

Cuadernos CDTI

Centro para el Desarrollo  
Tecnológico Industrial.  
Ministerio  
de Industria y Energía.

**La ingeniería genética  
en la biotecnología**



Cuadernos CDTI

Octubre, 1982

Centro para el Desarrollo  
Tecnológico Industrial.  
Ministerio  
de Industria y Energía.

La ingeniería genética  
en la biotecnología

**2.ª EDICION**

Depósito legal: M. 34.217-1982  
ISBN: 84-500-9021-5  
Diseño Gráfico: TRAMA 3  
Fotomecánica y Fotocomposición:  
CASTELLANA, S. A.  
Solana de Luche, 11  
MADRID-11  
Imprime: PRAL, S. A.  
Belmonte de Tajo, 12  
MADRID-19

**CDTI Octubre 1982**

## PRESENTACION

### BIOTECNOLOGIA

La biotecnología, la utilización industrial de microorganismos y células animales y vegetales, no es "nueva". No lo es, como lo acreditan el propio pan y, desde luego, el vino. Lo es la "optimización", la modulación por la inteligencia humana de las características de los microorganismos, en lugar de esperar a que la propia naturaleza lo haga, o localizar (en una planta, en un bacilo, en un virus) lo que ya haya hecho... Es la injerencia —todo el proceso del descubrimiento consiste en una injerencia a niveles progresivamente "íntimos" de la realidad biológica— del hombre en los más intrincados planos de la urdimbre genética, para modificarla en favor de los propósitos que redunden en beneficio de la condición humana, lo que es "nuevo". Como ha sido nuevo —y arriesgado, por tanto— en su momento pasar de la descripción anatómica externa a la interior, y luego a la fisiología, a la citología y a la biología molecular a continuación. Es un nuevo paso, un paso especialmente delicado, sí, porque el grado de responsabilidad es lógicamente mayor a medida que los conocimientos que integran los niveles de "consciencia" son más vastos y profundos a la vez. Es un nuevo paso de especial transcendencia y significación, porque el hombre interviene decididamente en un equilibrio dinámico que, hasta ahora, había sido mantenido únicamente por los factores naturales en presencia en cada instante, sin intervención del ser inteligente.

La característica de la condición humana es, precisamente, la "desmesura", es decir, el actuar según su propia capacidad creadora, y no someterse a la reacción, condicionada químicamente, que rige en el resto de los seres vivos.

En consecuencia, no se contempla la *variabilidad* natural, ni se *induce* con agentes que la aceleran. La ingeniería rompe "el curso natural de la evolución biológica, conduciendo

a la *creación de nuevos sistemas biológicos*, diseñados genéticamente y que tienen una gran potencialidad en procesos concretos de transformación" (página 11).

Las células transformadas (¡desde bacterias a células de mamíferos en pocos años!), con material genético "modulado" por el hombre, constituyen hoy una importante llave del futuro, un arma decisiva para hacer frente al desafío que representa el incremento de población, la calidad de vida, la producción de energía, el reciclaje de los materiales de desecho.

Este documento no es únicamente de interés para los genetistas, enzimólogos, bioquímicos... ni sólo para los industriales. Es también importante para los juristas, para los políticos, porque en la correcta y óptima utilización de este enorme caudal de conocimientos, de energía y de productos, concurren facetas que *a todos conciernen*. Es el ejemplo meridiano de transdisciplinariedad, con profundas implicaciones éticas, sociales y económicas.

### "INGENIERIA GENETICA"

"Ingeniería", "tecnología", "manipulaciones", "recombinaciones"... genéticas. Los autores prefieren hablar de "transferencia manipulada de genes". La confusión semántica es, como puede apreciarse, considerable. La biotecnología consiste, como acabamos de ver, en la utilización de seres vivos, normalmente microorgánicos, con fines productivos, analíticos, etc. Cuando se aplican a escala industrial resulta la *bioindustria* que, en pocos años, se ha situado en un lugar de especial significación y, en breve plazo, ocupará —la previsión es fácil— un lugar de mayor relieve todavía. La ingeniería genética constituye, en consecuencia, un importante sector, que llegará pronto al ser el más importante, de la bioindustria.

Los científicos estamos muy reconocidos a la "ingeniería genética". Primero y principal, por los enormes beneficios que ha representado ya para el mejor conocimiento de procesos fundamentales de la vida en general y de la humana en particular, y por las aplicaciones, actuales y previsibles, que la beneficiarán en una amplísima gama, inimaginable hasta hace bien poco, de aspectos. Segundo, porque ha asociado la "ingeniería", expresión que reúne connotaciones de prestigio y de aplicación práctica fácilmente comprensibles, con la "genética", que permanecía, hasta su maridaje con la ingeniería, en un limbo de símbolos y conceptos reservado a los especialistas.

Cada palabra por separado tiene, desde luego, pleno sentido. Pero juntas constituyen una "expresión clave". Y son estas expresiones las que nos hacen falta a los científicos para abrir los oídos de los decisores, en primer término, y los fondos de ayuda a la investigación y a su aplicación en favor de la condición humana, a continuación. No es fácil —es casi un arte— hacer asequibles y atractivos los términos de los grandes temas científicos a quienes pueden, porque ostentan el poder, adoptarlos y favorecer su desarrollo.

Dicho esto, quiero puntualizar, por lógico prurito de precisión científica, que la ingeniería genética tiene en realidad poco de "ingeniería", si atendemos a la definición convencional de la palabra "ingeniería". Se trata, en realidad, de una modalidad técnica que consiste, como los autores describen con claridad y lucidez, en reordenar a voluntad la dotación genética de un organismo determinado, de transferirlo a otro que puede "expresarla profusamente con fines de producción..."

Buena parte del éxito de la ingeniería genética se debe a los beneficios que puede producir "por su incidencia en el desarrollo socioeconómico (página 11). Prefiero referirme sólo al "social" porque debe-

mos empezar a no requerir la compañía omnipresente de lo "económico". El "económico" es un elemento importante del desarrollo, pero lo único importante es el desarrollo social. Es el bienestar y no la riqueza lo que importa: es el beneficio de todo hombre y todo el hombre lo único que interesa.

### LA BIOLOGIA EN EL UMBRAL DEL AÑO 2000

La Biología es la ciencia que, a fines del siglo XIX, se presenta como la más poderosa palanca para transformar el mundo: el incremento de la producción de alimentos, la prevención y tratamiento de las enfermedades... dependen, en buena medida, del progreso que se realice en este terreno científico. La Física y la Química, ciencias exactas y pioneras del desarrollo científico y técnico actual, han cedido la primera plaza, el protagonismo, a la ciencia que estudia lo inexacto, lo cambiante, lo fugaz... pero lo más complejo, grandioso e inverosímil de la creación. La vida es un momento en la larga marcha hacia el frío, pero este destello es, por su dinámica y fluir constante, el más complicado y trascendente instante de todos los tiempos y de todos los fenómenos.

La ingeniería genética puede significar con respecto a la biología lo que el microtransistor ha significado para la electrónica y las comunicaciones. La ingeniería genética influirá prácticamente en todos los procesos biotecnológicos. Los sectores donde tendrá más influencia son el *sanitario*, con la producción de vacunas, hormonas, anticuerpos específicos...; el *agropecuario*, con la producción de alimentos, proteínas y plantas adaptables a nuevos ambientes ecológicos, de alta resistencia a la infección o a las cuales se les haya incorporado el sistema genético de fijación de nitrógeno...; y en el *energético* con la produc-

ción de hidrógeno, metanol y alcoholes, y en la producción de intermediarios para la gran industria química...

Es evidente que la ingeniería genética facilita determinados sistemas de producción al transformar procesos químicos, lentos y de alto coste energético, en procesos biológicos, más rápidos y de bajo coste energético, y que, además, utilizan materias primas en su mayoría renovables, contrariamente a lo que sucede con las más normalmente empleadas, derivadas del petróleo. El empleo de recursos renovables es una de las grandes soluciones para un planeta que deberá mantener hasta 6.500 millones de personas en un futuro excesivamente inmediato, dadas las disparidades actuales, para encararlo con los sistemas actuales de producción de alimentos, eliminación de residuos, obtención de energía, etcétera.

Recientemente se ha anunciado la obtención, mediante transferencia de genes, de la vacuna contra la glosopeda. Se utiliza un segmento del virus causante de la fiebre aftosa, que posee notables cualidades inmunizantes. Es un reciente y significativo ejemplo de las extraordinarias posibilidades de la ingeniería genética.

No son los países más avanzados los que deben acaparar esta nueva página de la ciencia aplicada sino, precisamente, los menos desarrollados, para incorporarse desde el principio a las nuevas posibilidades, sin pasar por la fase, insolidaria y colonialista, de las instalaciones industriales de "segunda mano". De no existir un esfuerzo serio de cooperación internacional, la línea divisoria entre países pobres y ricos ya existente, se convertirá en muralla infranqueable en el tomar del siglo XX al XXI, con unas consecuencias prácticamente inevitables de desestabilización política.

Sólo los países que dispongan de científicos contarán en el concierto internacional. En caso contrario, su-

frirán, por falta de diligencia y de imaginación la nueva dependencia, el nuevo colonialismo, más inconcebible que el anterior y más fácilmente evitable.

Por ello, las propuestas, inspiradas y prácticas de los autores, son muy atinadas. No podemos sino felicitarnos por ello y esperar que tengan el eco y la puesta en práctica que merece su trabajo. Nuestro país lo requiere así con mucha urgencia. El hecho de que sea el CDTI quien publica esta monografía constituye un excelente augurio.

## TRANSDISCIPLINARIEDAD

La Bioquímica y la Informática han contribuido fundamentalmente a que las experiencias de tecnología genética que se desarrollan a niveles de laboratorio puedan ser trasladadas a escala industrial.

Entre los principales factores que han contribuido al nacimiento de la nueva biotecnología podemos citar, asimismo, los avances de la Citología y de la Genética y en particular, la Biología Molecular, que constituye la base fundamental de la ingeniería genética; la presión política en relación a las reservas mundiales energéticas y alimenticias, y el interés creciente por la conservación del medio ambiente, que ha impulsado a la búsqueda de agentes menos contaminantes y que controlen el deterioro del nicho ecológico en el que vivimos.

Puesto que la biotecnología fundada en la ingeniería genética es una ciencia tecnológica multidisciplinar, se ha de hacer un gran esfuerzo para impulsar el conocimiento científico en una gran variedad de campos y fomentar la interacción y transferencia de datos. A estos efectos, una estrecha colaboración entre la Universidad y los sectores sanitarios e industriales es imprescindible. La industria no debe vivir aislada de la ciencia. Bien al contra-

rio debe fomentarla tanto en su propio seno como en relación con centros de investigación públicos o privados.

## ¿RIESGOS?

Es cierto que debemos proceder con gran cautela en esta nueva e importante parcela del conocimiento científico, poniendo en marcha eficaces sistemas de alarma y regulación. Pero sin aspavientos, porque resulta paradójico que una humanidad que está consintiendo la deforestación, la desertización, la erosión de la biosfera, el incremento del anhídrido carbónico en la atmósfera... se oponga, con criterios más emocionales que científicos, al desarrollo de la genética.

Para centrar esta cuestión, como tantas otras, es preciso disponer, de una parte, de una información clara y precisa a nivel científico, pero, muy especialmente, procurar, de otra facilitar a los medios de comunicación, para su difusión al gran público, los datos necesarios para que en todo momento puede comprenderse, sin ambigüedades, la naturaleza y alcance real de la ingeniería genética, de sus riesgos y posibilidades.

## UNO DE LOS AUTORES...

Carlos Alonso Bedate es un investigador que, con tanta imaginación como tenacidad, ha alcanzado un lugar relevante entre los científicos de esta especialidad. A su capacidad investigadora une la docente, y tiene el sentido de la "orientación social" en su quehacer científico. Trabaja desde hace ya varios años en el Departamento de Bioquímica que dirijo y he podido apreciar no sólo la calidad de su labor en el laboratorio sino su preocupación por la utilidad de los conocimientos adquiridos. No me extenderé en la

descripción de las cualidades del doctor Alonso Bedate que, por otra parte, puede verlas el lector reflejadas en las páginas que siguen.

## ...Y LOS PRINCIPALES CAPITULOS

La relación entre genes y enzimas se pone de manifiesto con especial énfasis y acierto en el capítulo I del "documento base". Los ejemplos y aplicaciones de la transferencia de DNA a bacterias, a células de organismos superiores así como la transferencia por fusión celular (hibridomas) que se describen en el capítulo II, constituyen una prueba patente de la óptica —una invitación a la aplicación— que recorre todo el documento. Los autores han hecho abstracción, con gran finura, del espacio todavía inmenso para un debate conceptual, tan sugestivo como desprovisto de efectos prácticos, y nos ofrecen con sencillez y lenguaje asequible, los aspectos más sobresalientes del gran "iceberg" que constituye la biotecnología basada en la recombinación genética.

Desde la producción de insulina (página 34) o interferón (página 33), el diagnóstico de diversas enfermedades o el incremento del valor nutritivo de la soja (página 38) nos damos cuenta del enorme panorama que se abre ante nosotros. Más adelante, nos explican qué hacen otros países —los que se han dado cuenta hace años del valor inmenso del liderazgo científico— y terminan con un capítulo donde describen posibles aplicaciones en un plazo razonablemente próximo (metano, enzimas, compuestos nitrogenados, etc.).

