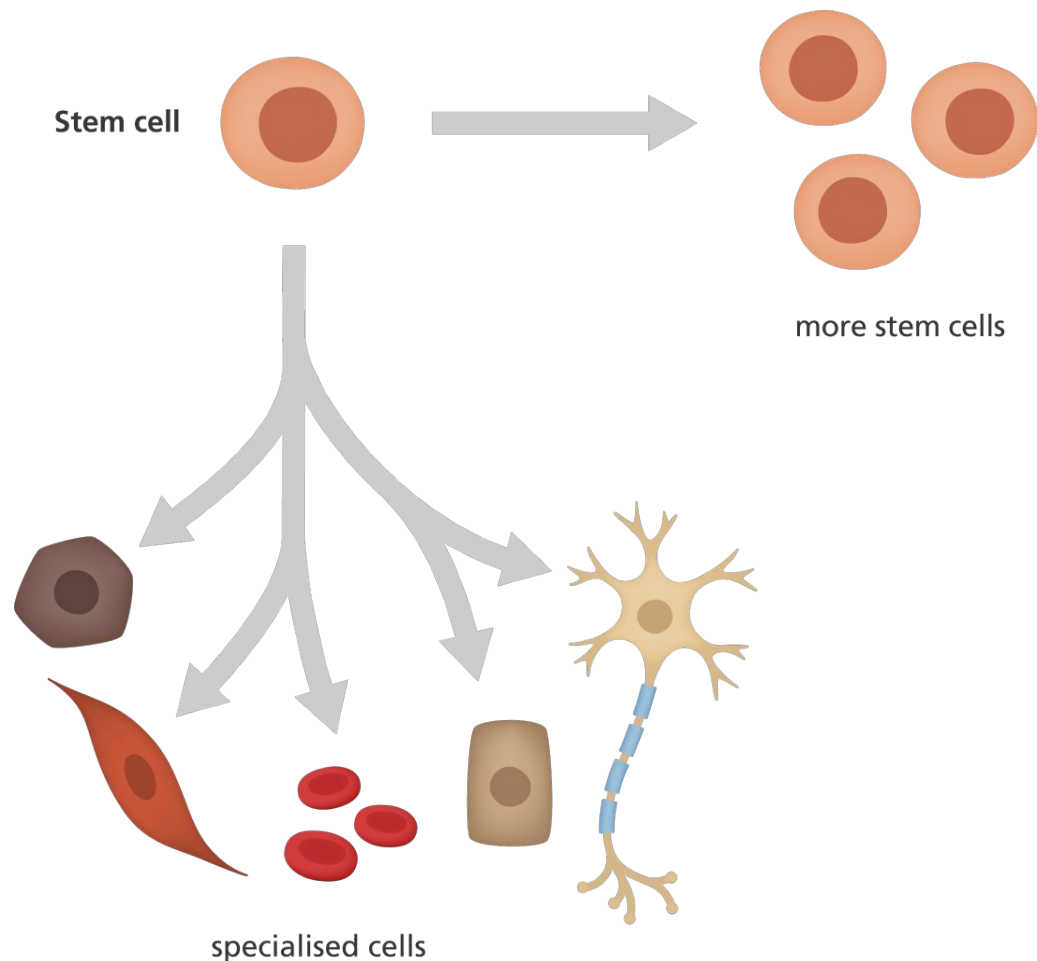
**La clau de la medicina regenerativa** es troba en  
**les cèl·lules mare**

cèl·lules que estan presents en...

- embrions primerencs (*cèl·lules mare embrionàries*)
- teixits adults (*cèl·lules mare de teixit o adultes*)

# Cèl·lules mare

Són cèl·lules no diferenciades capaces d'experimentar divisions il·limitades i produir cèl·lules filles que poden donar origen a diferents tipus de cèl·lules presents a l'organisme.



2001 Catherine Verfaillie:  
Descobriment cèl·lules  
mare adultes multipotents  
a la medul·la ossia.

## Característiques de les cèl·lules mare

- **Capacitat per dividir-se** indefinidament originant noves còpies de si mateixa (capacitat d'autorenovació).
- **Capacitat per diferenciar-se** en altres tipus cel·lulars d'acord amb determinades condicions ambientals.
- **Capacitat per originar teixits i òrgans.**

# Diferenciació cel·lular.

## Recorda...

- Totes les cèl·lules somàtiques d'un organisme tenen el mateix genoma.
- La determinació del tipus cel·lular depen dels gens que s'expressen, és a dir, dels que són transcrits.
- Mitjançant els gens reguladors, es regula la transcripció d'aquests gens.

## Exemple:

Tot i que una cèl·lula de la pell d'una persona i una cèl·lula òssia tenen formes, funcions i característiques totalment diferents, totes dues contenen el mateix genoma. Això s'explica per la diferent expressió dels seus gens a través d'un mecanisme anomenat *regulació gènica*.



# Tipus de cèl·lules mare

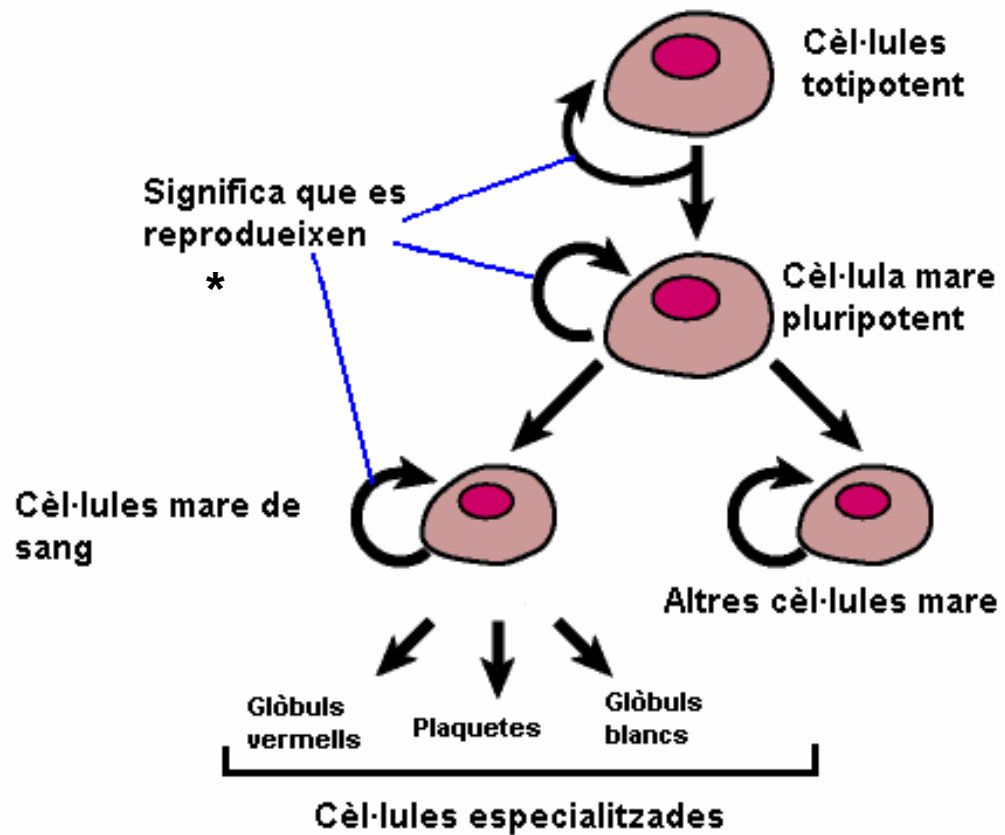
En funció de la capacitat de diferenciar-se en més o menys tipus cel·lulars:

- Cèl·lules mare **totipotents**
- Cèl·lules mare **pluripotents**
- Cèl·lules mare **multipotents**
- Cèl·lules mare **unipotents**

En funció del seu origen:

- Cèl·lules mare **adultes**
- Cèl·lules mare **embrionàries**

S'utilitza el terme "**potencialitat**" per referir-se a la capacitat de diferenciar-se en altres tipus cel·lulars. Hi ha cèl·lules mare amb més potencialitat que altres...



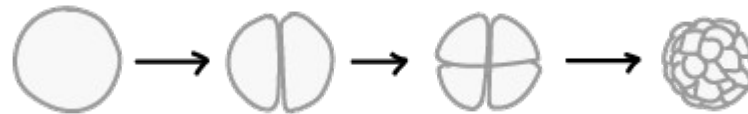
A partir de cèl·lules mare es poden obtenir cèl·lules especialitzades de diferents tipus

\* Una cèl·lula mare quan es divideix pot donar lloc a altres cèl·lules mare idèntiques a ella o altres cèl·lules amb funcions especialitzades.

S'anomenen **cèl·lules mare totipotents** les que poden donar lloc a un nou individu completament organitzat i estructurat.

El zigot és una cèl·lula mare totipotent (“potència total”). Aquesta cèl·lula es divideix en cèl·lules totipotents idèntiques.

Si aquestes cèl·lules es posen a l'úter d'una dona, tenen la capacitat de convertir-se en un fetus.

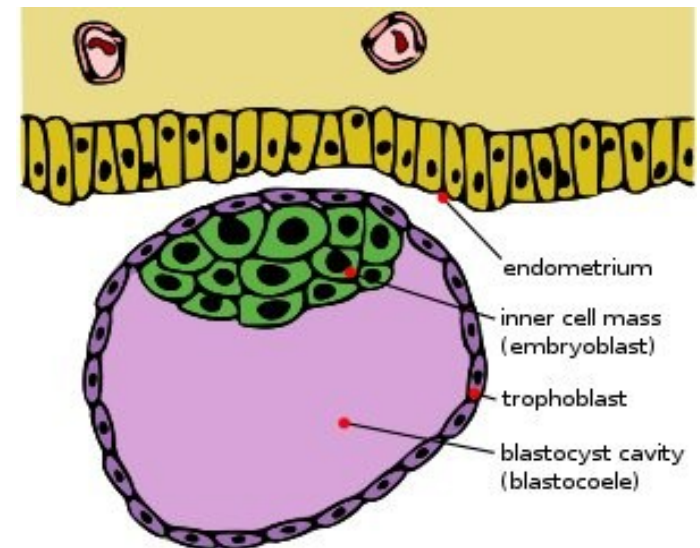
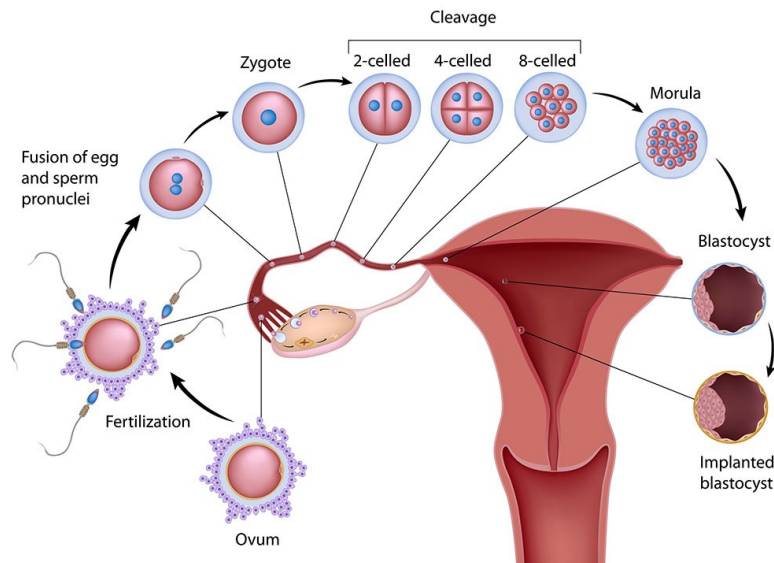


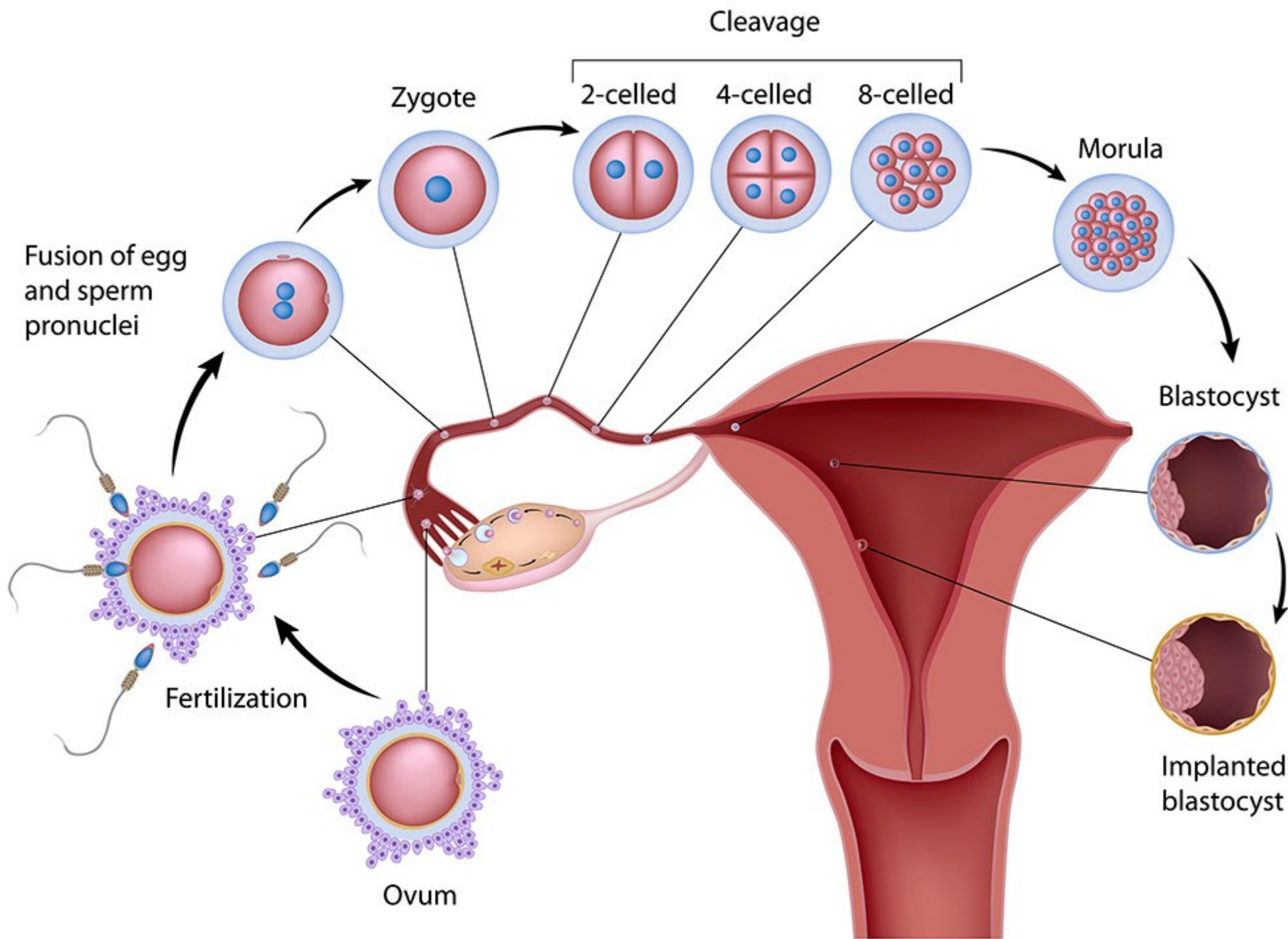
Els bessons idèntics es desenvolupen quan cèl·lules totipotents es separen i es converteixen en dos individus, éssers humans genèticament iguals.

A mesura que avança el desenvolupament embrionari i fetal, les cèl·lules mare van perdent potencialitat, es van especialitzant.

S'anomenen **cèl·lules mare pluripotents** aquelles que poden donar lloc a tots els tipus de cèl·lules d'un organisme però no a un nou individu.

Exemple: cèl·lules de la massa interna del blastocist . Tot i que poden transformar-se en cadascuna de les cèl·lules del cos humà, no poden formar un organisme per elles mateixes. Si una d'aquestes cèl·lules fou implantada en l'úter d'una dona no es convertiria en un fetus.



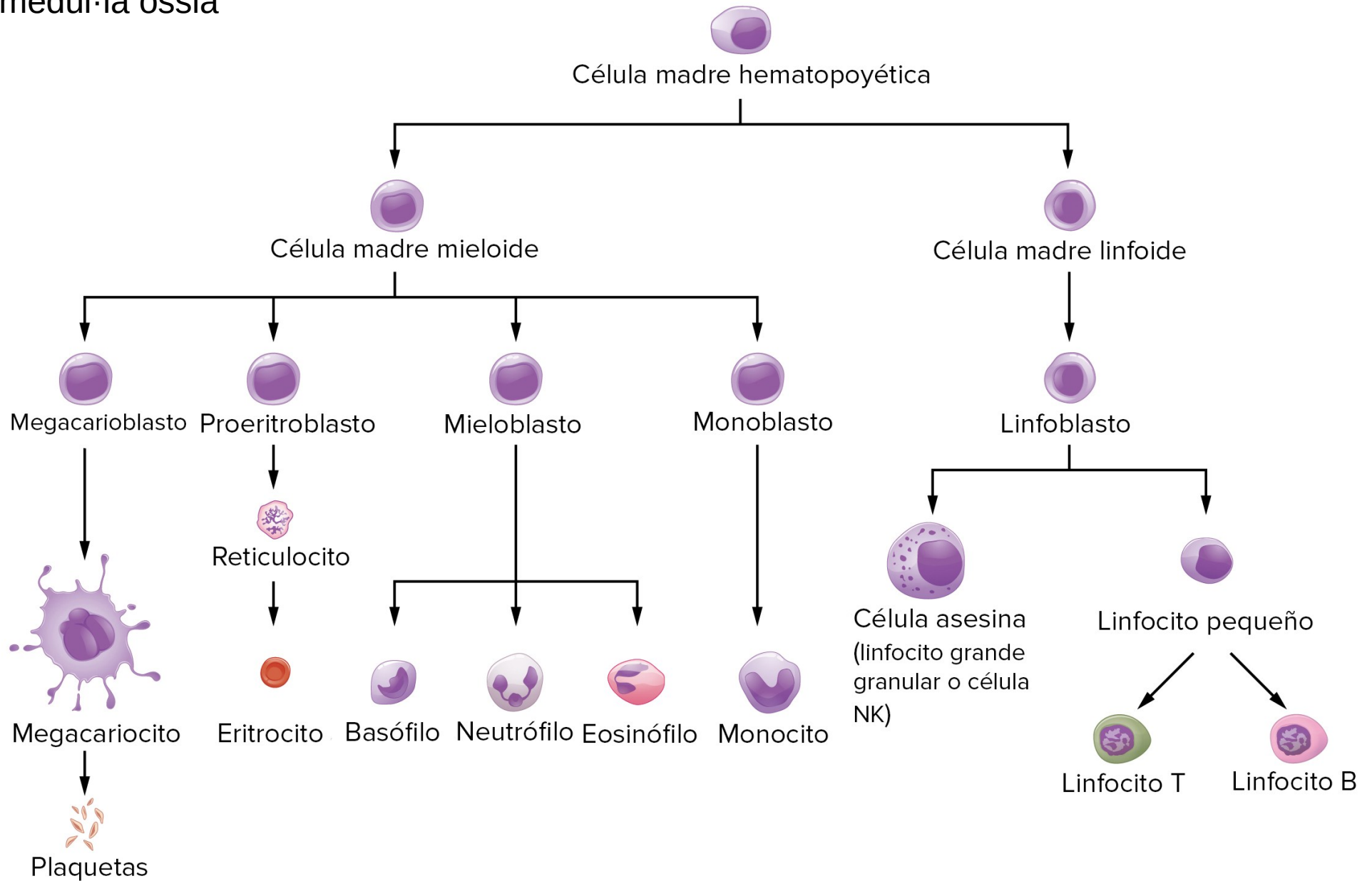


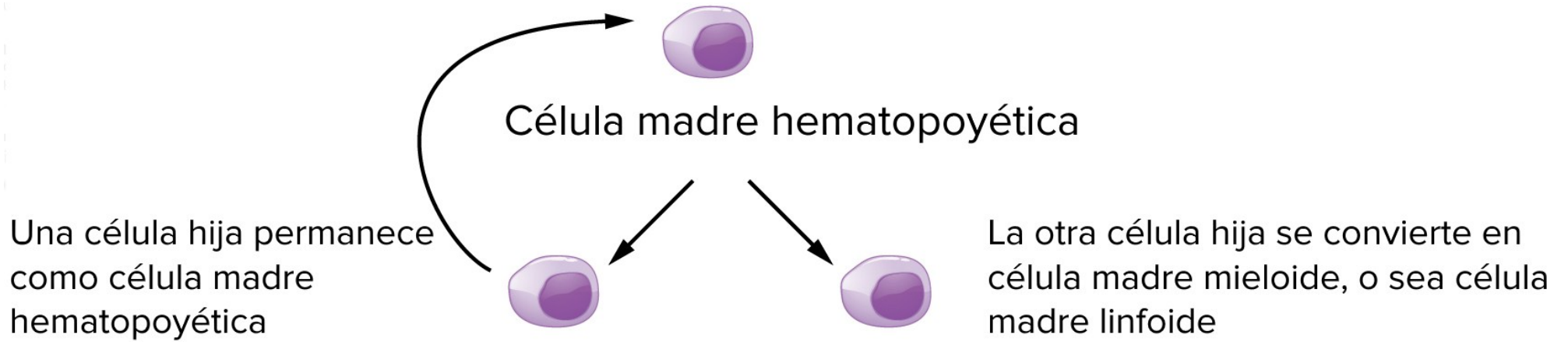
Les cèl·lules mare pluripotents experimenten una especialització addicional en les cèl·lules mare que donaran lloc a uns determinats tipus de cèl·lules. **Les cèl·lules mare especialitzades s'anomenen cèl·lules mare multipotents.**

Per exemple:

- *les cèl·lules mare hematopoètiques de la medul·la òssia* (cèl·lules mare dels glòbuls vermells, glòbuls blancs i de les plaquetes);
- *i les cèl·lules mare mesenquimàtiques* (que donaran lloc a miòcits, osteòcits, adipòcits...)