Ojalá este documento llegue a manos de los políticos, de los hombres de empresa, y decidan poner en práctica alguna de sus recomendaciones. Por parte de la Administración, como los autores señalan con nitidez, ¡son tantas las reformas re-

queridas (página 13) para mejorar la investigación universitaria y reforzar su vinculación con la industria! (página 15) Es necesario establecer una estrategia, unos planes que conduzcan a una acción coordinada (página 15). De otro modo, España no ocupará el lugar que le corresponde en el escenario mundial de la biotecnología. La primera fase, fundamento y presupuesto de toda estrategia, es la formación de personal cualificado (página 16) y el desarrollo del potencial existente en las ciencias básicas que convergen (Biología Molecular, Enzimología, Bioquímica, Microbiología, etc.).

No voy a seguir: quienes se hallen interesados en el tema, al llegar a este punto, deben leer el documento que tienen ante sus ojos. A ello les invito cordialmente.

FEDERICO MAYOR ZARAGOZA

Director del Departamento de  
Bioquímica y Biología Molecular  
(UAM)

Director del Instituto de Biología  
Molecular (UAM-CSIC)

Director General Adjunto de la  
UNESCO.



Objetivo de este Cuaderno . . . . .	11
Ingeniería Genética y Biotecnología . . . . .	12
Objetivos y acciones de carácter general . . . . .	13
Objetivos y acciones de carácter específico . . . . .	14
Consideraciones legales en torno a la Ingeniería Genética . . . . .	19
Consideraciones ético-sociales . . . . .	20

## DOCUMENTO BASE

### I. Precedentes de la Ingeniería Genética

Genética y Biología Molecular . . . . .	23
Relación entre genes y enzimas . . . . .	23
El ácido desoxirribonucleico es la molécula donde se guarda la herencia biológica . . . . .	23
Descubrimiento de la estructura del DNA . . . . .	24
Transferencia natural de genes . . . . .	26
Enzimas y DNA . . . . .	27
Transferencia manipulada de genes o ingeniería genética . . . . .	27

### II. Breve descripción de la técnica

Introducción . . . . .	28
Transferencia de DNA a bacterias	28
Técnicas	
Vectores . . . . .	28
Huéspedes (E. coli y B. subtilis)	30
Etapas . . . . .	30
Problemas técnicos . . . . .	32
Ejemplos prácticos de las técnicas empleadas	
Interferón humano . . . . .	33
Hormona del crecimiento humana . . . . .	34
Insulina humana . . . . .	34
Transferencia de DNA a células de organismos superiores . . . . .	36
Técnicas	
Vectores . . . . .	36

Huéspedes . . . . .	36
Etapas . . . . .	37
Ejemplos prácticos de las técnicas empleadas	
Tratamiento de enfermedades de las células de la sangre . . . . .	37
Tratamiento de la Talasemia . . . . .	37
Síndrome de Lesch-Nyhan . . . . .	38
Mejora del valor nutritivo de la soja . . . . .	38
Problemas técnicos . . . . .	38
Transferencia de DNA por fusión celular (hibridomas) . . . . .	39
Técnicas . . . . .	39
Ejemplos prácticos de las técnicas empleadas	
Diagnóstico de enfermedades . . . . .	41
Determinación de grupos sanguíneos . . . . .	41
Pruebas para trasplantes . . . . .	41
Tratamiento contra células tumorales . . . . .	41

### III. Seguridad biológica

Riesgos de la ingeniería genética . . . . .	42
Precauciones en la experimentación . . . . .	43

### IV. Posibles aplicaciones de la ingeniería genética

Producción de hidrógeno . . . . .	44
Producción de hidrocarburos . . . . .	44
Producción de alcoholes . . . . .	44
Obtención de productos químicos intermedios . . . . .	45
Obtención de productos de química fina . . . . .	45
Enzimas . . . . .	45
Hormonas peptídicas . . . . .	46
Antígenos virales . . . . .	46
Híbridos (anticuerpos monoclonales) . . . . .	46
Genes . . . . .	47
Fijación del nitrógeno . . . . .	47
Proteínas celulares (SCP) . . . . .	47
Desarrollo de insecticidas . . . . .	47
Extracción de metales . . . . .	48
Biodegradación . . . . .	48

Varietades nuevas de plantas y animales .....	48
Cuadro sinóptico de las aplicaciones de la ingeniería genética ...	50

#### V. Panorámica internacional y nacional

Introducción .....	52
Estados Unidos .....	52
Inglaterra .....	57
Suiza .....	57
Francia .....	58
Japón .....	59
OCDE .....	59
CEE .....	62
España .....	62

#### ANEXOS

Definiciones y términos utilizados en ingeniería genética .....	69
Resultados obtenidos de la aplicación del método Delphi al campo de la ingeniería genética .....	73
Ingeniería genética en principales industrias .....	76
Genes de posible interés comercial clonados en la actualidad .....	77
Programas Comunitarios en Biología Molecular e Ingeniería Genética .....	78
Programa Especial de I+D en Biotecnología e Ingeniería Genética (extracto) .....	80
Bibliografía .....	85

## OBJETIVO DE ESTE CUADERNO

El fin que persigue el C.D.T.I. con este cuaderno, es el de poner de manifiesto el surgir de una nueva tecnología, la ingeniería genética, al mismo tiempo que llamar la atención sobre la necesidad de su potenciación, a corto y largo plazo, por su incidencia en el desarrollo socioeconómico. Muchos ven la Biología como la fuente de la industria futura, característica del siglo XXI, lo mismo que las industrias basadas en la Física o en la Química fueron la característica del siglo XX.

Los avances realizados en Biología Molecular y Bioquímica en las dos últimas décadas ponen a la Humanidad ante el nacimiento de una nueva era industrial, cuyo objetivo será la optimización y explotación a escala industrial de las potencialidades de ciertos microorganismos y de células vegetales y animales. Tradicionalmente la Microbiología había utilizado organismos seleccionados entre otros preexistentes u originados mediante modificaciones por agentes mutagénicos, con nuevas capacidades, en sistemas de transformación biológica. La ingeniería genética, como una rama de la biotecnología que tiene sus orígenes en la genética bacteriana y enzimología, rompiendo el curso natural de la evolución biológica, hace posible la creación de nuevos sistemas biológicos inimaginables hace unos cinco años, diseñados genéticamente y que tienen una gran potencialidad en procesos concretos de transformación.

Sería ciertamente imposible y hasta ingenuo tratar de indicar con exactitud cuales serán los ejes sobre los que pivotarán las nuevas posibilidades industriales, puesto que de alguna manera se puede afirmar, aunque sea participando de un sueño un tanto utópico, que las aplicaciones comerciales de esta tecnología están únicamente limitadas por la imaginación.

Las aplicaciones comerciales irán, en principio, desde la producción masiva de agentes biológicos tales como hormonas, anticuerpos e in-

terferón, por citar algunos ejemplos, de gran incidencia en la medicina, hasta la puesta a punto de nuevos procedimientos que permitan a las plantas la fijación del nitrógeno atmosférico, la intensificación de la fotosíntesis y la resistencia a diversos factores ambientales. Igualmente, la ingeniería genética permitirá reemplazar ciertos procesos químicos de producción por procesos biológicos, lo mismo que acceder a fuentes de energía no contaminantes y reconvertir productos de degradación, limitando sus consecuencias negativas desde el punto de vista ecológico.

## VISION GENERAL DEL TEMA

La biotecnología se puede definir como una explotación de las potencialidades de los microorganismos, de células animales y vegetales y de fracciones celulares, para la biosíntesis, biotransformación, concentración y degradación y para el aislamiento y purificación de determinadas sustancias. El interés que ha suscitado la biotecnología ha surgido del desarrollo científico de los últimos años, que ha introducido nuevas posibilidades y procesos con aplicabilidad industrial. La biotecnología ha nacido como un esfuerzo común entre la ciencia y la industria, que tiene por objeto reducir la dependencia energética y desarrollar una industria competitiva. La biotecnología puede representar el más importante avance tecnológico desde el nacimiento de la electrónica.

En la base de la mayor parte de los desarrollos biotecnológicos está la ingeniería genética, que lleva consigo la posibilidad potencial de manipular el material genético de cualquier célula, de sintetizar genes artificialmente y de transplantarlos a organismos vivos, reprogramando y determinando de esta manera la información por la cual ese organismo desempeña unas funciones biológicas determinadas. En este trabajo el término ingeniería genética se entiende en sentido amplio por lo que se incluyen no solo las nuevas técnicas de recombinación manipulada del DNA sino también las técnicas convencionales-naturales de intercambio de información genética (conjugación, transducción, transformación, mutación y selección). Las nuevas técnicas permiten el intercambio de información genética, es decir, de DNA, bien entre organismos procariontes (virus, bacterias y algas cianofíceas) y eucariontes (protozoos, algas, hongos, levaduras y células animales o vegetales), en organismos procariontes entre sí o entre organismos eucariontes (híbridos).

Para la aplicación industrial de la ingeniería genética se requiere el conocimiento de un conjunto de técnicas que se pueden englobar bajo el epígrafe de ingeniería bioquímica. Dentro de la ingeniería bioquímica se incluyen procesos enzimáticos (utilizando enzimas inmovilizadas), fermentaciones (crecimiento masivo y controlado de bacterias, levaduras y hongos) y cultivos celulares (crecimiento controlado de células eucariontes: animales y vegetales). (Figura 1).

Probablemente en la transición del siglo XX al XXI el desarrollo socioeconómico mundial va a sufrir una modificación radical, debida fundamentalmente a la constante demanda y escalada de precios de la

energía y a las condiciones de acceso a materias primas y alimentos necesarios para una población creciente. Ante las incertidumbres creadas por estas modificaciones, es urgente la toma de decisiones sobre las posibilidades y problemas planteados por la ciencia y tecnología modernas. Las aplicaciones de la biología moderna, y en concreto de la ingeniería genética a procesos industriales, es ya una realidad en algunos campos. Habiendo previsto el impacto que la ingeniería genética tendrá en la biotecnología, y que puede ser similar a lo que el circuito integrado ha significado para la electrónica, se sugieren los objetivos y acciones que se incluyen en el apartado siguiente.

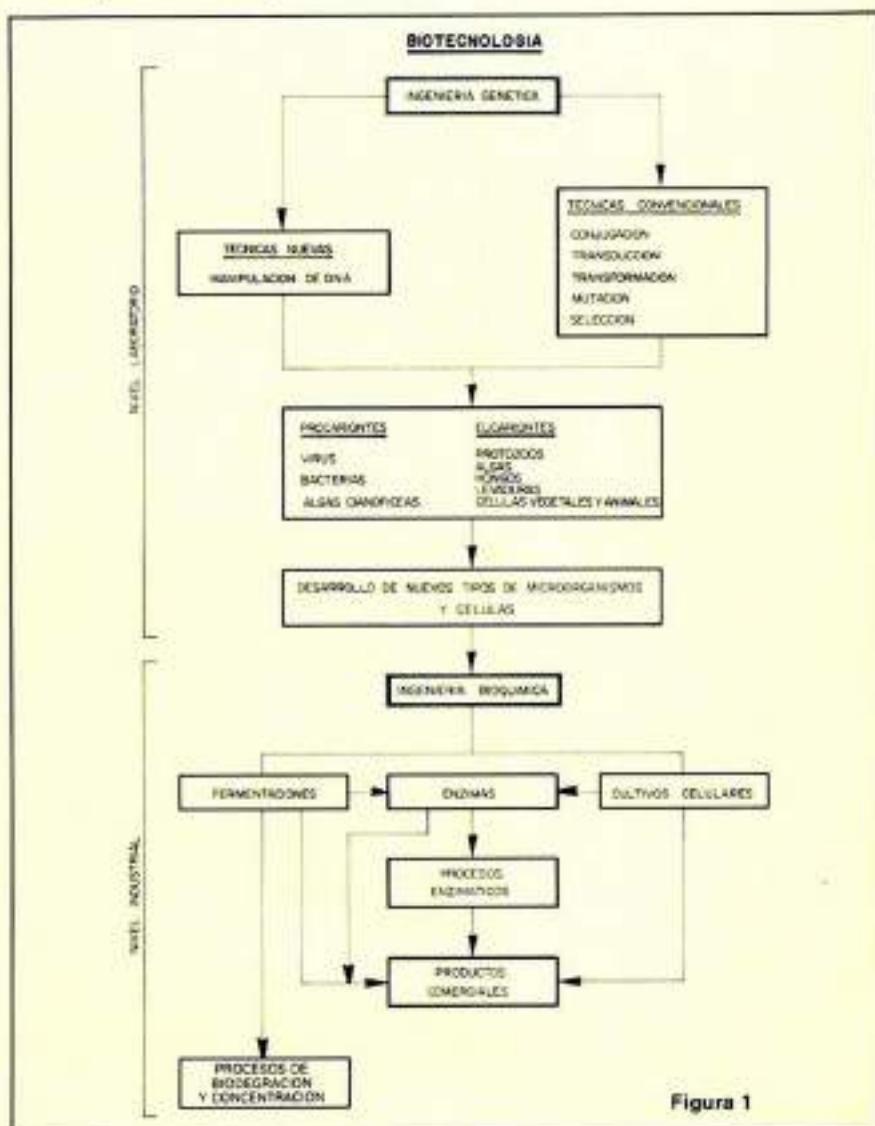


Figura 1

## OBJETIVOS Y ACCIONES DE CARACTER GENERAL

Dadas las especiales características de la Investigación en España así como de las relaciones existentes entre la Industria y la Universidad, se considera conveniente para el mejor desarrollo de tecnologías específicas, la resolución de los problemas generales existentes mediante la fijación de unos objetivos y acciones de carácter general. Una vez que los problemas de tipo general hayan sido atacados, se podrá pensar en el desarrollo de tecnologías específicas, mediante el establecimiento de programas u acciones concretas que desarrollen una determinada área.