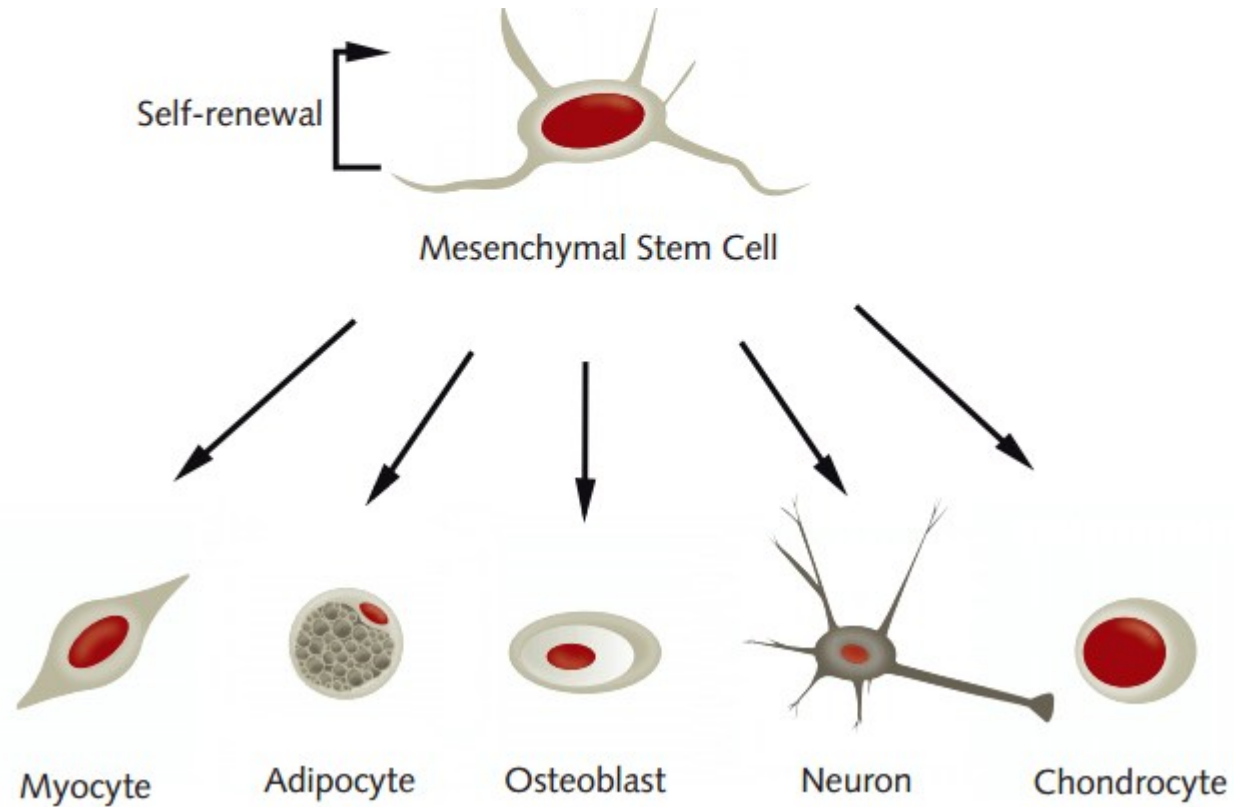
# Cèl·lules mare hematopoètiques de la medul·la òssia







Cèl·lules mare mesenquimals  
(es troben en la medul·la òssia, però també  
en altres zones del cos com el cordó  
umbilical, teixit adipós, teixit muscular...)



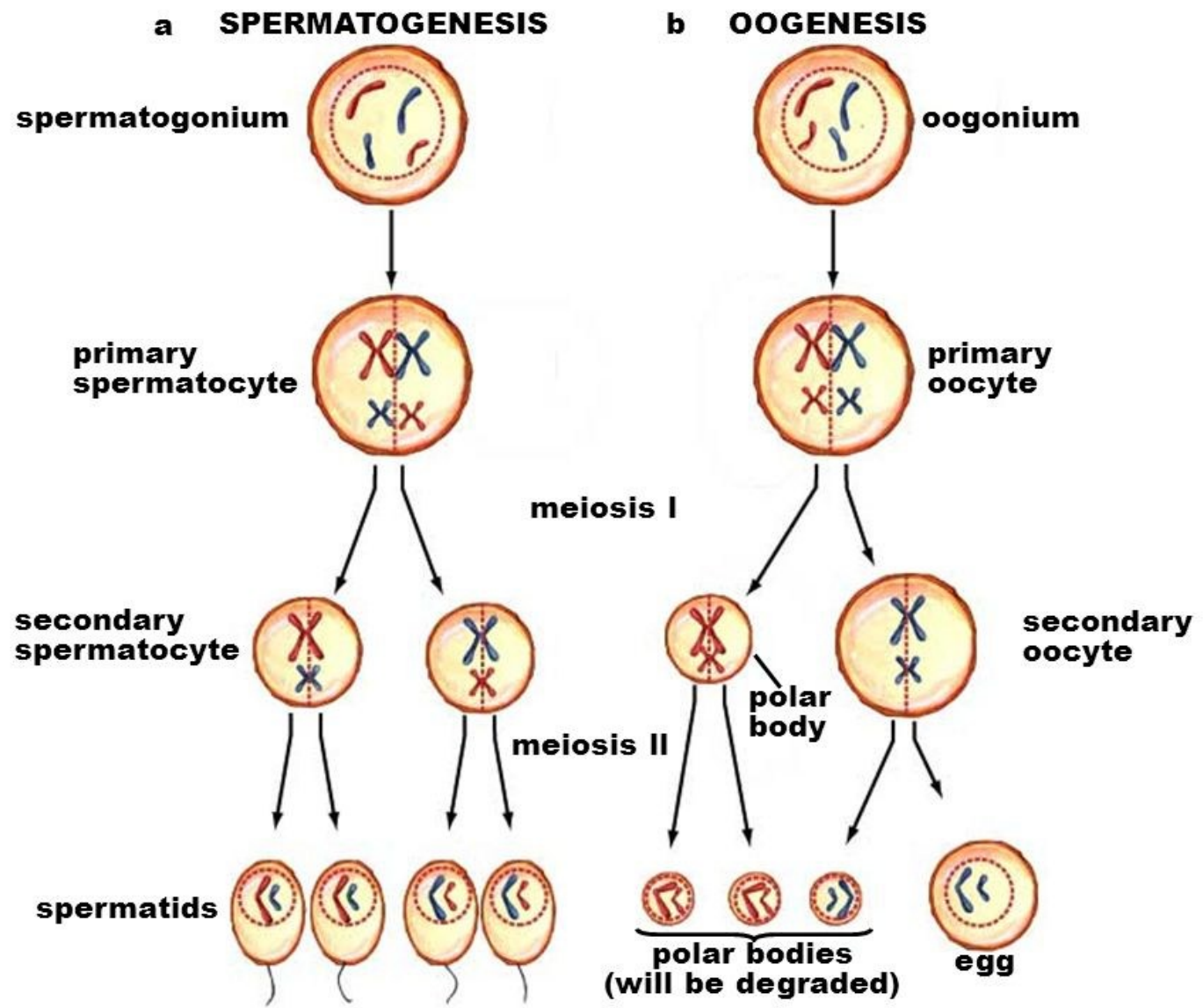
Les cèl·lules mare **unipotents** són les que tenen el potencial més baix de diferenciació.

Són cèl·lules mare que només tenen la capacitat de diferenciar-se en el tipus de cèl·lula del teixit en el que es troben.

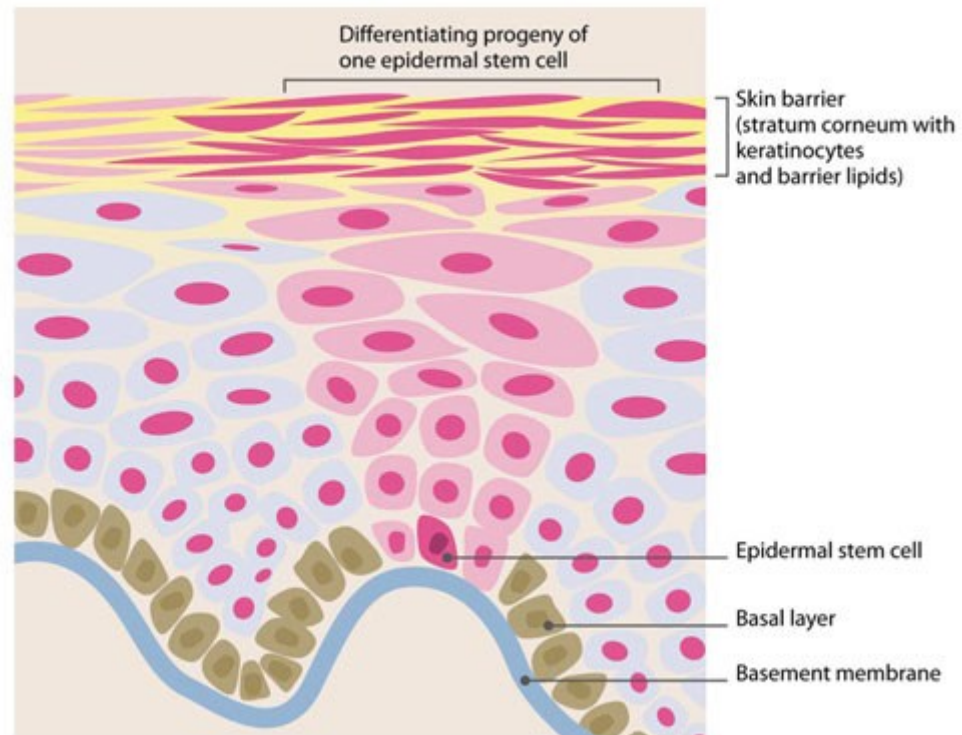
Per exemple..