La necesidad de una gran reforma universitaria en profundidad y de la potenciación de la función investigadora llevó al C.D.T.I. a hacer un estudio sobre el tema de "La Innovación Industrial y las Relaciones Industria-Universidad". En ese estudio vienen recogidos una serie de puntos y acciones orientativas para tratar de paliar los problemas de carácter general planteados. Como anteriormente se ha indicado, esas acciones son previas a cualquier intento de desarrollar un determinado campo. De todos los puntos reseñados en el estudio C.D.T.I., se enfatiza en especial la importancia de cuatro de ellos a la hora de desarrollar o promocionar una determinada tecnología:

- Modificación del actual Sistema de Administración de la Investigación en la Universidad.
- Creación y/o mejora de la infraestructura humana y material de Investigación en la Universidad.
- Intensificación de las relaciones Industria-Universidad.
- Establecimiento de una política Científica y Tecnología que tenga en cuenta:
  - a) Necesidades, capacidades y recursos futuros del país.
  - b) Definición de objetivos y establecimiento de prioridades tecnológicas sectoriales.

- c) Asignación de medios y financiación adecuada de las entidades que, como órganos financieros, ejecutivos o de gestión, han de desarrollar actividades de I + D (Universidad, CSIC, CAICYT, C.D.T.I., etc.).
- d) Coordinación de los programas científicos y tecnológicos desarrollados en las Universidades, la Industria y demás Centros oficiales y privados de Investigación.

## OBJETIVOS Y ACCIONES DE CARACTER ESPECIFICO

Debido a que la ingeniería genética presenta numerosas áreas de aplicación, se examinan en primer lugar cuáles son los posibles objetivos en cada una de ellas, y posteriormente se indican las acciones a tomar para el logro de los mismos.

### OBJETIVOS

#### Sector químico

La ingeniería genética puede jugar un importante papel dentro de este sector en el *desarrollo y mejora de los procesos de:*

- Obtención de productos químicos (Procesos de síntesis).
- Eliminación de agentes contaminantes (Procesos de biodegradación).
- Extracción de metales a partir de menas pobres (Procesos de lixiviación).

#### Sector energético

Dentro del sector energético, es de esperar que la ingeniería genética sea una alternativa importante para la *producción de combustibles* a partir de fuentes renovables:

- Etanol (Bioconversión de celulosas).
- Metano (Digestión anaerobia de residuos orgánicos).
- Hidrógeno (Procesos de biofotólisis).

#### Agronomía y alimentación

Es previsible que en un futuro muy próximo, si no lo es ya en la actualidad, la adquisición de recursos alimenticios sea el problema número uno de la humanidad.

La Ingeniería genética puede ser una tecnología fundamental dentro de este sector en:

#### a) *Desarrollo y mejora de los procesos de obtención de:*

- |                                      |   |
|--------------------------------------|---|
| - Proteínas                          | Formulación de piensos compuestos                               |
| - Aminoácidos                        |   |
| - Vitaminas                          |   |
|                                      |   |
| - Hormonas                           | Insecticidas<br>Reguladores del crecimiento (plantas, animales) |
|                                      |   |
| - Péptidos                           | Edulcorantes artificiales                                       |
|                                      |   |
| - Antibióticos                       | Productos terapéuticos (Veterinaria)                            |
| - Antígenos virales                  |   |
|                                      |   |
| - Compuestos alifáticos y aromáticos | Aditivos alimentos (Conservantes, aromas, etc.)                 |

#### b) *Desarrollo de nuevas variedades de plantas y microorganismos:*

- Plantas fijadoras de nitrógeno (Ahorro fertilizantes nitrogenados).
- Insecticidas biológicos (Microorganismos plagas para insectos).

#### Farmacología y medicina

Es muy probable que, en el campo de la Farmacología y Medicina, la ingeniería genética vaya a producir una auténtica revolución en:

#### a) *Desarrollo y mejora de procesos para la obtención de productos terapéuticos:*

- Aminoácidos.
- Vitaminas.
- Hormonas.
- Antibióticos.
- Péptidos.
- Antígenos virales.
- Compuestos aromáticos y alifáticos.
- Enzimas.

#### b) *Control de enfermedades hereditarias:*

- Síntesis de genes (Terapéutica celular).

#### c) *Desarrollo de nuevas técnicas de diagnóstico clínico:*

- Híbridos (Producción de anticuerpos).

#### Acciones

Para alcanzar cualquiera de los objetivos definidos anteriormente en los diferentes sectores, se requieren una serie de acciones a tomar a escala nacional:

1. Definición de las áreas y líneas de interés.
2. Establecimiento de programas definidos de investigación.
3. Elaboración de estrategias de transferencias de conocimientos de la Universidad a la Industria y viceversa.
4. Elaboración de una estrategia de formación.
5. Elaboración de una estrategia de financiación.

#### ACCION N.º 1

##### Definición de las áreas y líneas de interés

A la investigación española en biotecnología le faltan directrices. Se deben definir las áreas y líneas de interés teniendo en cuenta los sectores y trabajos de investigación universitaria e industrial, las necesidades de la sociedad y los condicionamientos económicos. La asignación de prioridades se incluiría dentro de un *Plen Nacional de Biotecnología* que hiciera una evaluación general de las consecuencias industriales y económicas de los descubrimientos recientes. Para la elaboración del Plan Nacional de

Biotecnología se deberá formar una Comisión constituida por expertos pertenecientes a la Universidad, Empresa y Administración (Ministerio de Industria y Energía; Ministerio de Economía y Comercio, etc.). Análogamente como se ha hecho en otros países tales como USA, Inglaterra, Francia, etc., dicha Comisión deberá asignar los porcentajes de recursos aplicables a: 1) explotación de lo ya conocido; 2) nuevas líneas de investigación, y 3) investigación frontera.

## ACCION N.º 2

### Establecimiento de programas definidos de investigación

Una vez que las áreas y líneas de interés han sido determinadas se deberán elaborar programas de investigación adecuados. Estos programas deben cubrir un amplio espectro e implicar todas las fases de la I + D, desde el nivel de laboratorio o investigación básica, tradicionalmente realizado en la Universidad, hasta el diseño y montaje de los aparatos usados en las líneas de producción industrial. El éxito de un programa de investigación en Biotecnología proviene de dominar profundamente tanto las técnicas de ingeniería genética (nivel básico) como las de microbiología industrial (nivel industrial).

Para la buena marcha de los programas de investigación se deben formar grupos de investigación interdisciplinarios e interdepartamentales compuestos por:

- a) Profesores de la Universidad, Consejo Superior de Investigaciones Científicas o demás Centros de Investigación pertenecientes a la Administración con un nivel de dedicación en función del programa.
- b) Personal técnico de las empresas participantes en el programa.

- c) Postgraduados que provienen de Escuelas Técnicas Superiores y Facultades.
- d) Asesores externos, pertenecientes a entidades nacionales o extranjeras de reconocido prestigio, que controlen y aseguren la buena marcha del programa.

En este esquema es esencial la figura del director del proyecto que coordine los trabajos realizados por los distintos componentes del grupo.

No se considera conveniente la creación de nuevos laboratorios o instalaciones para desarrollar los programas, sino de aprovechar los ya existentes, incorporando el material que hiciera falta para la buena ejecución de aquéllos.

A continuación, a modo de ejemplo, se indica un listado de diferentes temas de investigación de ingeniería genética, esto es, investigación biotecnológica a nivel fundamental o básico. La elección de uno u otro tema dependerá de las prioridades detectadas en el Plan Nacional de Biotecnología.

- A) Aislamiento y construcción de vectores capaces de introducir genes en bacterias u otros organismos de interés industrial (hiperproducción de proteínas específicas) o con fines médicos (transformación de células eucariotes).
- B) Síntesis de oligonucleótidos por medios químicos o enzimáticos, para la síntesis *in vitro* de genes.
- C) Modos de organización estructural *in vivo* de los genes y su operatividad funcional.
- D) Formas de expresión correcta de genes sintetizados o naturales transferidos a bacterias u otros organismos.
- E) Sistemas eficientes de clonaje de DNA de plantas. Desarrollo de vectores apropiados capaces de transferir DNA de plantas a microorganismos u otras células vegetales.

- F) Conocimiento de la genética, bioquímica y fisiología de las bacterias y células vegetales y animales, fundamentalmente en los aspectos de manipulación celular, desarrollo y diferenciación. Un caso concreto de este último apartado será la posibilidad de cultivar células vegetales y de regenerar plantas enteras a partir de células individualizadas.
- G) Conocimiento de la cinética de los mecanismos que intervienen en el comportamiento celular, particularmente en lo que se refiere a las condiciones de su funcionalidad a escala industrial y de los parámetros que rigen la estabilidad de los cultivos en sistemas multifásicos.

## ACCION N.º 3

### Elaboración de estrategias de transferencia de conocimientos de la Universidad a la Industria y viceversa.

Existe en biología, quizá en mucho mayor grado que en otras disciplinas, una profunda división que separa la investigación fundamental de las aplicaciones industriales.

Se debe tener en cuenta que la ingeniería genética no tendrá impacto comercial a menos que se desarrollen apropiadamente reactores biológicos y complejos de fermentación apropiados y automatizados, por lo que es necesario la existencia de una estrecha colaboración entre los sectores que desarrollan la ciencia fundamental y aplicada (Universidad-Empresa).

Por otra parte, al estar la ingeniería genética encuadrada en el marco de la biotecnología y ser por consiguiente un elemento dentro de un campo multidisciplinar, integrado por la microbiología, ingeniería, etc., las principales dificultades de la puesta en marcha de un proceso de este tipo surgen de los pro-

blemas intrínsecos de cada campo y de la interacción y transferencia de conocimientos de unos a otros.

Es por ello fundamental la elaboración de unas estrategias de transferencia Universidad-Industria en el área de Biotecnología. El estudio de las mismas podría ser llevado a cabo por la Comisión encargada de redactar el Plan Nacional en Biotecnología.

#### ACCION N.º 4

##### Elaboración de una estrategia de formación.

Hasta el presente, debido al progreso experimentado por las ciencias físicas y químicas, los ingenieros de nuestra sociedad se han formado en las áreas de mecánica, electrónica y química. Es gracias a esos ingenieros que, en los últimos cincuenta años nuestra sociedad ha conocido un desarrollo industrial rápido, principalmente en los secto-

res de transportes, producción y distribución de electricidad, materiales plásticos, petroquímica e informática. Actualmente se precisa de un nuevo tipo de ingenieros: llámense bioingenieros o biotecnólogos. Al plantearse esta necesidad surgen inmediatamente las siguientes preguntas:

- ¿Cuáles deberían ser las materias básicas de estudio en la formación de un biotecnólogo?
- ¿Hace falta crear Escuelas o Instituciones especiales para la formación del biotecnólogo?
- ¿Existen Escuelas o Universidades que los formen hoy?

La contestación a las preguntas anteriores sería una de las misiones principales encomendadas a la Comisión encargada de la elaboración del Plan Nacional en Biotecnología. Sin embargo se pueden adelantar una serie de sugerencias con respecto a estos temas.

- En los países industrialmente avanzados se considera que el biotecnólogo debe recibir una

formación correspondiente a tres grandes sectores:

- Sector básico o teórico.
- Sector técnico o práctico.
- Sector económico.

En la Figura 2 se ha considerado la formación en tres niveles: básico, técnico y económico. Dependiendo de la función específica deseada se hará énfasis en uno u otro aspecto. Tanto el orden como el contenido de los programas de formación son solo orientativos.