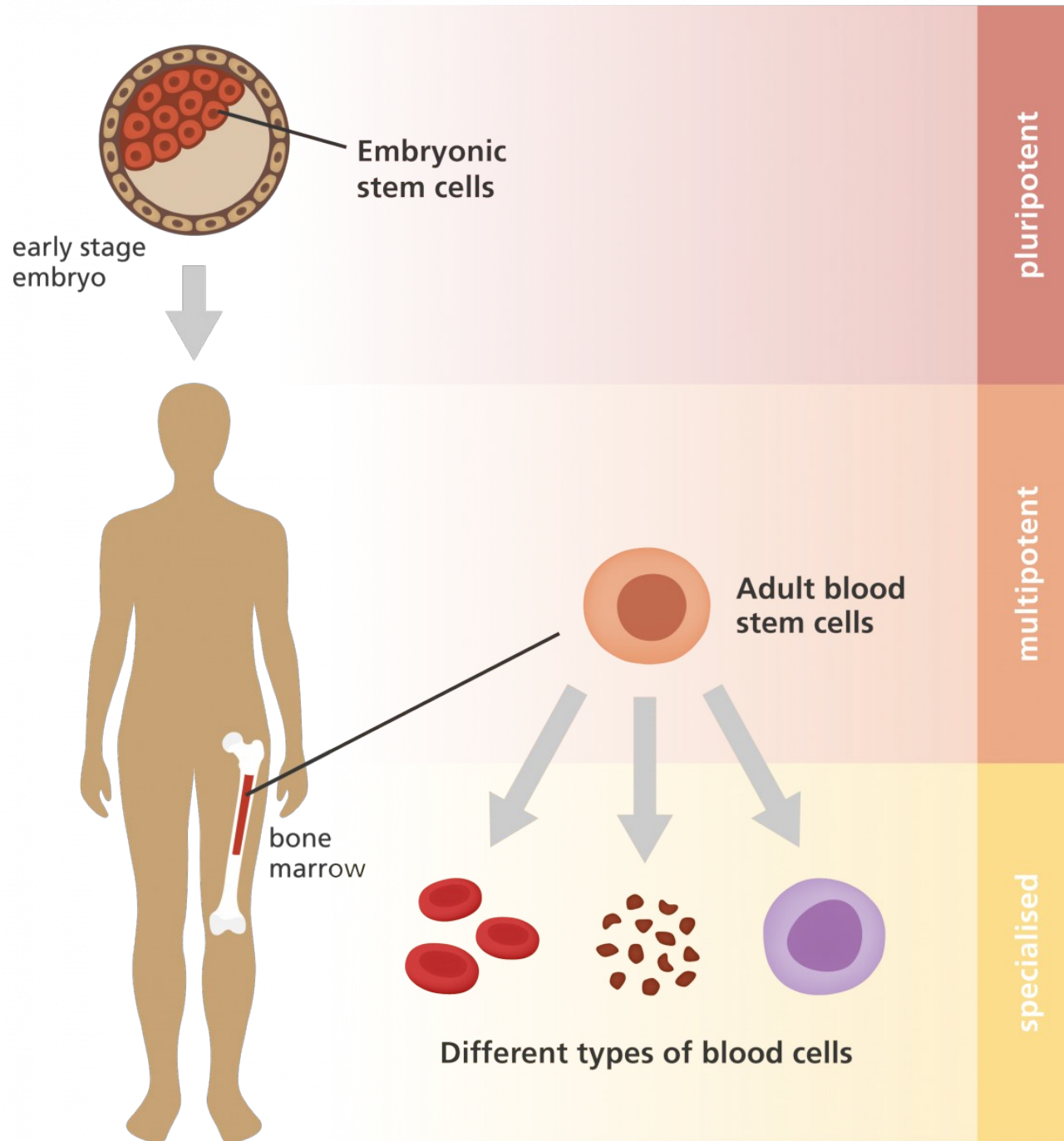
- les cèl·lules mare de l'epidermis de la pell.
- les cèl·lules mare dels gàmetes.

# Cèl·lules mare dels gàmetes



# Cèl·lules mare de l'epidermis de la pell

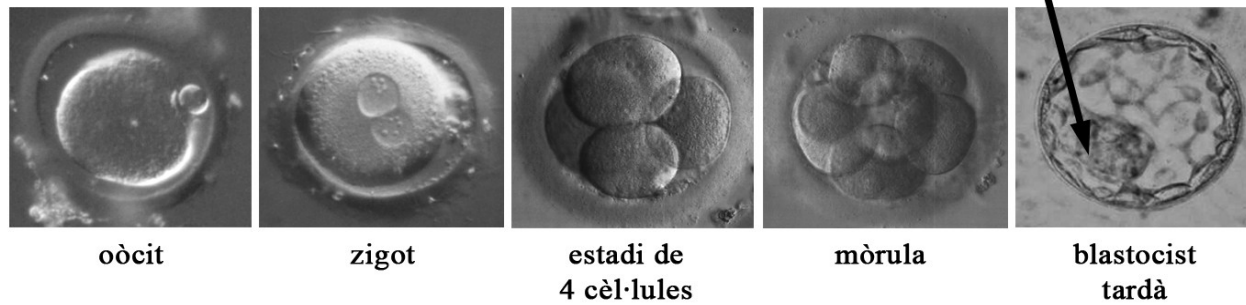
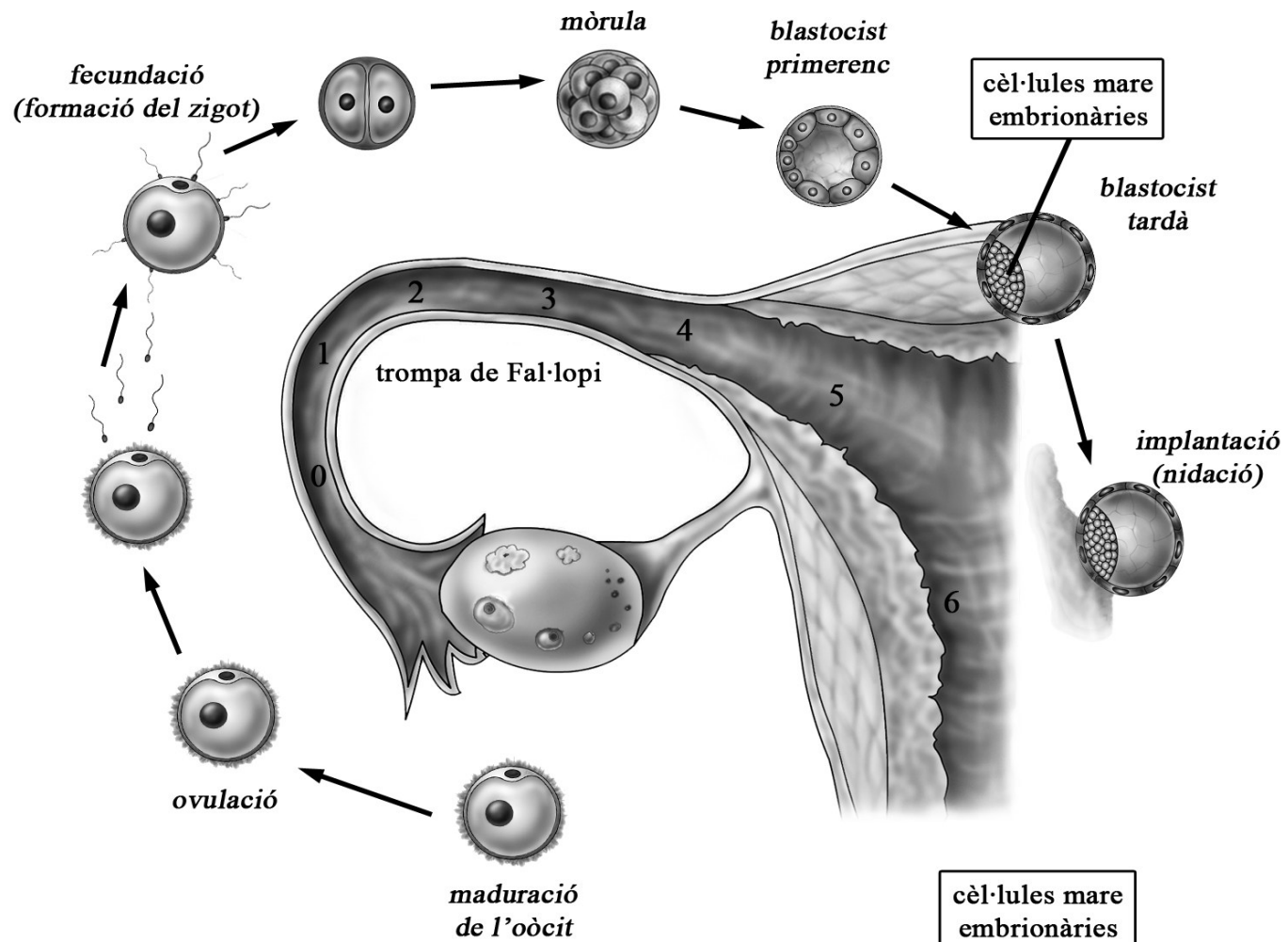




## Tipus de cèl·lules mare segons el seu origen

- **Cèl·lules mare adultes**: cèl·lules indiferenciades, que segons si s'activa l'expressió d'uns gens o d'uns altres, poden generar cèl·lules d'un teixit o d'un altre completament diferent (diferenciació cel·lular). **Es troben en teixits adipós, medul·la òssia vermella, cordó umbilical, placenta, cervell, ...**
- **Cèl·lules mare embrionàries**: es troben essencialment en els **embrions de cinc dies després de la fecundació (blastòcit)** i si s'activa l'expressió d'uns gens o d'uns altres podem generar cèl·lules de qualsevol teixit (diferenciació cel·lular)

# LES CÈL·LULES MARE EMBRIONÀRIES



# LES CÈL·LULES MARE EMBRIONÀRIES



oòcit

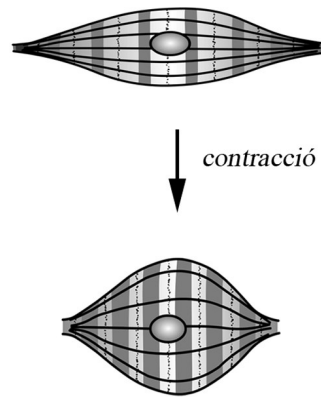
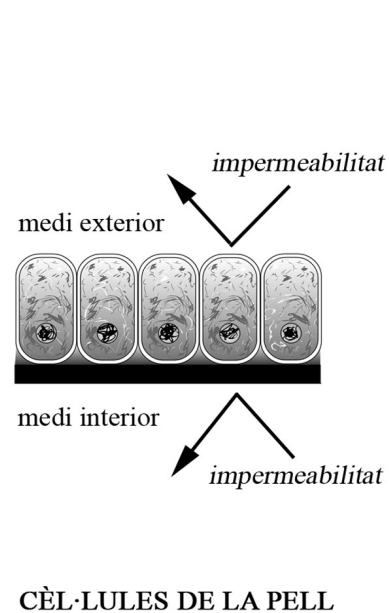
zigot

estadi de  
4 cèl·lules

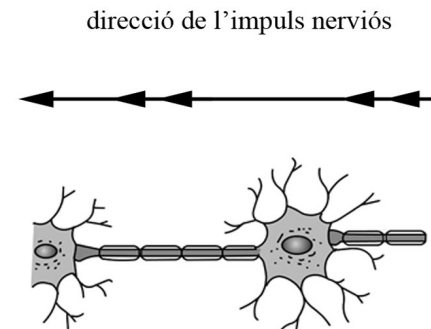
mòrula

blastocist  
tardà

# CÈL·LULES DIFERENCIADES



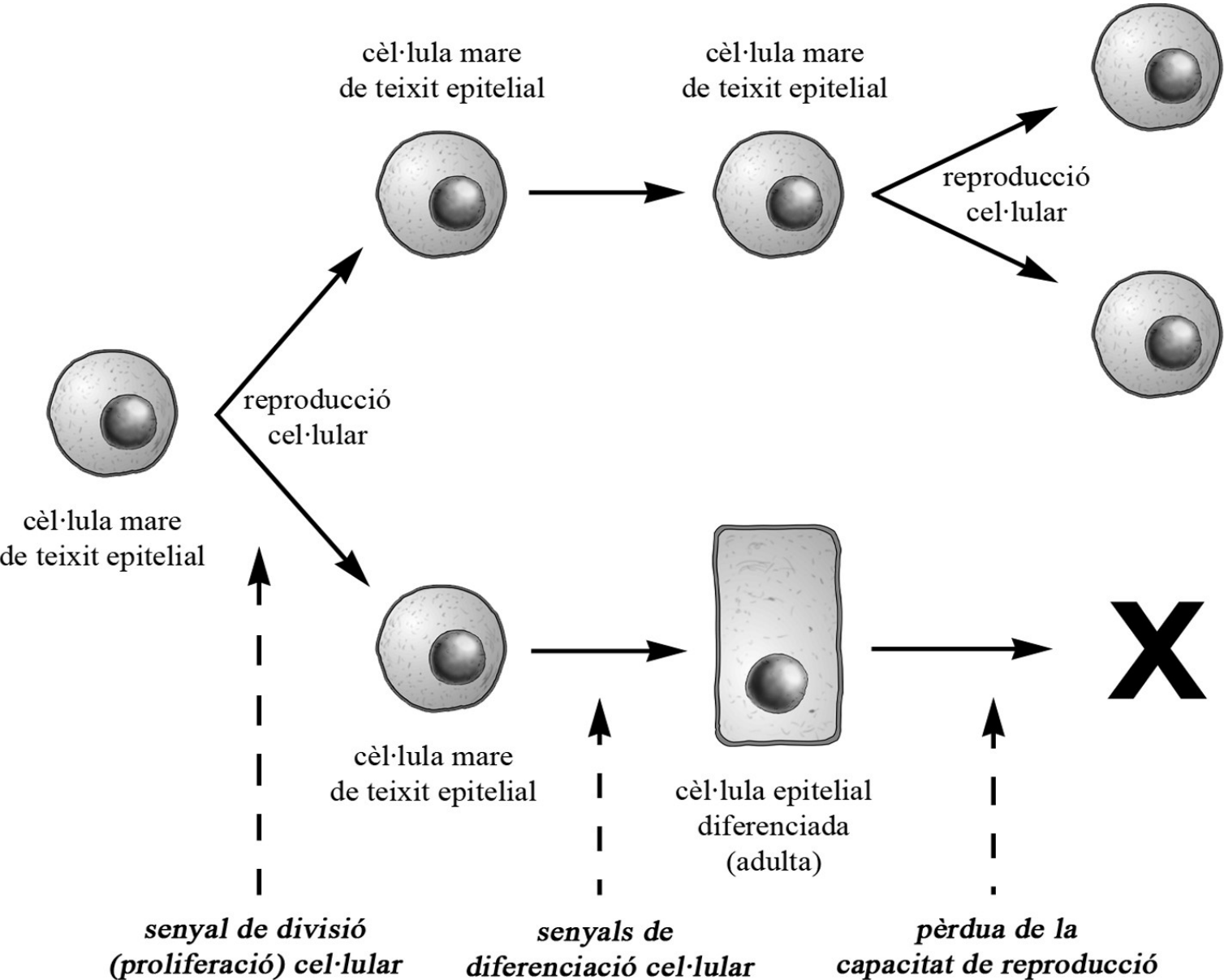
CÈL·LULA MUSCULAR  
RELAXADA (superior)  
I CONTRETA (inferior)



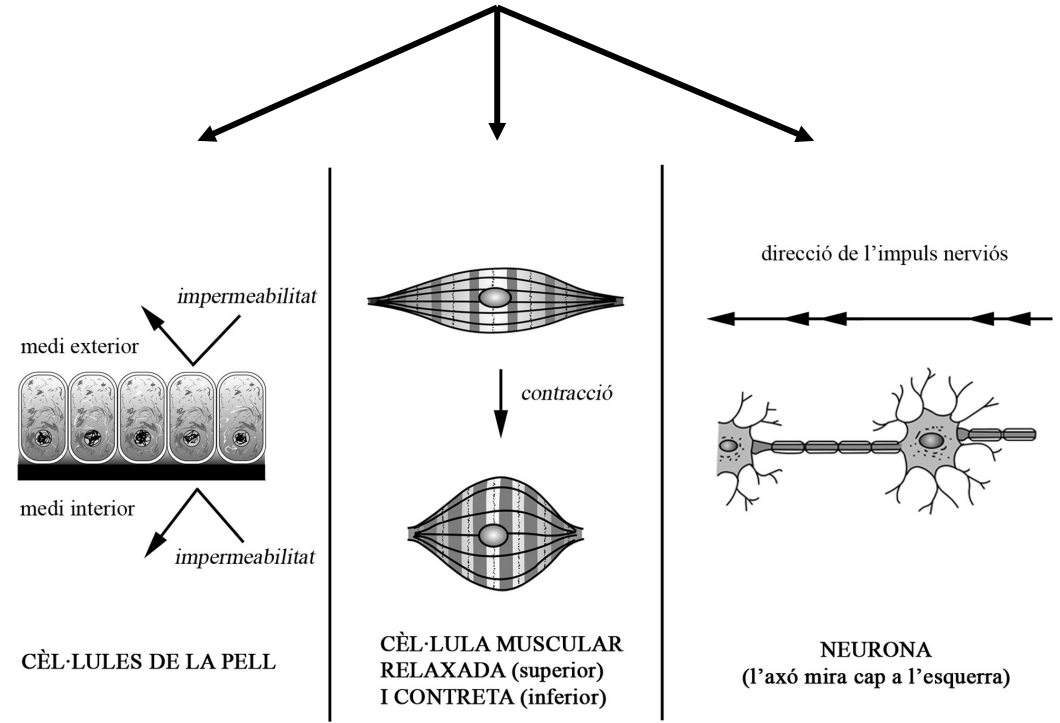
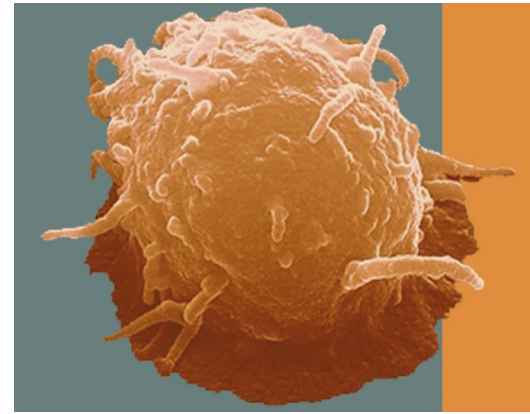
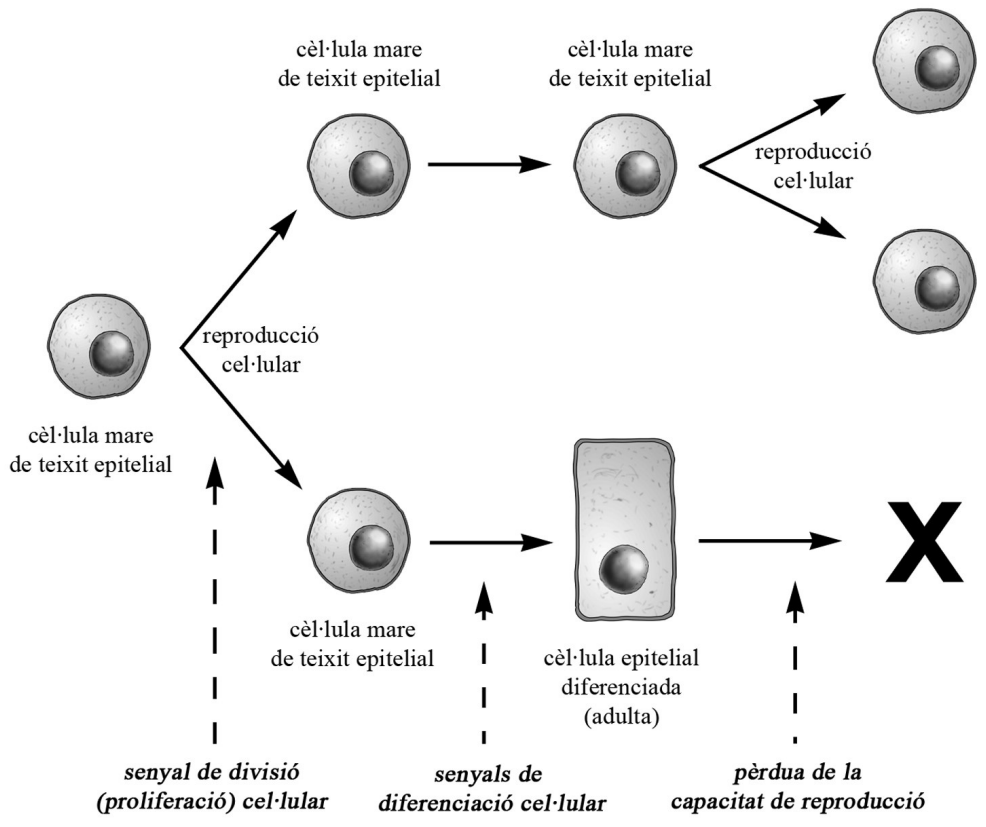
NEURONA  
(l'axó mira cap a l'esquerra)



# CÈL·LULES MARE ADULTES DE TEIXIT EPITELIAL



# CÈL·LULES MARE EMBRIONÀRIES VS CÈL·LULES MARE DE TEIXIT



# Teràpia cel·lular amb cèl·lules mare embrionàries.

Un dels usos de les cèl·lules mare embrionàries és la regeneració i la reparació de teixits danyats (**medicina regenerativa**).