- Las principales ciencias básicas cuyos conocimientos se aplican para lograr la manipulación de genes (ingeniería genética), son: microbiología, virología, biología y genética molecular, inmunología, enzimología, biología celular y bioquímica. No deben establecerse límites precisos entre estas ciencias ya que cada una de ellas se enfoca a aspectos distintos de una misma realidad, la vida, por lo que existe un alto grado de solapamiento

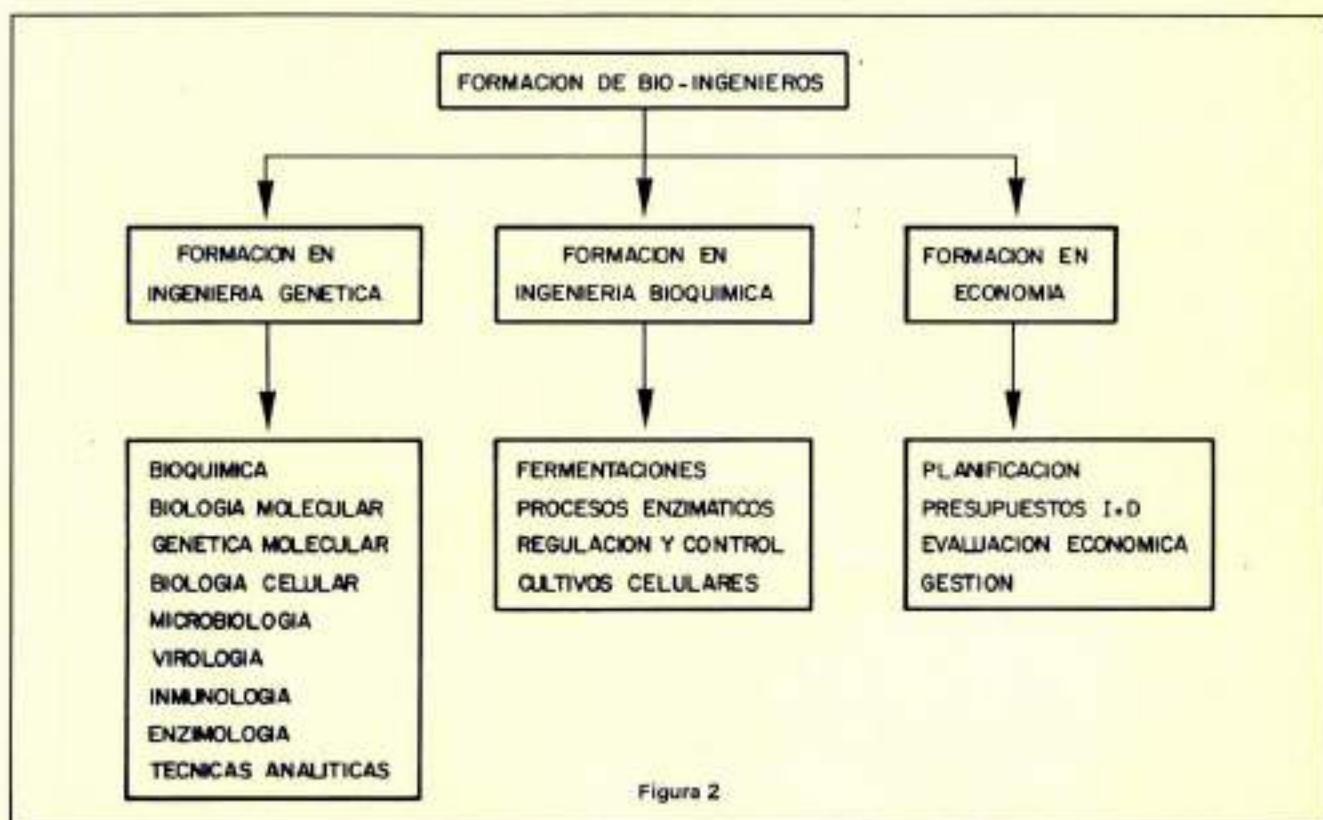


Figura 2

<b>CIENCIAS BASICAS</b>	<b>METODOS Y PROCESOS</b>
<b>MICROBIOLOGIA</b>	<b>MUTACION, SELECCION, CONJUGACION PROGRAMACION DE PLASMIDOS, CLONAJE, TRANSFORMACION.</b>
<b>VIROLOGIA</b>	<b>TRANSDUCCION, PROPAGACION DE VIRUS- VECTORES, AISLAMIENTO DE VIRUS.</b>
<b>GENETICA MOLECULAR</b>	<b>LOCALIZACION DE GENES, ORGANIZACION DE GENES, MECANISMOS DE HERENCIA.</b>
<b>BIOLOGIA MOLECULAR</b>	<b>BIOSINTESIS DE DNA, RNA Y PROTEINAS, PROCESAMIENTO SEÑALIZACION.</b>
<b>INMUNOLOGIA</b>	<b>RECONOCIMIENTO Y ANALISIS DE PROTEINAS.</b>
<b>ENZIMOLOGIA</b>	<b>ENZIMAS DE RESTRICCION, BIOSINTESIS DE DNA Y RNA, SINTESIS INVERSA</b>
<b>BIOLOGIA CELULAR</b>	<b>CULTIVOS CELULARES, CLONAJE HIBRIDOMAS.</b>
<b>BIOQUIMICA</b>	<b>AISLAMIENTO Y PURIFICACION DE GENES, CARACTERIZACION DE DNA, RNA Y PROTEINAS. SINTESIS DE GENES, MODIFICACION DE DNA, RNA Y PROTEINAS.</b>

Tabla 1. Ciencias básicas y procesos utilizados en la ingeniería genética.

entre todas estas disciplinas y sus métodos (Tabla 1).

La Microbiología se ocupa del estudio de los microbios o seres pequeños, principalmente de las bacterias. Los procesos de intercambio genético natural, tales como la conjugación sexual entre bacterias, y procesos artificiales "tradicionales" de manipulación genética, tales como mutación y transformación, son de especial interés en el campo que nos ocupa. Dentro de la Microbiología se han desarrollado también otras técnicas de especial aplicación en ingeniería genética, tales como los cultivos bacterianos, técnicas de clonaje y selección, etc.

La Virología está enfocada al estudio de los virus. Las técnicas de aislamiento y propagación de virus, así como la transferencia genética a través de virus (transducción), tienen una aplicación directa en la ingeniería genética.

La Genética Molecular se dedica a la investigación de los fenómenos de la herencia (Genética) a nivel molecular. Es una materia básica cuyos conocimientos son necesarios para entender estos procesos y su posible aplicación. Fruto de esta ciencia es el conocimiento actual de la estructura del conjunto de la información hereditaria (localización, organización y he-

rencia de los genes) en virus, bacterias y células superiores.

La Biología Molecular se refiere, principalmente, a la investigación de los mecanismos de expresión de los genes. Es una ciencia básica a cuyos esfuerzos debemos el conocimiento actual sobre los mecanismos de biosíntesis del DNA, del RNA y de las proteínas en virus, bacterias y células superiores.

La Inmunología se dedica al estudio de los mecanismos de defensa (elaboración de anticuerpos) y reacción contra sustancias extrañas introducidas en el cuerpo de organismos superiores. La aplicación de la inmuno-

logía al campo de la ingeniería genética se canaliza principalmente a través de la obtención y uso de anticuerpos como reactivos específicos para reconocimiento de proteínas. Un campo concreto de aplicación consiste en la técnica de elaboración de anticuerpos monoclonales elaborada en conjunción con técnicas de cultivos celulares.

La Enzimología se centra en el estudio del comportamiento de las enzimas en las reacciones biológicas. Dentro de este área, las enzimas relacionadas con el DNA, el RNA o las proteínas tienen especial aplicación en el campo de la ingeniería genética. Se utilizan principalmente para obtener fragmentos de DNA (enzimas de restricción, DNAsas, etc.) y para síntesis de DNA o RNA (polimerasas, transcriptasa inversa, etc.).

La Biología Celular estudia el funcionamiento de las células superiores. Las técnicas desarrolladas por esta ciencia que más aplicaciones tienen en el campo de la ingeniería genética, son cultivos celulares. Mediante los cultivos celulares es posible propagar indefinidamente células superiores, aisladas, fuera del campo animal o vegetal del que originariamente proceden.

La Bioquímica estudia la química de los seres vivos. Tiene incidencias muy específicas en la ingeniería genética, dado el desarrollo de las técnicas de síntesis química de genes y de modificación de proteínas, así como las de aislamiento y purificación de genes, caracterización de DNA, RNA y proteínas, hibridación, aislamiento de proteínas, etc.

III. Un buen programa de formación requiere un profesorado adecuado del cual también se adolece en nuestro país. Así pues, se deben establecer programas de formación de profesorado.

Una posibilidad, desarrollada especialmente por Taiwán y Japón en otros sectores, ha sido el mandar a competentes profesionales a los Centros o Universidades de alta tecnología mundialmente reconocidos, donde han aprendido las técnicas más modernas que luego han transferido a su país de origen.

IV. Faltan en nuestro país Instituciones especializadas para la formación de biotecnólogos. Tales Instituciones existen en Japón y en las grandes Universidades americanas. Las materias básicas que deberían componer el conocimiento de un biotecnólogo se hallan diseminadas en las siguientes Escuelas técnicas y Facultades de Ciencias:

- Facultad de Ciencias Biológicas.
- Facultad de Medicina.
- Facultad de Ciencias Químicas.
- Facultad de Veterinaria.
- Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales.
- Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos.

## ACCION N.º 5

### Elaboración de una estrategia de financiación.

Es necesario convencer a los sectores público y privado, de la necesidad de financiar programas de investigación para actividades de alto riesgo, pero que puedan incidir en aplicaciones industriales a corto o largo plazo. Se debe proceder al establecimiento de una política financiera con respecto a este tema. La investigación de las actividades de alto riesgo deberán ser fundamentalmente financiadas por el sector público. Con objeto de disminuir los costos de la financiación de las actividades de alto riesgo, será conveniente señalar metas concretas a conseguir a corto plazo.

## CONSIDERACIONES LEGALES EN TORNO A LA INGENIERIA GENETICA

Estados Unidos es una de las primeras naciones que se ha planteado el problema de tipo legal, referido a la posibilidad de patente de sistemas biológicos. A primeros de diciembre de 1980 la Patent and Trademark Office concedió la patente a las técnicas fundamentales utilizadas en la investigación sobre ingeniería genética (DNA recombinante) a propuesta del doctor Herbert Boyer (U.C. San Francisco) y del doctor Stanley Cohen (Universidad de Stanford). La patente cubre el proceso desarrollado en 1970 que se refiere a la posibilidad de insertar material genético en una bacteria a través de un plásmido bacteriano. Dicha patente es válida solamente para los Estados Unidos. Sin embargo, las técnicas bajo patente podrán ser utilizadas por los investigadores de una manera totalmente libre.

En junio de 1980, en Estados Unidos, la Corte Suprema dictaminó, por una votación de 5 contra 4, que se podían patentar organismos vivos dado que, en la legislación vigente en los Estados Unidos, nada denegaba tal posibilidad. De hecho, en 1972 se concedió al doctor Chakrabarty la patente sobre la bacteria *Pseudomonas Aereoginosa*, capaz de vivir y digerir petróleo crudo y transformarlo en productos ricos en proteínas. En realidad, la construcción de esta bacteria es anterior al desarrollo de técnicas de ingeniería genética. La formación de esta bacteria múltiple se logró mediante la transferencia de material genético, de una manera natural, de unas bacterias a otras con las técnicas convencionales de microbiología clásica. El producto final fue una bacteria que tenía cuatro segmentos de material genético de diferentes bacterias. Se construyó de esta manera un organismo que tenía las potencialidades de los cuatro de los que había sido originado.

Algunas Universidades han persuadido al Congreso que regule por ley que las Universidades puedan beneficiarse de la explotación de cualquier investigación realizada

con medios federales. El 6 de marzo de 1980 se dictaminó que los beneficios derivados de la explotación industrial de las investigaciones deberían revertir en la investigación y enseñanza en las mismas Universidades donde se había realizado la investigación. En el pasado, los derechos de patente que surgían de las investigaciones realizadas con fondos públicos pertenecían al Gobierno Federal. Sin embargo, las Universidades sólo podrán dar licencia de explotación de las patentes por 5-8 años. Pasado este período, el derecho de explotación se ha de hacer extensivo a todas las demás industrias que lo deseen. Los derechos de patente se deberán compartir con el inventor. El Gobierno Federal, sin embargo, se reserva el derecho de intervenir en los acuerdos Universidad-Industria cuando lo crea necesario, en el caso de que la Universidad no dé adecuadamente las licencias de explotación.

Es posible que la posibilidad de patentar sistemas biológicos estimule la libre publicación de artículos en revistas internacionales y favorezca de esta manera la libre circulación de ideas, aunque restringirá al mismo tiempo la comunicación espontánea informal de datos que es tan conveniente en los medios científicos. Es, por consiguiente, necesario que los países negocien y coordinen su política de patentes. Si esto se logra, se potenciará, al mismo tiempo, la puesta en el mercado del fruto de las investigaciones.

En el caso de España se ha de llevar a cabo, con prioridad a una acción legal en el área de la ingeniería genética, una adecuada modernización de la ley de patentes existente, definiendo claramente la titularidad, reparto de regalías, licencias de explotación, etc., especialmente en el caso de que la patente haya sido generada por la Universidad.

## CONSIDERACIONES ETICO-SOCIALES

La posibilidad de reprogramación genética de organismos vivos ha suscitado amplia controversia en medios científicos y sociales ante la amenaza de producción de microorganismos patogénicos y modificación de una manera permanente de la herencia humana, posibilitando un mayor control del hombre por el hombre y contribuyendo de manera inmediata y en muchos casos irreparable, a la introducción en el medio ambiente de nuevos componentes de contaminación biológica. Aunque no parecen extremadamente preocupantes las amenazas anteriores, es imprescindible realizar, dentro de un programa de ingeniería genética en biotecnología, un estudio detallado que evalúe la validez y extensión de la controversia sobre las técnicas de DNA recombinante o reprogramación genética celular y que determine cuáles son las incertidumbres presentes y previsibles.

Se debería establecer un mecanismo legal capaz de supervisar los aspectos físicos y tecnológicos de los experimentos en gran escala, restringiéndose, en cuanto a las aplicaciones biológicas, al control de seguridad más que a pormenorizar detalles experimentales.

En Estados Unidos existen una serie de normas dictadas por el NIH (National Institute of Health) obligatorias para toda la investigación realizada con fondos del Gobierno Federal. No existen leyes que regulen las condiciones experimentales de trabajo en la industria privada o en la investigación no soportada con fondos federales aunque han existido intentos por parte de algunos legisladores de cambiar tal situación. Sin embargo, en Gran Bretaña, las normas existentes se aplican a todos los laboratorios e industrias implicadas.