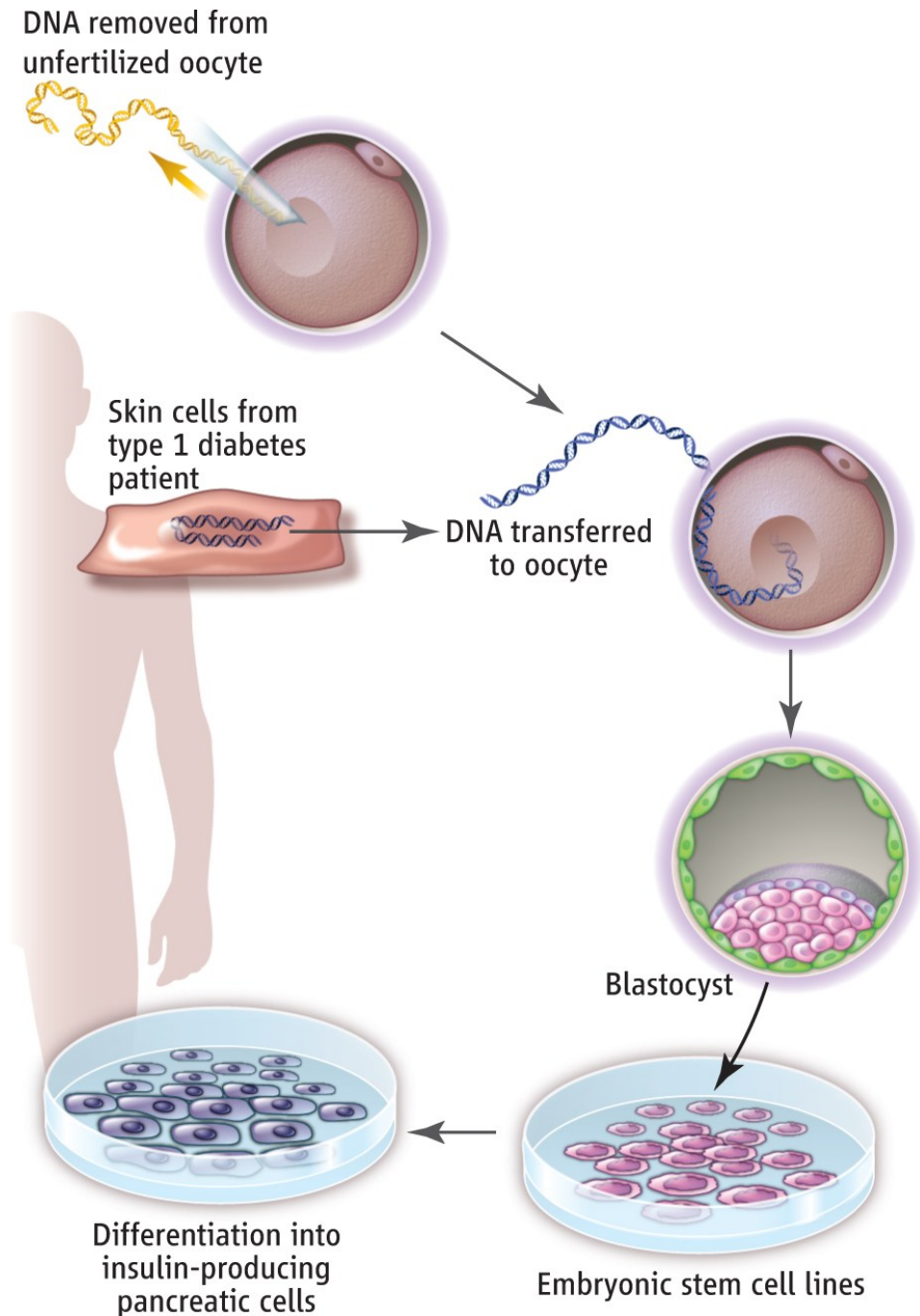
Ara bé, si agafem cèl·lules mare d'un embrió i les implantem a un individu tenim un problema d'histocompatibilitat (rebuig).

Com evitem el problema de la histocompatibilitat?

Amb la **clonació terapèutica**

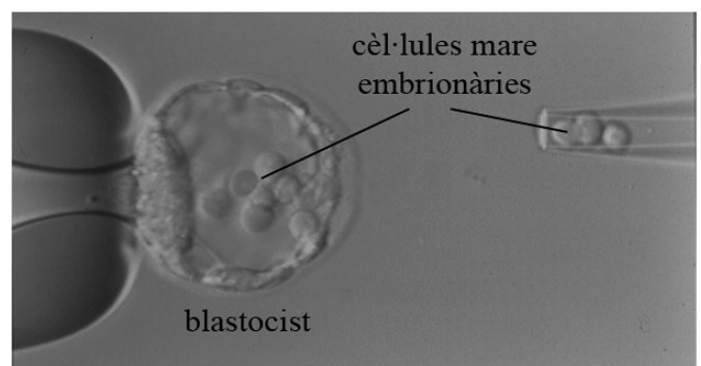
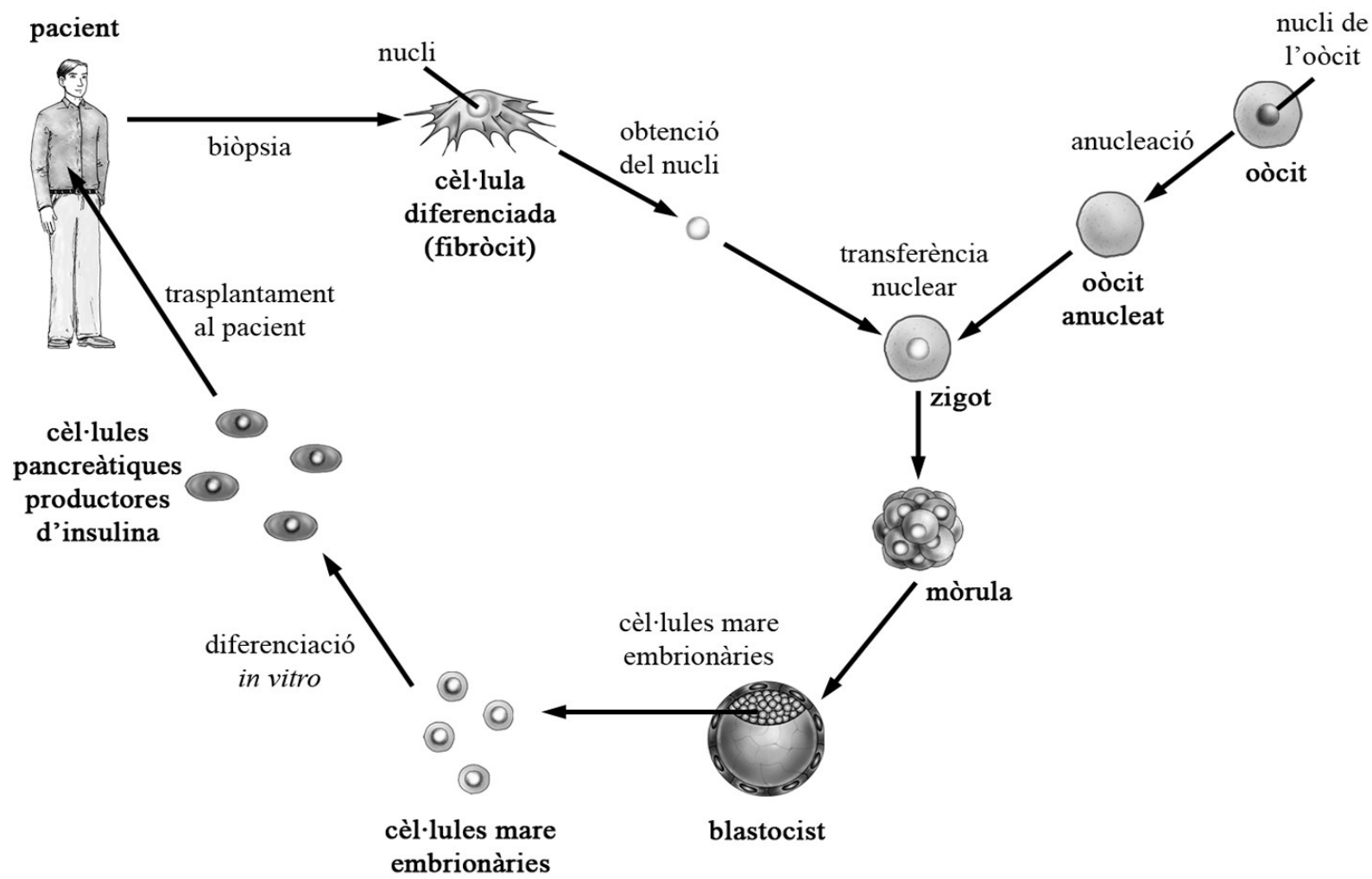
## Clonació terapèutica

- S'introdueix el nucli d'una cèl·lula somàtica en un òvul anucleat (transferència nuclear somàtica).
- L'embrió es desenvolupa fins el cinquè dia (estadi de blastòcit) i s'obtenen cèl·lules mare.
- S'activen els gens per generar el teixit d'interès (diferenciació cel·lular).
- No hi ha problema d'histocompatibilitat.

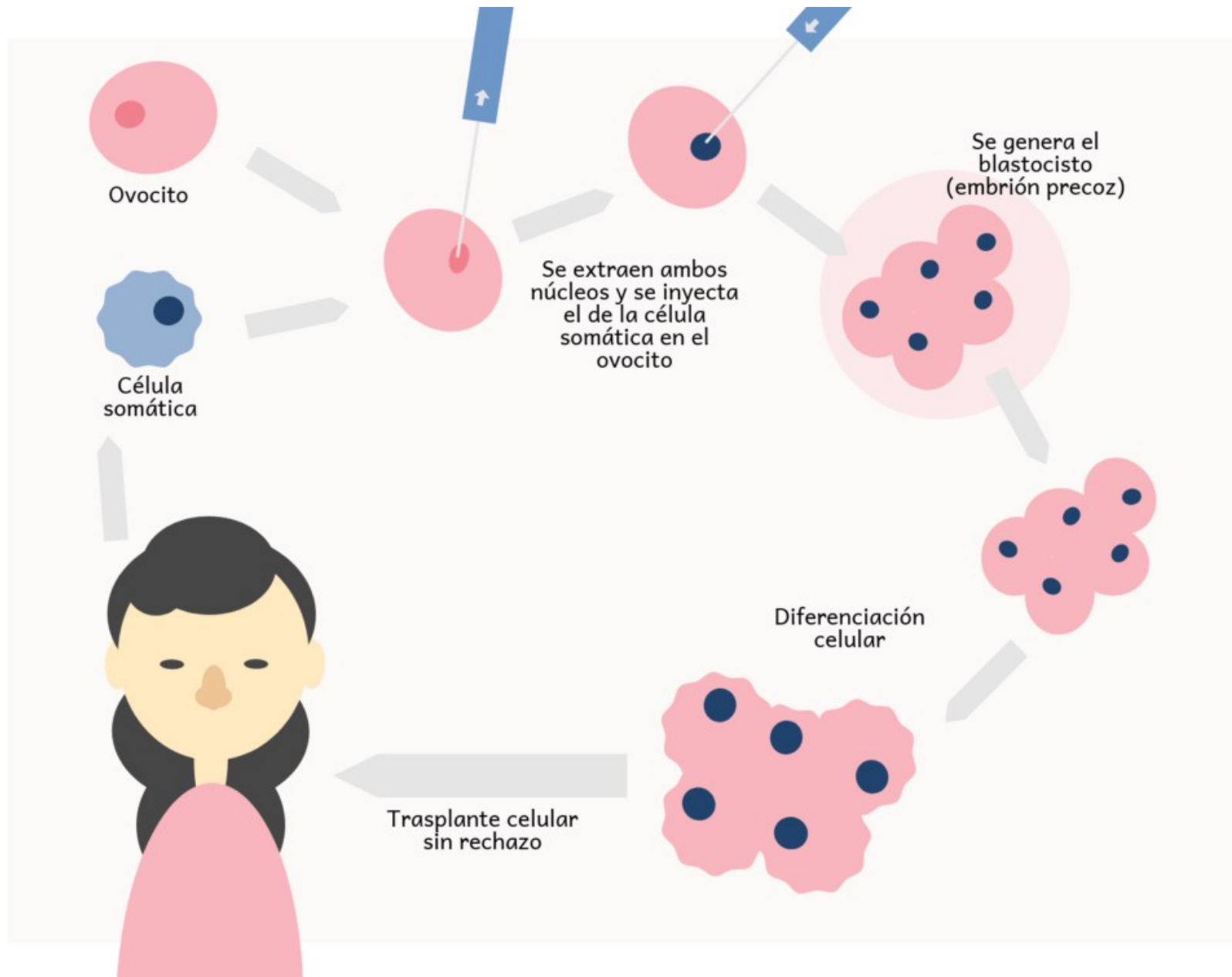


## Clonació terapèutica:

- S'introdueix el nucli d'una cèl·lula somàtica en un òvul anucleat (transferència nuclear somàtica).
- L'embrió es desenvolupa fins el cinquè dia (estadi de blastòcit) i s'obtenen cèl·lules mare.
- S'activen els gens per generar el teixit d'interès (diferenciació cel·lular).
- No hi ha problema d'histocompatibilitat.

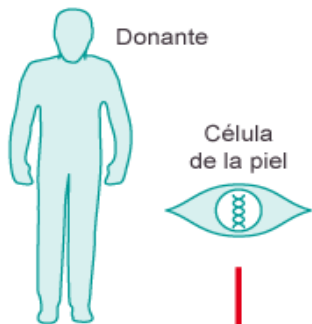


## Clonació terapèutica

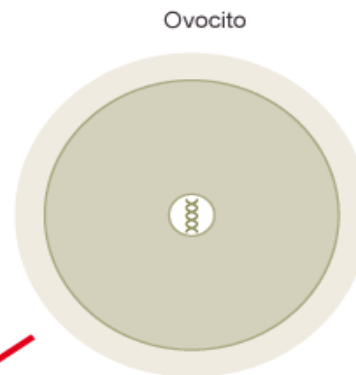


## Clonació terapèutica

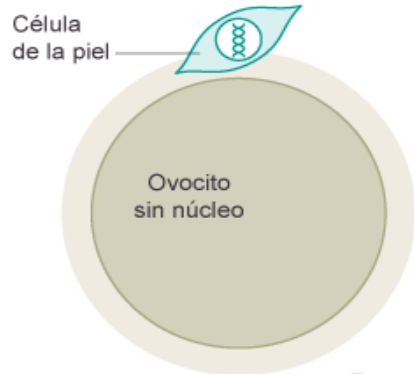
**1** Se obtuvo una célula de la piel de un donante



**2** Al óvulo de una donante se le extrajo el núcleo con el ADN

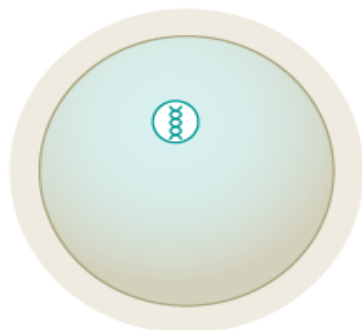


Donante



**3** La célula de la piel se insertó bajo la membrana del ovocito. Ambas células se fusionaron con la ayuda de los científicos

\*B



**4** Cuando el núcleo de la célula de la piel se fusionó con el óvulo, este comenzó a desarrollarse como si hubiese sido fecundado

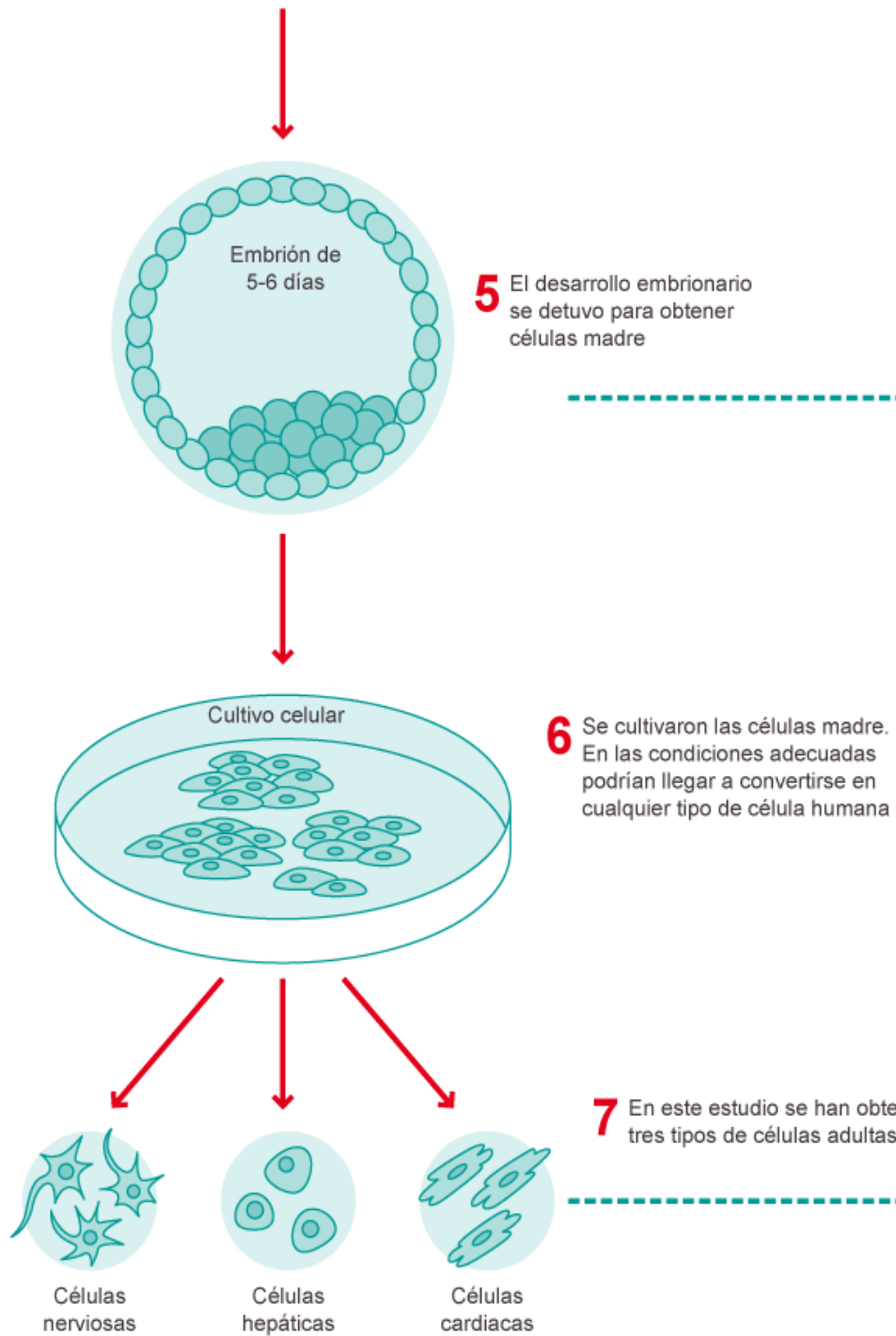
#### ■ DIFICULTADES TÉCNICAS

Hasta ahora no se había conseguido clonar células humanas porque los embriones son más delicados que los de otros animales.

Claves del éxito actual:

- \*A: El núcleo del óvulo se extrajo en metafase (un determinado punto de la división celular)
- \*B: Tras la fusión se estimuló al óvulo con descargas eléctricas y medicamentos

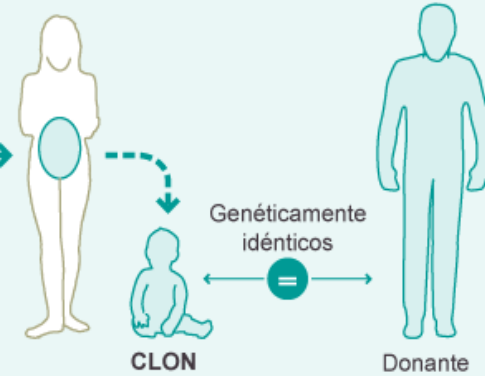




## ■ POSIBLES APLICACIONES

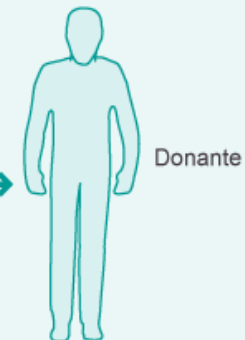
### Clonación de seres humanos

El embrión también podría implantarse en el útero de una mujer. Si todo fuera bien, nacería un clon, genéticamente igual al donante de la célula de piel.



### Tratamiento de enfermedades

Las células son genéticamente iguales a las del donante de la célula de piel, por lo que podrían usarse para tratarle enfermedades (no habría rechazo).



## Avantatges de la clonació terapèutica

La possibilitat de disposar de quantitats il·limitades de cèl·lules mare embrionàries, expandides en cultiu, i de diferenciar-les mitjançant factors de creixement en hepatòcits, neurones, cardiomiòcits, cèl·lules beta productores d'insulina, ... a més de resoldre d'un tret l'escassetat de donants, podria convertir-se en una eina per tractar dolències tan importants com la insuficiència hepàtica, la malaltia de Parkinson, l'Alzheimer, la insuficiència cardíaca, la diabetis mellitus...

## Inconvenients de la clonació terapèutica

Cèl·lules mare embrionàries: poc utilitzades.

Problemes ètics: producció i posterior destrucció d'embrions.

Proliferen molt la qual cosa pot propiciar l'aparició de tumors en els receptors.

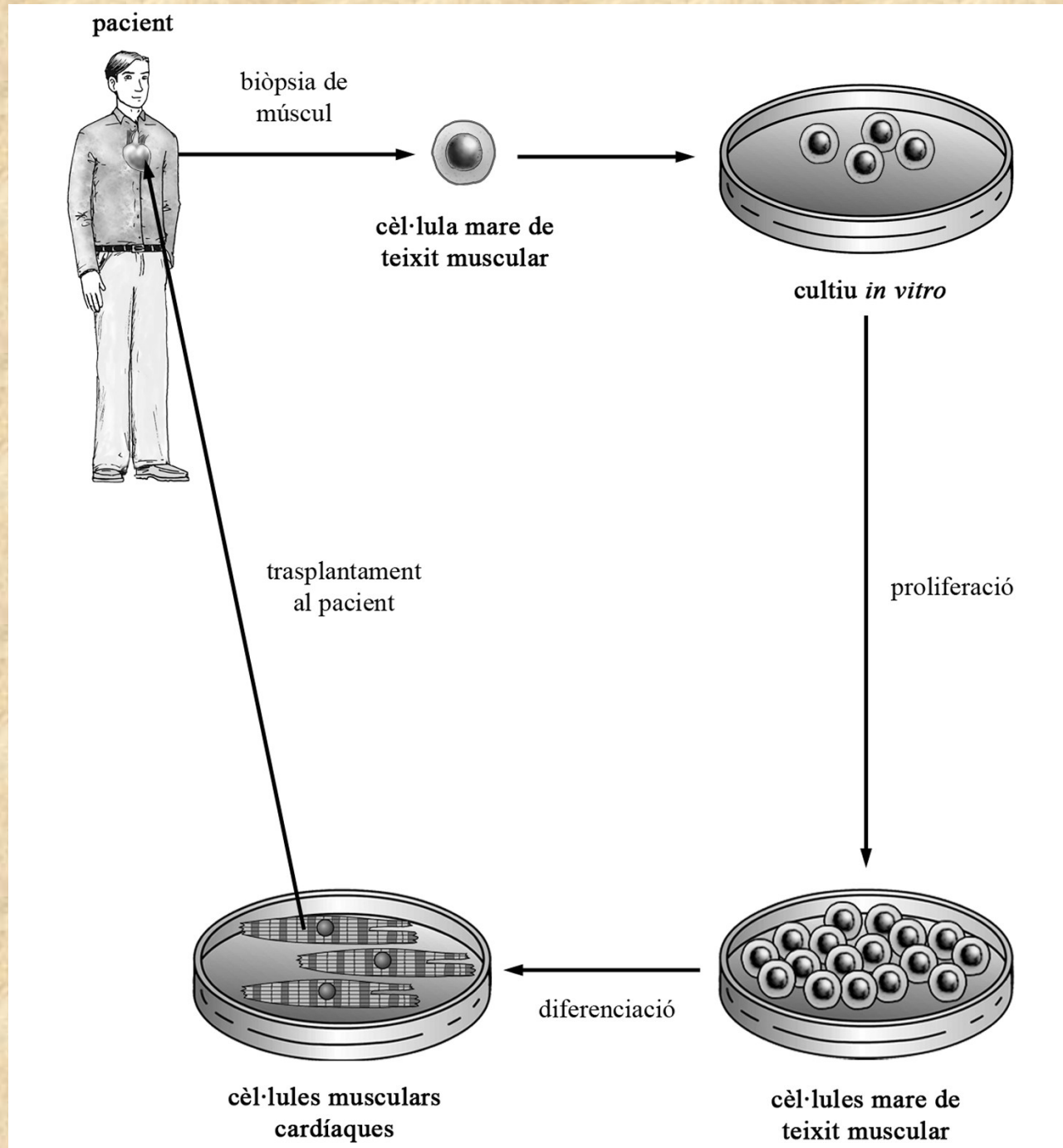
**Els embrions primerencs i les cèl·lules que contenen**  
no han de ser considerats només com a part inicial d'un cicle de vida,  
sinó també com a  
**font de vida per als organismes ja nascuts.**