No es necesario hacer hincapié en que la Biología ha entrado en la vida y opinión pública. De hecho, la trayectoria histórica de la ingeniería genética ha pasado, desde el año 1975, de un optimismo exagerado,

al pensar que la técnica podría remediar todos los males de la Humanidad, hasta el realismo de 1980 al pensar que mediante la técnica de ingeniería genética será posible explotar algunas y sólo algunas de sus aplicaciones con relativo éxito. Esta trayectoria, sin embargo, ha sufrido un período de pesimismo casi radical en 1977, año en el que se dieron unas normas legislativas muy restrictivas y se dificultó en alto grado la experimentación, y una época de fanatismo utópico y absurdo en el año 1979 en el que se quiso ver una nueva criatura fabricada por el hombre en cada esquina del universo.



# I. PRECEDENTES DE LA INGENIERIA GENETICA

## GENETICA Y BIOLOGIA MOLECULAR

La genética tuvo origen en 1866 cuando Gregorio Mendel publicó sus observaciones de las leyes de la herencia de caracteres. Más tarde sus investigaciones fueron confirmadas y ampliadas a todos los seres vivos. Como fruto de estos trabajos apareció el concepto de gen como unidad de transmisión de los caracteres hereditarios. Se pudo así distinguir la existencia de al menos dos sistemas en los seres vivos: sistema hereditario o informativo (compuesto por el conjunto de genes) y sistema de expresión de la herencia u operativo (compuesto por los mecanismos o estructuras que hacen realidad la información contenida en los genes).

En el año 1930, los doctores J. D. Bernal y J.D.S. Haldane predijeron que la era de la Biología y su impacto en los problemas sociales y económicos llegaría en breve. Se trataba en realidad de una utopía socioeconómica surgida de la rapidez con que los conocimientos en genética empezaban a transformar la comprensión de los fenómenos biológicos. En vanguardia de este grupo de investigadores han estado aquellos para quienes los sistemas informativos y operativos de la genética anterior a los años 30, pudieron concretarse en sustancias moleculares y reacciones bioquímicas. El resultado final de lo que ellos realizaron es lo que se ha llamado Biología Molecular.

La Biología Molecular ha enfocado su estudio a las estructuras e inte-

racciones entre moléculas y seres vivos, descendiendo hasta detalles y dimensiones que no habían sido estudiadas. Estos nuevos avances dependieron del desarrollo de técnicas que simplificaron los análisis de las biomoléculas, y de la aparición de una nueva industria que fue capaz de desarrollar los instrumentos y materiales requeridos. De tales estudios se puso de manifiesto la unidad de la biología en términos moleculares, demostrando la continuidad entre moléculas y estructuras morfológicas.

Todos los seres vivos participan de mecanismos moleculares similares para funcionar, crecer y reproducirse. Entre estos mecanismos comunes a todos los organismos vivos está el de poseer un sistema molecular común de almacenamiento de información (sistema informativo) y un mecanismo también común de transferencia del material informativo hasta un nivel por el cual se determinan las estructuras que lo forman (sistema operativo).

Los estudios bioquímicos se dirigieron a definir la función biológica de las biomoléculas y a estudiar las consecuencias de cualquier alteración de los sistemas informativos en los sistemas operacionales.

## RELACION ENTRE GENES Y ENZIMAS

Hasta hace 40 años no se pudo establecer una relación directa entre el sistema informativo o "genes" y el sistema operativo o "enzimas".

Fue en 1940 cuando Beadle y Tatum descubrieron que las alteraciones de varios genes en un hongo daban lugar a pérdidas de algunas funciones o enzimas. Indicaron así que las alteraciones del sistema informativo (que daban lugar a lo que llamaron mutantes) producían como consecuencia el que se acumularan en las células los sustratos de las reacciones que se habían bloqueado por la falta de funcionamiento de las enzimas. Los sustratos de las reacciones se podían así detectar en la célula en grandes cantidades, al contrario de lo que ocurría en los individuos normales. Más adelante, ésta fue la base por la que se pudieron diagnosticar en el hombre algunas enfermedades hereditarias producidas por alteraciones o mutaciones de genes.

## EL ACIDO DESOXIRRIBONUCLEICO ES LA MOLECULA DONDE SE GUARDA LA HERENCIA BIOLOGICA

En 1944 se pudo identificar la molécula que llevaba los sistemas informativos, los genes. Se la llamó ácido desoxirribonucleico o DNA. Los experimentos llevados a cabo por Avery, MacLeod y McCarthy supusieron una ruptura de la barrera que separaba el nexo entre el sistema informativo y el sistema operativo de los organismos vivos. Trabajando en bacterias, se demostró que el DNA de una cepa maligna podía transformar una cepa no maligna en maligna. Por lo tanto se

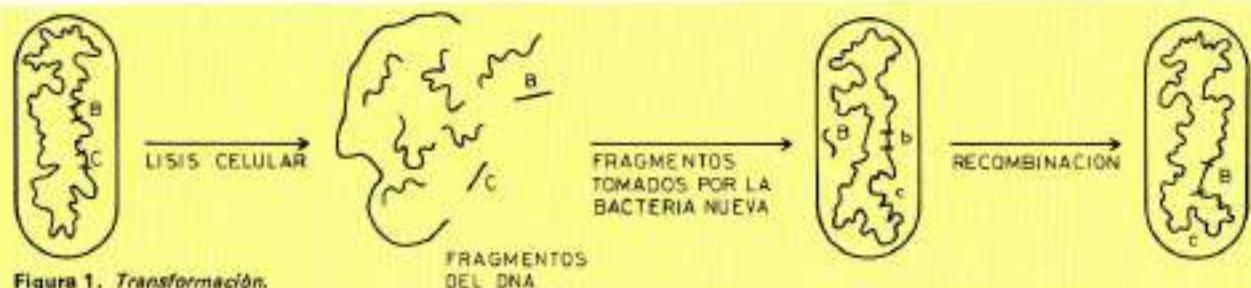


Figura 1. Transformación.

FRAGMENTOS DEL DNA

podía transferir el sistema informativo y también el sistema operativo correspondiente de una bacteria a otra. A este proceso se le denomina transformación. (Figura 1).

Aunque con estos experimentos se dilucidó claramente que el ácido desoxirribonucleico (DNA) debía de contener la información necesaria para poder construir los sistemas operativos y materiales de construcción celular, hubo que esperar una década hasta poder determinar el modo en que esta información estaba organizada en el DNA.

## DESCUBRIMIENTO DE LA ESTRUCTURA DEL DNA

Este momento lo marcan Watson y Crick en el año 1953 cuando propusieron la estructura doble helicoidal del DNA (Figura 2). A partir de este momento, la genética se trasladó completamente del terreno de la morfología al terreno de la Biología molecular y se desarrolló rápidamente mediante la interacción de nuevos conceptos y métodos. El DNA está constituido por dos cadenas moleculares unidas en forma helicoidal. Cada cadena es un polímero constituido por cuatro monómeros diferentes, dispuestos linealmente uno a continuación de otro. A las unidades monoméricas que componen el DNA se las denomina bases y son: adenina (A), timidina (T), citosina (C) y guanina (G). El orden o secuencia de las bases en la cadena y su longitud es lo que codifica la información biológica cuya última expresión son los caracteres hereditarios. Las dos cadenas de DNA son complementarias como si se tratase de una cremallera, en cuanto que A siempre está enfrente de T y C de G.

El establecimiento de la identidad molecular del DNA y por lo tanto de los genes, permitió una mayor definición de los tipos y complejidad de los seres vivos: fagos (Figura 3), virus animales (Figura 4), bacterias



Figura 2. Modelo molecular del DNA.

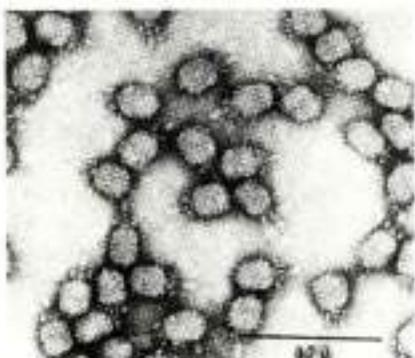


Figura 3. Fago  $\phi$  29

\* Reproducidas por cortesía de J. Hernández Yago.

(Figura 5), levaduras (Figura 6), células animales (Figura 7) y células vegetales, en términos de cantidad de DNA o número de bases. Así, en los organismos inferiores hay una gran variabilidad, teniendo como promedio unas  $10^8$  bases, mientras que en los organismos superiores el promedio está en unas  $10^{10}$  bases (Tabla 1 y Figuras 8 y 9). El número de genes que estas cantidades de DNA implican es distinto en el caso de organismos inferiores o superiores. En el caso de organismos inferiores puede decirse que un gen equivale a unas 1.000 bases. Ahora bien, el número de genes en organismos superiores es mucho menor que el que resultaría de suponer genes del tamaño anteriormente citado, pudiéndose estimar en alrededor de  $10^5$  genes.

Aunque la definición exacta de los límites estructurales de un gen es un tanto confusa aún hoy, la definición operativa de un gen es una cuestión bastante bien conocida.

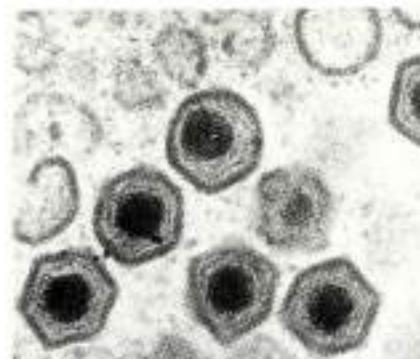


Figura 4. Virus de la peste porcina.



Figura 5. Bacterias fracturadas según diversos planos (Es: esporas)  $\times$  24.750.\*



Figura 6. Levaduras: *Saccharomyces cerevisiae* (N: núcleo; E: esterosoma)  $\times$  9.750.\*

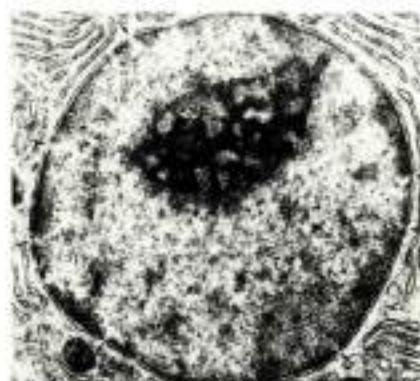


Figura 7. Célula del páncreas  $\times$  10.000.

Se ha determinado con bastante exactitud cómo se dividen (Figura 10), cómo se mantienen a través de millares y millones de años de evolución biológica, cómo cambian ocasionalmente, cómo se copian en otra molécula intermediaria o RNA, cómo dan lugar a proteínas a través de un mecanismo de lectura de su información (Figura 11), cómo regulan su expresión, cómo se recombinan para formar nuevas reorganizaciones dentro del cromosoma, cómo se multiplican en número y aun cómo evolucionan internamente para dar lugar a nuevos sistemas informacionales.

De alguna manera se puede decir que el impacto del conocimiento de la estructura del DNA ha provisto a la Biología de un conjunto de principios y propiedades que explican la enorme variedad de los fenómenos observados en los seres vivos y del constante aparecer de nuevas variedades o especies biológicas.

Antes de efectuar un análisis detallado de los genes se utilizó para su

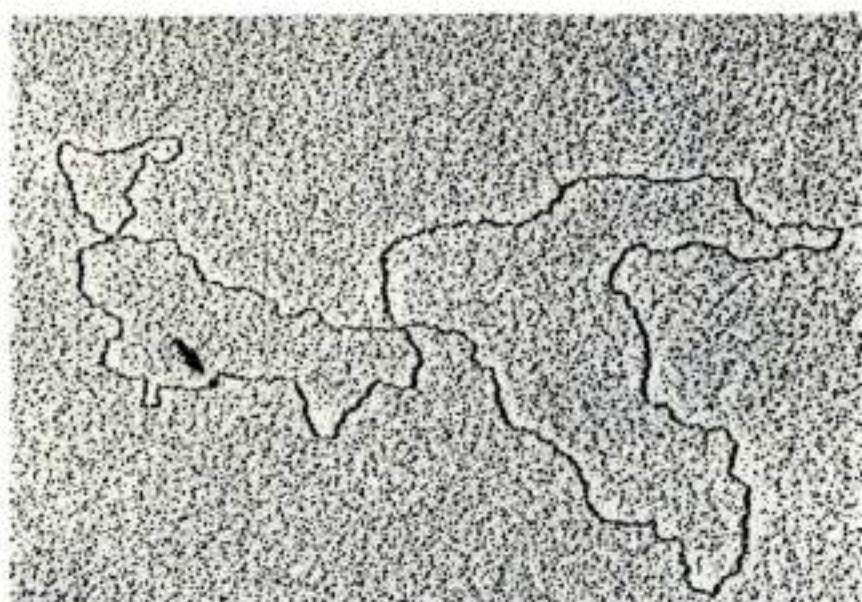


Figura 8. Microscopía electrónica del DNA del fago  $\phi$  29. La flecha señala la proteína P3.

estudio un sistema basado en el análisis de la forma de los individuos originados por reorganizaciones internas del material genético en los cromosomas o por mutaciones en el DNA. El gen fue definido como una unidad informativo-

operativa, en cuanto que daba lugar a la formación de un carácter determinado, y como una unidad de recombinación, en cuanto que podía ser localizado en un punto dentro de la estructura del DNA (debido a su frecuencia de combinación con

TIPO DE DNA	N.º DE BASES APROXIM.	N.º DE GENES
PLASMIDOS	$10^4$	10
VIRUS Y FAGOS	$10^5$	$10^2$
BACTERIAS	$10^6$	$10^3$
LEVADURAS	$10^7$	$10^4$
CELULAS PLANTAS	$10^9-10^{10}$	$10^4-10^5$
CELULAS ANIMALES	$10^9-10^{10}$	$10^4-10^5$

Tabla 1. DNA de diferentes organismos.