## Teràpia cel·lular amb Cèl·lules mare adultes

- Són fàcils d'aconseguir d'un gran nombre de teixits adults a partir d'una simple punció per extreure-les (biòpsia).
- No presenten problemes d'histoincompatibilitat si s'utilitzen per guarir malalties del propi individu.
- Sense problemes ètics (són cèl·lules somàtiques)
- Taxa proliferació baixa: no produeixen tumors.
- Presenten l'inconvenient que són multipotents, només donen lloc a uns determinats teixits i que el seu cultiu in vitro és més lent que el de les cèl·lules embrionàries.

# ALTERNATIVES AL TRANSPLANTAMENT NUCLEAR A OÒCITS

## CÈL·LULES MARE DE TEIXITS

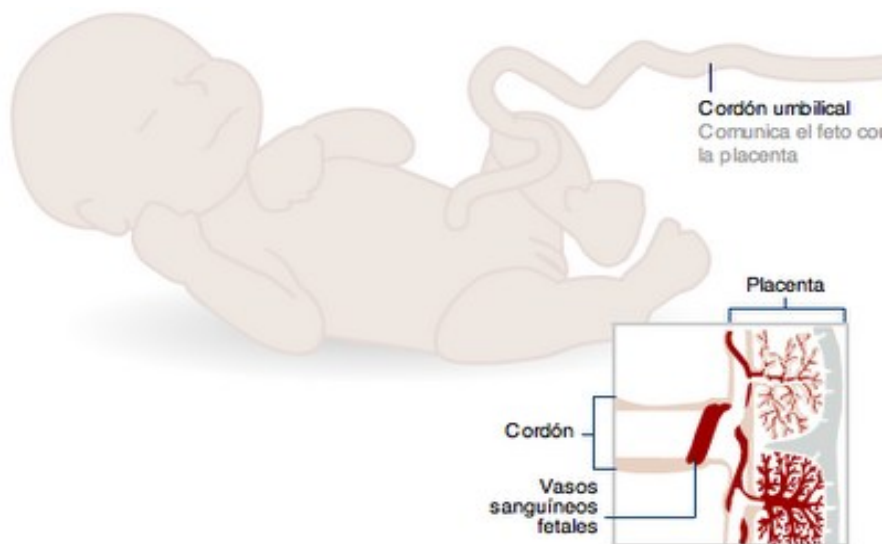


# Cel·lules mare adultes del cordó umbilical

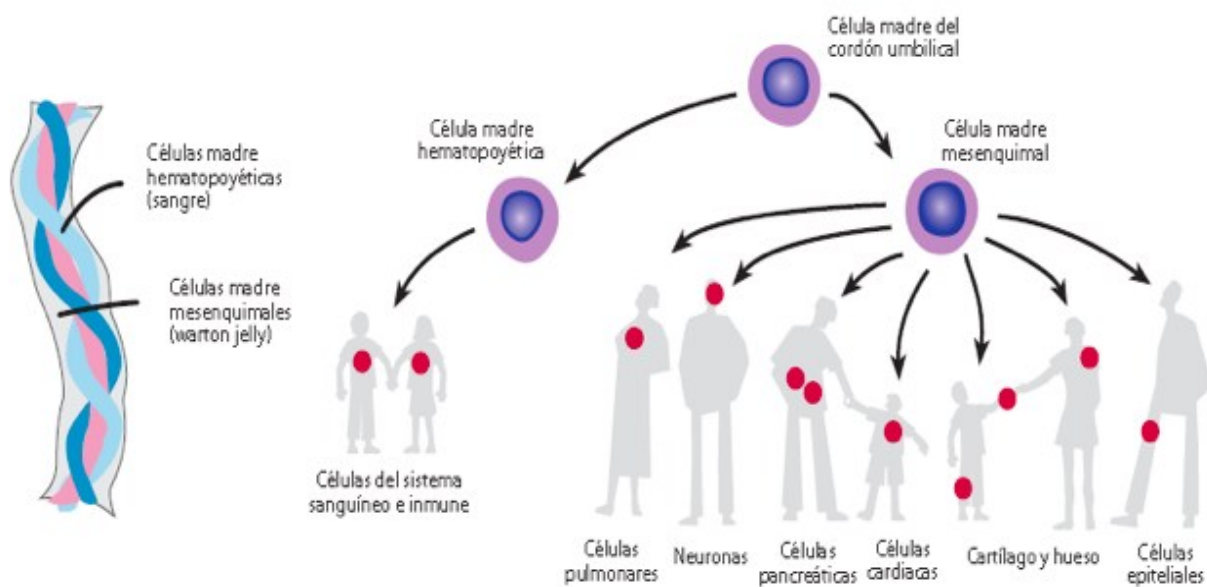
- Són cèl·lules mare hematopoètiques i mesenquimàtiques.
- Multipotents: només donen lloc a uns determinats teixits.
- Bancs públics: tothom pot utilitzar el cordó umbilical de la resta.
- Bancs privats: ús privat (prohibit a Espanya)

Per saber-ne més...

<https://www.bancsang.net/donants/banc-cordo/index/>



El trasplament de sang de cordó umbilical, com el de medul·la òssia, pot contribuir a la curació de nens, i també d'adults, que pateixen greus malalties de la sang que comprometen la seva vida.

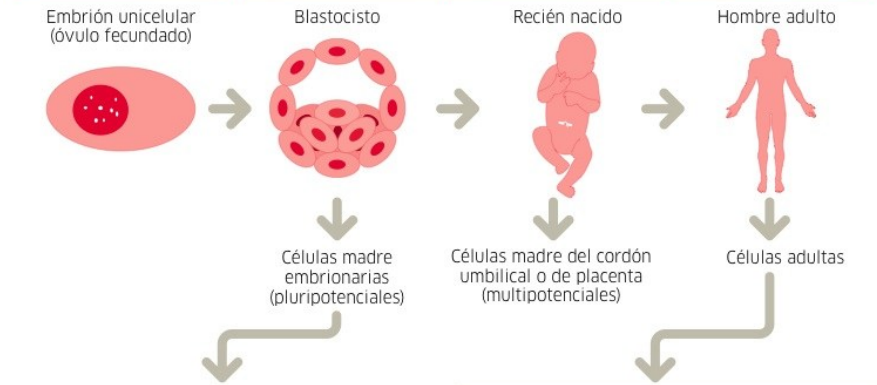




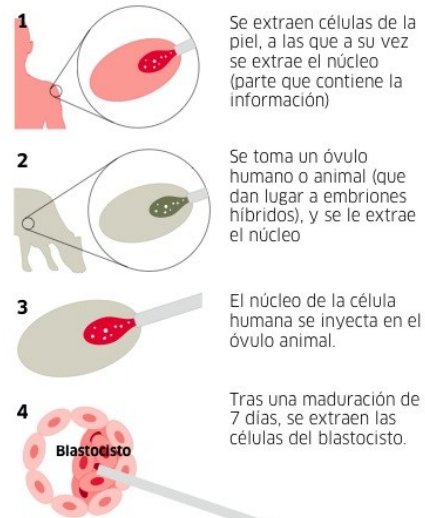
# Obtención de células madre

MENOS DIFERENCIADAS

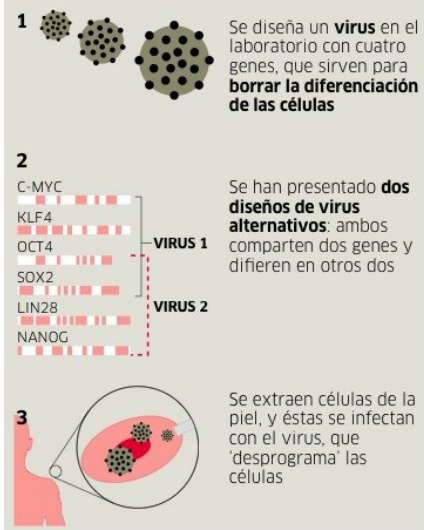
MÁS DIFERENCIADAS



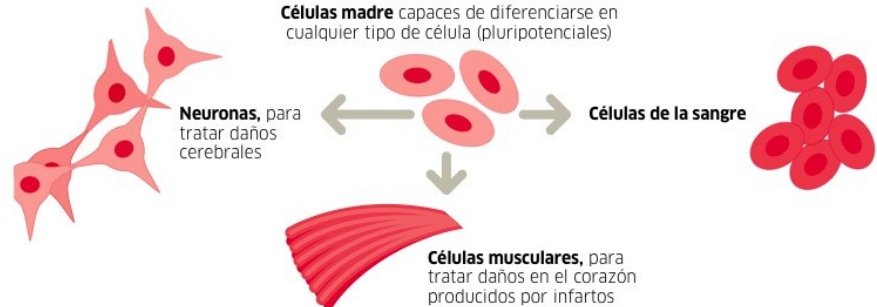
## Obtención de células madre embrionarias



## Obtención de células madre adultas



**Células madre** capaces de diferenciarse en cualquier tipo de célula (pluripotenciales)



# La reprogramació cel·lular cèl·lules mare pluripotents induïdes (iPS)

Són cèl·lules mare pluripotents que han estat generades a partir de cèl·lules adultes diferenciades que s'han reprogramat (desdiferenciat) a l'obligar-les a expressar els gens i els factors necessaris per al manteniment de les propietats que caracteritzen una cèl·lula mare embrionària.

(S'utilitzen retrovirus per introduir els gens que eliminen la diferenciació cel·lular.)