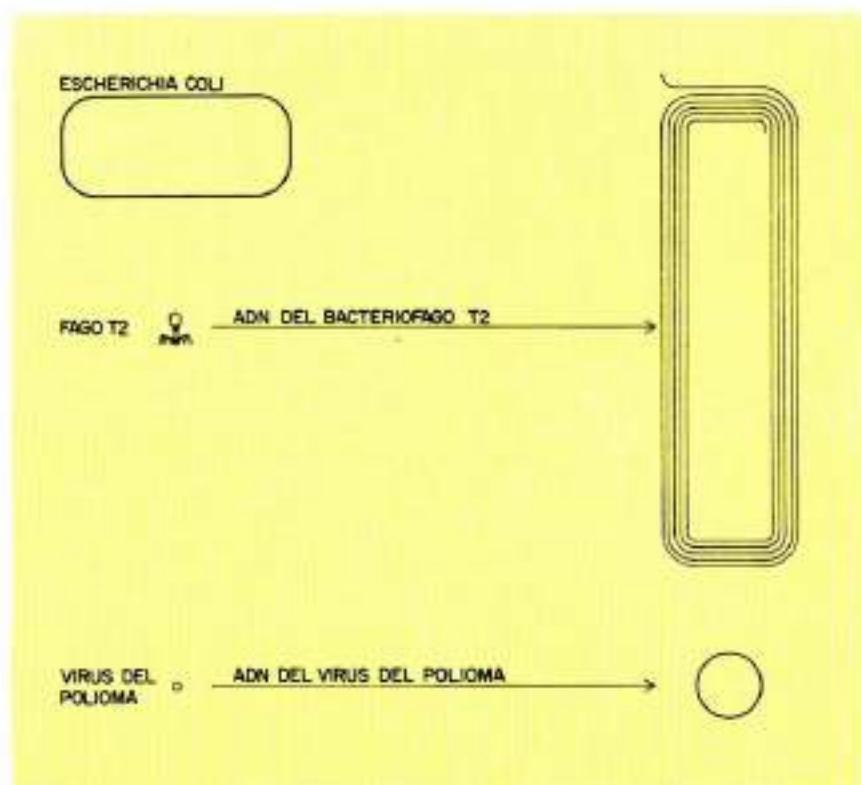


Figura 9. Tamaño comparativo de *E. coli* con fago T2 y virus del polio.  $\times 17.000$

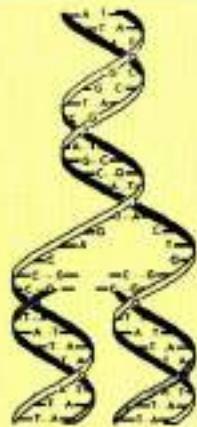


Figura 10. División.

otras unidades situadas en el mismo cromosoma o en cromosomas diferentes). Rápidamente se constató que la recombinación o transferencia de información entre genes situados en bacterias de la misma especie pero individualmente distintas era un suceso más frecuente de lo que podría haberse supuesto con anterioridad. Siempre se habla,

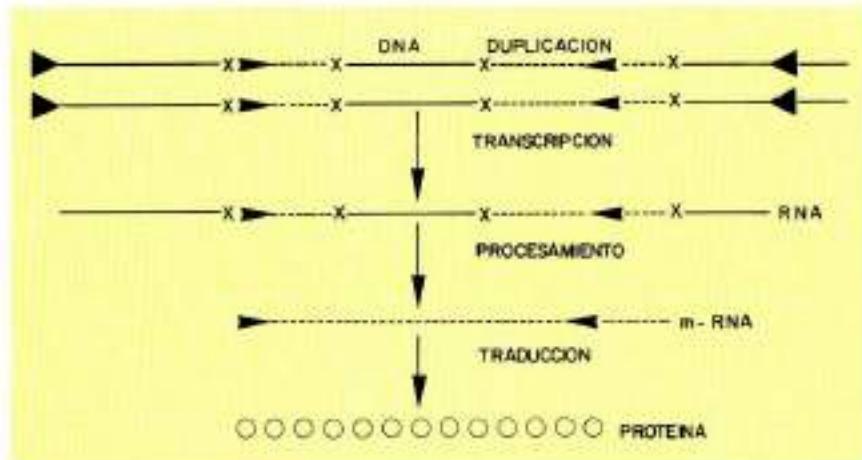


Figura 11. Esquema de la transferencia de información desde el ADN (estructura informativa) a la proteína (estructura operativa).

ba, sin embargo, de recombinación entre diferentes genes, pero nunca de recombinación dentro de un mismo gen, como demostraría elegantemente Benzer en 1955.

### TRANSFERENCIA NATURAL DE GENES

Una serie de investigadores dirigidos por Lederberg habían descrito dos mecanismos mediante los cuales las bacterias transferían DNA de unas a otras. Estos mecanismos se denominaron conjugación y transducción (Figuras 12 y 13). En la

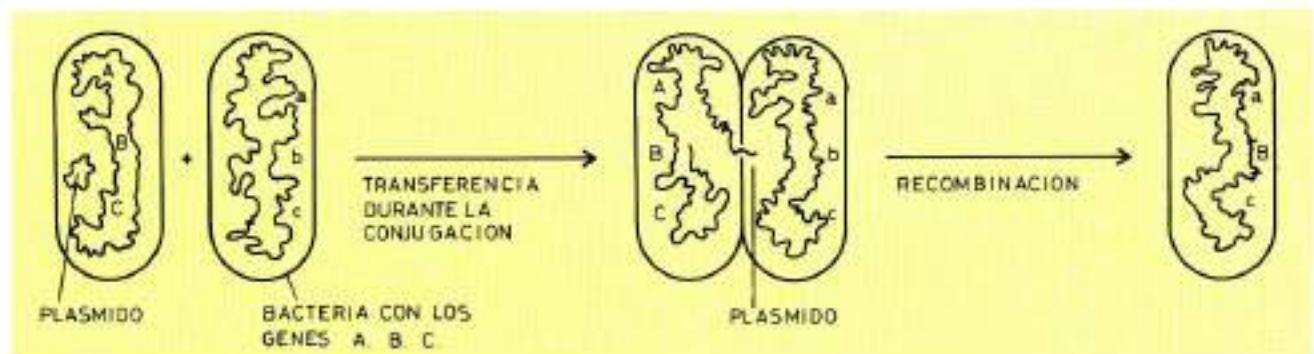


Figura 12. Conjugación.

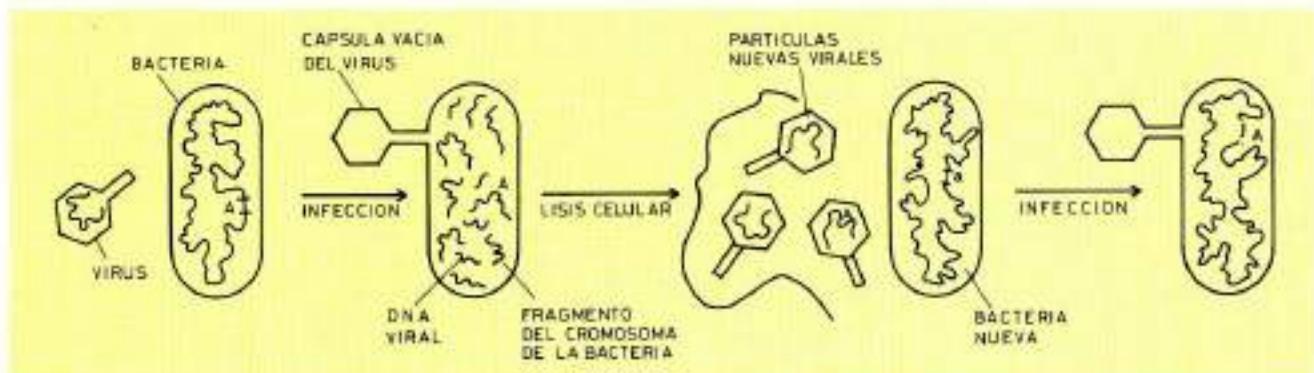


Figura 13. Transducción.

conjugación, las bacterias se unen temporalmente y una de ellas, la bacteria donadora transfiere a la bacteria receptora parte de su DNA (bacteria-bacteria). En la transducción, la transferencia de DNA se hace a través de un virus que al infectar una bacteria toma parte de su DNA. Al reinfectar otra bacteria le transmite el DNA de la primera bacteria (bacteria-virus-bacteria).

Pronto se descubrió un nuevo tipo de reorganización entre genes que era distinto de los clásicos modelos genéticos antes expuestos. Este mecanismo se descubrió cuando se observó que ciertos virus bacterianos, ocasionalmente, integraban parte de su DNA dentro del cromosoma de la bacteria. La integración se realizaba mediante un proceso por el cual una enzima rompía la molécula del DNA del cromosoma bacteriano, insertando en el hueco un nuevo fragmento procedente del virus bacteriano.

En realidad, el estudio de los mecanismos de transferencia de plásmidos (pequeños DNA circulares que se replican autónomamente dentro de una bacteria y que llevan la información necesaria para la producción de algunas proteínas) y virus, se ha convertido en un campo muy activo de investigación.

## ENZIMAS Y DNA

Los avances en el conocimiento de la estructura del DNA y los mecanismos de transmisión de su información a los sistemas operativos de las células fueron por sí solos insuficientes para permitir una manipulación detallada de los sistemas biológicos. Los desarrollos de la Enzimología al extenderse al mismo DNA abrieron la posibilidad de manipular los sistemas biológicos informativos más allá de las formas naturales de transferencia de genes. Actualmente se poseen los frutos de esta tecnología en numerosos laboratorios y muchas de las

enzimas necesarias son comerciales.

Entre las enzimas que más impacto han causado en la moderna Biología están:

- Las endonucleasas, que producen roturas internas en el DNA y el RNA.
- Las exonucleasas, que eliminan fragmentos del DNA comenzando por uno de los extremos.
- Las enzimas de restricción, que producen roturas de la doble cadena de DNA en sitios específicos y reconocibles.
- La DNA ligasa, que une cadenas de DNA.
- La DNA polimerasa, que reproduce una cadena de DNA teniendo como modelo la cadena complementaria de DNA.
- La transcriptasa inversa, que reproduce una cadena de DNA teniendo como modelo la cadena complementaria de RNA.

La existencia y fácil acceso a esta colección de enzimas que rompen o unen moléculas de DNA o RNA hace posible la manipulación de nuevas moléculas de DNA construidas por el hombre.

## TRANSFERENCIA MANIPULADA DE GENES O INGENIERIA GENETICA

Hasta muy recientemente, sólo era posible hablar de transferencia natural de genes entre organismos inferiores (bacterias y virus). La genética, la biología molecular y la enzimología de DNA aplicada a organismos inferiores y superiores ha permitido introducir pequeños segmentos de DNA dentro de un fragmento transportador de DNA, llamado vector (plásmido o virus), que puede introducirse y crecer dentro de una bacteria y de esta manera multiplicarse miles o millones de veces. Este nuevo campo de inves-

tigación se ha llamado ingeniería genética, investigación en DNA recombinante o simplemente clonaje de genes.

De este modo, el desarrollo de una tecnología que permite transferir genes de un organismo a otro, ha abierto nuevas oportunidades no solamente para la investigación básica biológica, sino para la obtención de excepcionales beneficios útiles para la sociedad. El por qué de esta afirmación se comprende fácilmente en cuanto que la producción masiva de bacterias, que es un proceso relativamente simple y no muy costoso y la transferencia de genes cuyo producto puede ser importante desde un punto de vista económico, daría como resultado la obtención de esos mismos productos en grandes cantidades y a precios muy reducidos.

## II. BREVE DESCRIPCION DE LA TECNICA

### INTRODUCCION

Para facilitar una mejor comprensión de la tecnología de la ingeniería genética, se han incluido estos apartados como una breve descripción de los métodos que se utilizan para transferir DNA.

La metodología se ha dividido en tres partes, dado que tanto los problemas técnicos como las aplicaciones son diferentes:

- Transferencia de DNA a bacterias.
- Transferencia de DNA a células de organismos superiores.
- Transferencia de DNA por fusión celular o tecnología de hibridomas.

A estos apartados se añaden después algunas consideraciones de seguridad en la experimentación tales como riesgos y precauciones.

En la explicación de cada apartado se ha expuesto primero la metodología general y después varios ejemplos de cómo se han conseguido o se está en proceso de conseguir algunas aplicaciones. Hay que señalar que si bien tanto los métodos, como las aplicaciones de la transferencia de DNA a bacterias son los más desarrollados actualmente, las posibles aplicaciones de la transferencia de DNA a células de organismos superiores son las que tienen un futuro más prometedor, sobre todo en medicina, aun cuando la metodología no esté suficientemente desarrollada en la actualidad. Por esta razón se tratará este apartado con una mayor extensión.

### TRANSFERENCIA DE DNA A BACTERIAS

#### TECNICAS

##### Vectores

La inserción de ciertos genes específicos dentro de bacterias ha sido llevada a cabo mediante el empleo de elementos capaces de existir con independencia del DNA de la bacteria. Estos elementos o vectores están formados por los plásmidos y los virus bacterianos o fagos (Figura 14).

Los plásmidos son moléculas circulares de DNA que se encuentran en una gran variedad de bacterias. Una característica propia de estos elementos es su separación física del DNA cromosomal de la bacteria.

Los plásmidos son elementos que tienen una gran variabilidad en longitud. El número de veces que un plásmido determinado está presente en la bacteria puede variar ampliamente desde dos veces a dos mil o más en determinadas circunstancias. Dado el crecimiento rápido de las bacterias, el DNA insertado en el plásmido, que a su vez ha sido introducido en la bacteria, rápidamente aumenta su número en varios órdenes de magnitud. En estas condiciones, el DNA conteniendo el gen bajo estudio, se amplifica millones de veces.

Los virus de las bacterias o fagos son partículas constituidas por una cadena molecular informativa que suele ser de DNA rodeada de una cápsula de proteínas. Su envuelta proteica les permite adherirse al exterior de las bacterias e inyectar su DNA en el interior de éstas. La mul-

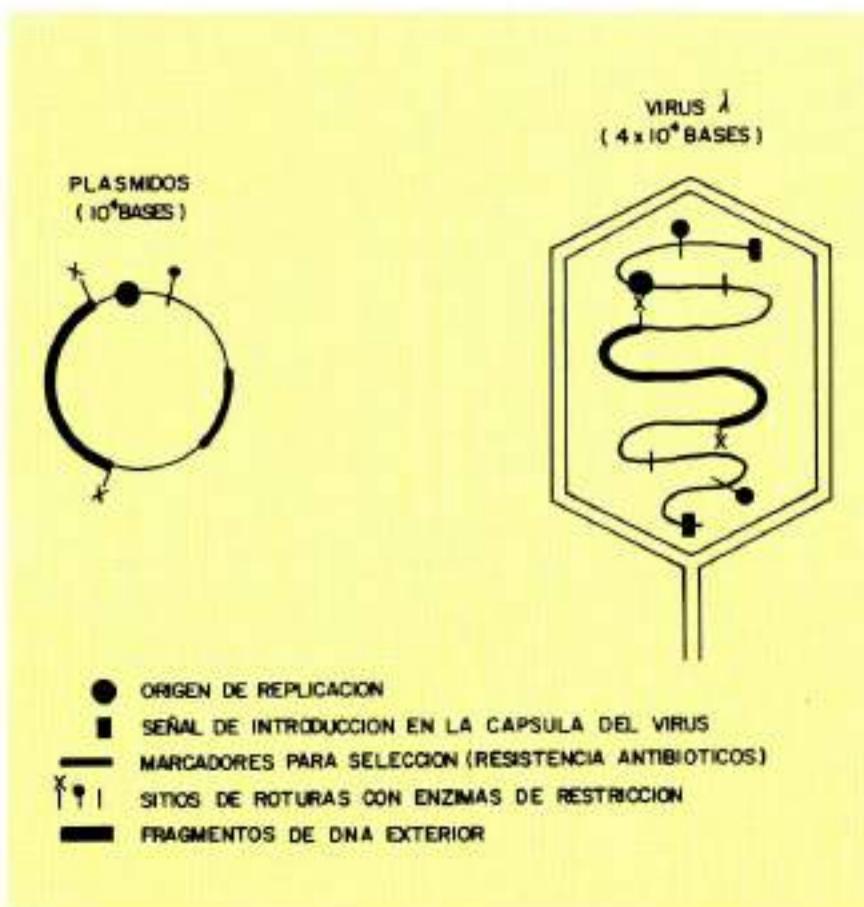


Figura 14. Posibles vectores para bacterias (*E. coli*).

tipificación bacteriana amplifica el DNA insertado y, al mismo tiempo, el gen bajo estudio contenido en ese DNA.

Existe una gran variedad de vectores para bacterias. Parte de la investigación fundamental se centra en la construcción de vectores apropiados para diversas necesidades. La elección del vector depende de una serie de factores de los cuales los más importantes son: que pueda aislarse fácilmente; que sea capaz de replicación autónoma en un huésped; que sea capaz de aceptar fragmentos de DNA relativamente grandes según las necesidades; que contenga unos sitios controlados de reconocimiento por las enzimas de restricción (que rompen las cadenas de DNA y permiten así la inserción) y que contenga alguna característica específica (resistencia a antibióticos) por la cual las células transformadas puedan fácilmente seleccionarse del conjunto de las células huéspedes que no contienen el fragmento de DNA insertado.

### Huéspedes (*E. coli* y *B. subtilis*)

La producción de huéspedes apropiados para la multiplicación del DNA transferido es un campo de intensa investigación.

El huésped más comúnmente usado ha sido la bacteria *Escherichia coli*. Dado que esta bacteria se reproduce en el intestino humano, se han generado variedades que no son capaces de reproducirse fuera de condiciones experimentales o especialmente diseñadas para recibir un tipo de información concreta. Esto se ha hecho con objeto de limitar las posibilidades de descontrol del material biológico portador de material genético extraño y que potencialmente pudiera ser nocivo.

*Bacillus subtilis*, bacteria que vive en el suelo normalmente, es un segundo tipo de huésped bacteriano que se ha usado para ingeniería genética.

### Etapas

Las etapas comúnmente empleadas para la inserción de un gen determinado, por ejemplo, en un vector plasmídico y su introducción posterior en una bacteria son básicamente las siguientes:

- Preparación de los vectores.
- Transferencia del DNA al vector.
- Multiplicación del fragmento de DNA transferido.
- Selección.

A) *Preparación de los vectores.* Las moléculas de plásmido se purifican del conjunto del material de las bacterias obteniéndose de esta manera lo que se llaman vectores o transportadores del gen que se desea amplificar. La purificación normalmente se realiza mediante centrifugación en cloruro de cesio de un lisado de bacterias. El plásmido está en las bacterias en forma de doble cadena de DNA circular-cerrada, lo que permite el que se pueda separar del cromosoma bacteriano (Figura 15).

B) *Transferencia del DNA al vector.* El fragmento de DNA que se desea amplificar se inserta en la molécula del plásmido. Este proceso se realiza por métodos bioquímicos que suponen esencialmente los siguientes pasos:

- Ruptura de la doble cadena circular-cerrada de DNA de plásmido. Esta ruptura se realiza mediante enzimas de restricción que rompen el DNA en una secuencia de nucleótidos muy específica que tiene una simetría rotacional de 180°. Existen muchas enzimas de restricción que rompen el DNA en lugares diferentes. Cada una de ellas tiene una aplicabilidad distinta, según el fragmento de DNA que se desee insertar. Las más comúnmente utilizadas en los comienzos de los sistemas de transferencia genética han sido las llamadas:

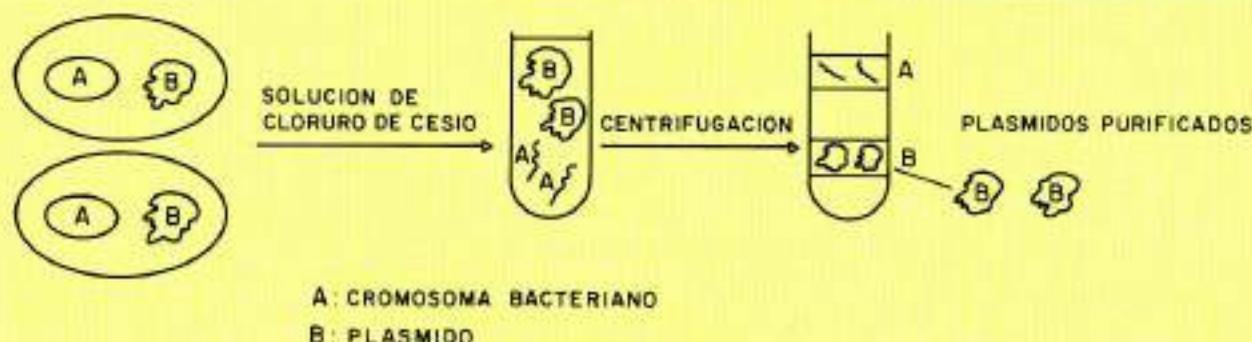


Figura 15

- Eco R1, que rompe el DNA en la secuencia de bases GAATTC en el lugar indicado por las flechas.

- Hae III, que rompe en la secuencia de bases GGCC en el lugar indicado por las flechas.

- Hind III, que lo hace en la secuencia de bases AAGCTT en el lugar indicado por las flechas.

El resultado final del tratamiento con estas enzimas es la formación

de una cadena lineal de DNA con fragmentos de DNA de cadena sencilla en los extremos o con extremos romos (Figura 16).

2. Ruptura del DNA, cuyo fragmento se desea transferir, con la misma enzima de restricción con que se ha producido la molécula lineal del vector (Figura 17).

Este proceso genera fragmentos de DNA con extremos de cadena sencilla de DNA iguales a los extremos del vector (Figura 18).

3. Formación de la molécula híbrida, debido al hecho de que las ba-

ses complementarias (A es complementaria de T y G lo es de C) pueden reconocerse y aparearse cuando se ponen juntas en una solución; los extremos de la cadena sencilla del DNA que se quiere transferir se unen, formándose así una molécula híbrida: vector-fragmento de DNA transferido (Figura 18).

4. Formación del círculo cerrado o plásmido híbrido: una vez formada la molécula híbrida, otra enzima llamada ligasa, cataliza la unión entre los fragmentos del vector y los fragmentos del DNA insertado (Figura 18).

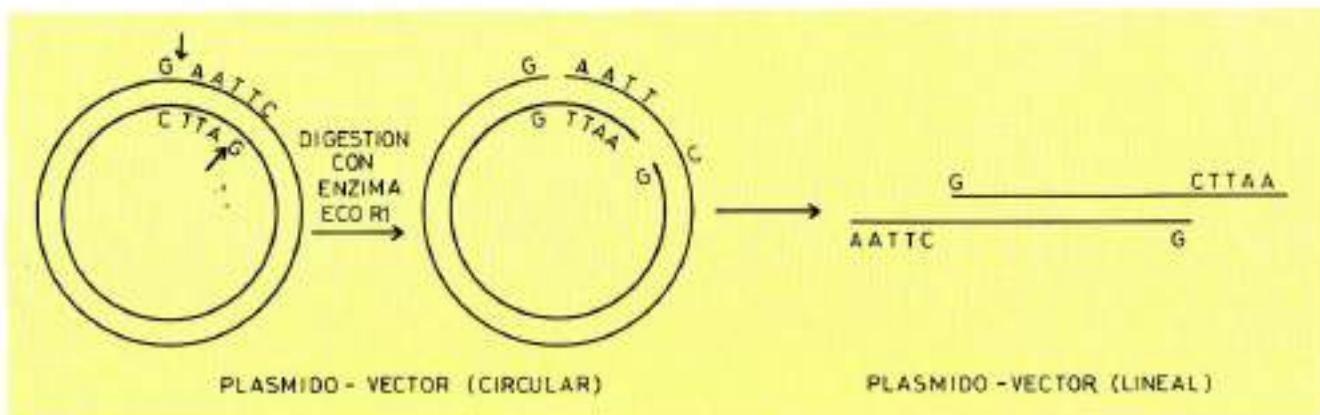


Figura 16

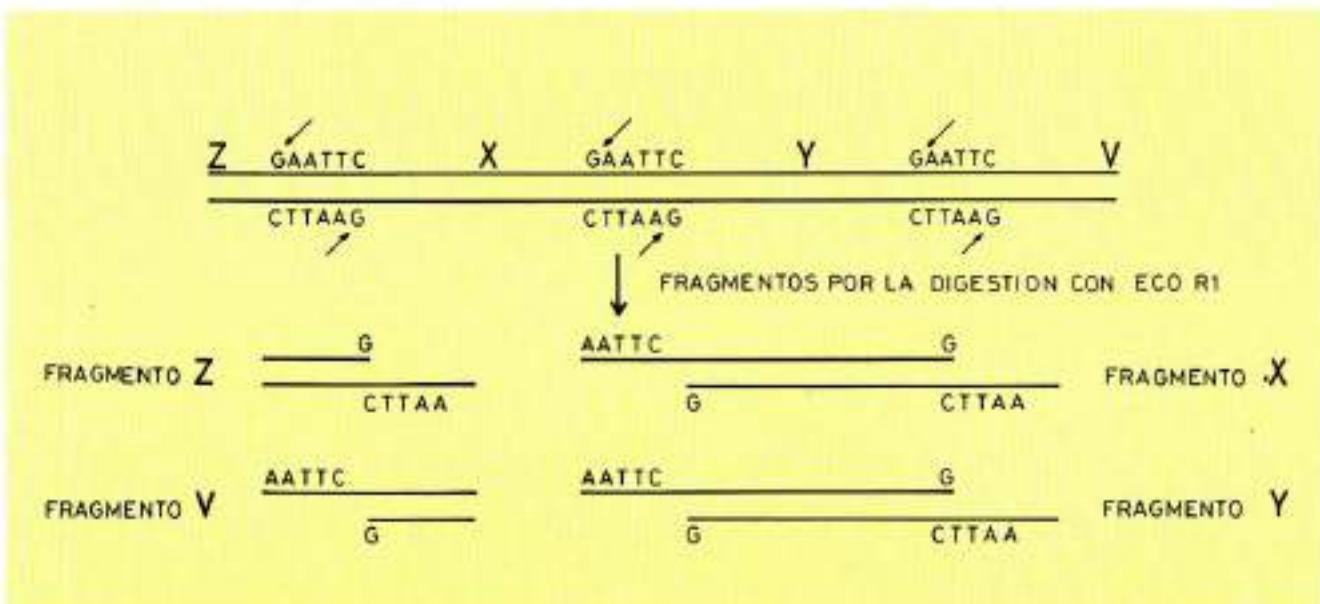


Figura 17

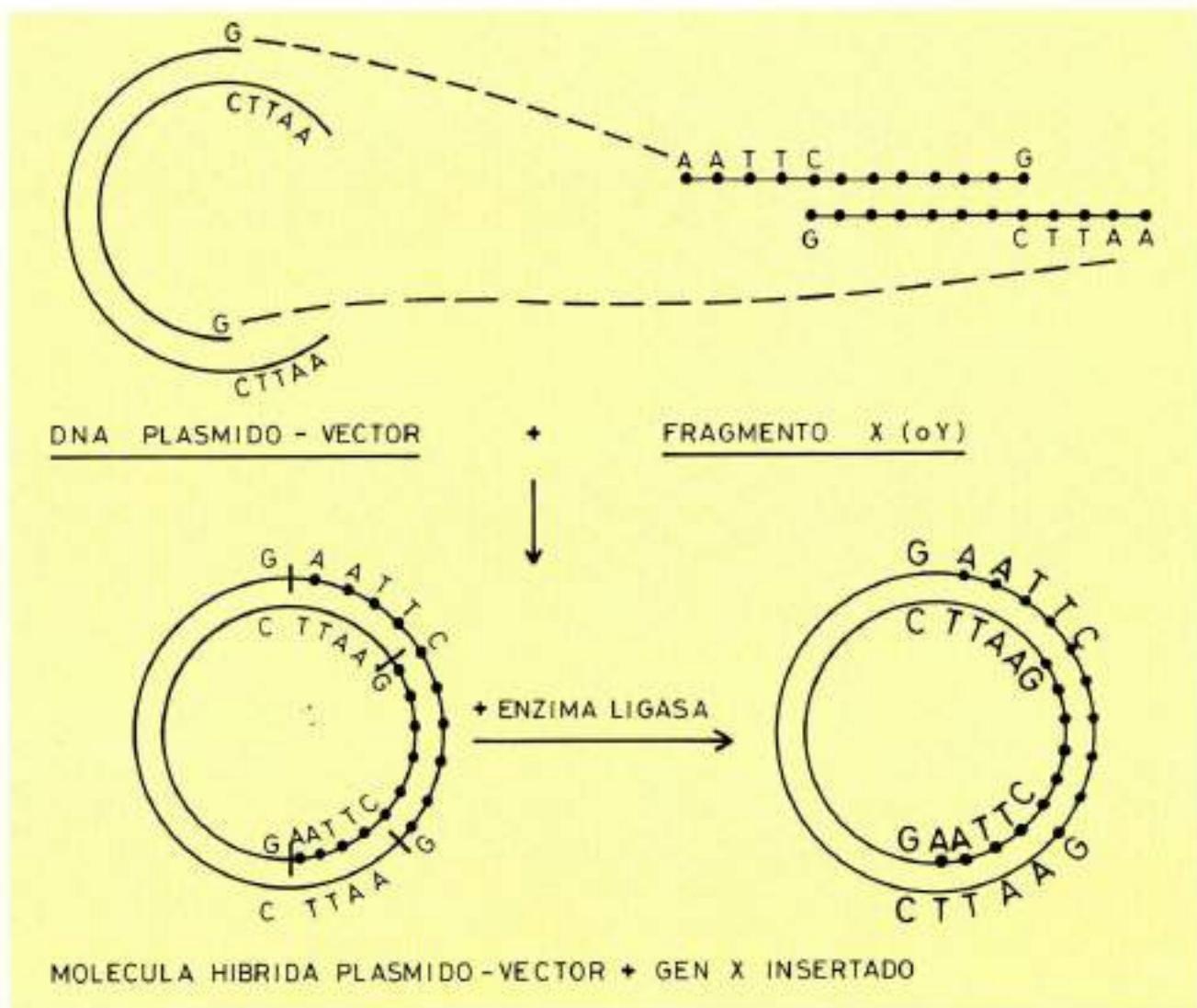


Figura 18

Estos procesos de formación de moléculas híbridas —vector-fragmento de DNA transferido— pueden realizarse también de otras formas y ser muy complicadas desde el punto de vista genético con objeto de obtener mejores vectores y sistemas de transferencia. Evidentemente no se puede en esta visión general detallar estos procesos, pero, en esencia, todos ellos están basados en los mismos principios.

C) *Multiplicación del fragmento del DNA transferido.* La molécula híbrida se introduce en bacterias huéspedes o receptores que al multiplicarse dan como resultado la

multiplicación del fragmento del DNA transferido (Figura 19).

D) *Selección.* Para facilitar el aislamiento de aquellas bacterias que han incorporado moléculas híbridas de plásmido-fragmento de DNA, los plásmidos suelen llevar genes de resistencia a antibióticos. Mediante cultivo de las bacterias en un medio en el cual está presente un antibiótico, solamente las células que han incorporado el plásmido podrán sobrevivir y multiplicarse.

La presencia en el plásmido de más de una característica por las que puedan reconocerse las bacterias transformadas permite que se pue-

da realizar una selección muy definida de aquellas bacterias que poseen el DNA insertado. Una de las investigaciones más intensas en el campo de la ingeniería genética es la de mejorar los vectores de los fragmentos de DNA con objeto de poder amplificar los genes específicos a partir de fragmentos genéticamente más complejos procedentes de células de organismos superiores.

En presencia de algunos antibióticos que permiten la duplicación del DNA plasmídico pero inhiben la síntesis de proteínas y del DNA cromosomal de la bacteria, las moléculas híbridas plásmido-fragmento de

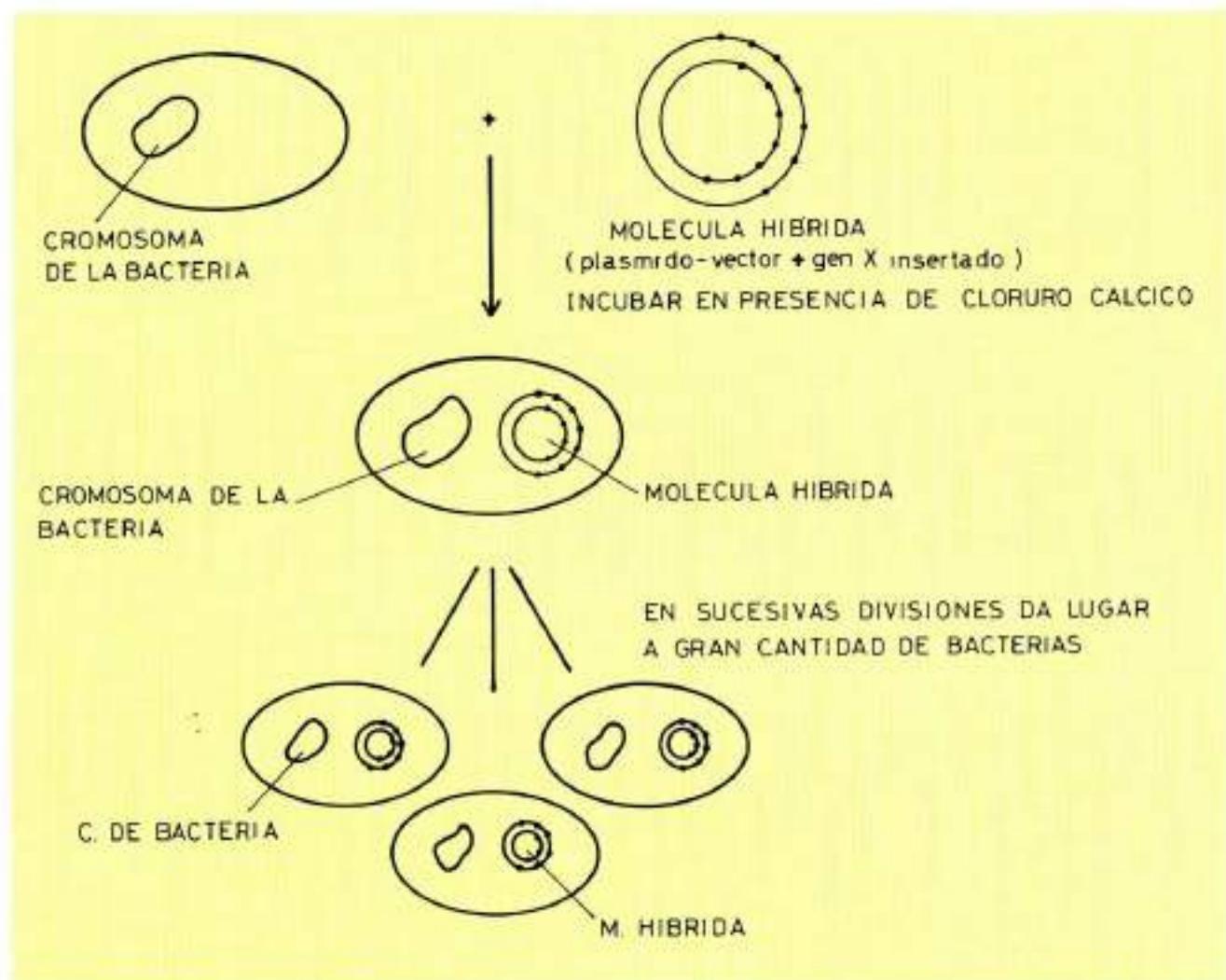


Figura 19

DNA insertado son capaces de reproducirse dentro de la bacteria en un número que puede variar de mil a dos mil veces. Este método se utiliza para enriquecer más el contenido en el DNA insertado.

### Problemas técnicos

De igual forma que es posible transferir genes de bacterias a otras bacterias, o de virus o fagos a bacterias, es posible introducir genes de organismos superiores en bacterias. En este caso, la formación de los productos de estos genes se enfrenta con barreras moleculares, hasta hace muy poco infranqueables. Estas barreras moleculares son consecuencia de que existen

importantes diferencias en la constitución de los materiales genéticos y en los procesos mecánicos de lectura de información contenida en el DNA y su expresión final entre los organismos superiores y las bacterias. Sólo muy recientemente se ha logrado solucionar este problema mediante la síntesis química de genes de organismos superiores y su posterior incorporación a bacterias.

Además de los avances relativos a la adquisición de vectores más eficientes, se tienen que desarrollar procedimientos que permitan seleccionar las células transformadas con genes concretos a partir de una gran población de células. El problema se plantea porque en la mayoría de los casos no se tiene

disponible un gen determinado que pueda ser insertado directamente en un plásmido, sino que con anterioridad ha de ser obtenido del material genético de la célula portadora. Teniendo en cuenta que en una bacteria como *E. Coli* existen aproximadamente 3.000 genes distintos, aproximadamente 15.000 en un insecto como *Drosophila melanogaster*, y al menos 40.000 en las células del organismo humano (Tabla 2), buscar un gen determinado entre todo este conjunto sería como buscar una aguja en un pajar. A pesar de la magnitud del problema existen técnicas controladas bioquímicamente que permiten aislar en forma purificada algunos de estos genes. Si a esta posibilidad se

añade el que fragmentos de DNA o genes químicamente sintetizados se pueden introducir en vectores, al menos teóricamente se puede implantar cualquier información en el material heredable de un organismo. Para no caer, sin embargo, en utopías ni en ciencia aún más allá de la ficción, se ha de decir que el realismo del momento presente fuerza a darse cuenta de que solamente algunos genes pueden ser transferidos y que las funciones biológicas en su mayoría dependen de la interacción de muchos genes, de tal manera que la transferencia de uno solo de los genes, que de entre un conjunto determina una función, no lograría desarrollar una nueva característica en el organismo vivo donde se ha implantado.

La tecnología de ingeniería genética ofrece un modo alternativo de producir grandes cantidades de interferón utilizando células bacterianas. Tanto el gen que lleva la información del interferón de fibroblastos como de leucocitos humanos se ha podido introducir en la bacteria *E. coli* (Figura 20). Estas bacterias así transformadas son capaces de producir moléculas de interferón biológicamente activo. Aunque no está absolutamente comprobado si estos interferones producidos por bacterias tiene actividad antiviral en animales infectados, son capaces de proteger a simios de algunas infecciones virales letales. Puesto que diferentes interferones pueden tener diversos valores adaptativos, es posible pensar que la modifica-

ción y reorganización de estos genes, utilizando técnicas de ingeniería genética, pueda conducir a la formación de nuevos interferones que tengan ventajas funcionales selectivas con actividad antiviral y antitumoral específica.

Ya que se pueden obtener grandes cantidades de la bacteria *E. coli* en cuyo interior se ha introducido la información necesaria para formar los interferones, la producción de estas proteínas puede elevarse hasta límites extraordinariamente elevados con un bajo costo de producción. Si, como se indicó con anterioridad, se requieren dos litros de sangre para producir aproximadamente un microgramo de interferón a partir de leucocitos

## EJEMPLOS PRACTICOS DE LAS TECNICAS EMPLEADAS

### Interferón humano

El interferón comprende una familia de proteínas caracterizadas por su potencialidad de producir en las células una resistencia al ataque por virus. Además los interferones pueden inhibir la proliferación celular y modular de esta manera la respuesta inmune. Por esta causa, el uso de los interferones se extienden muy particularmente al tratamiento de enfermedades virales con posible aplicación terapéutica en células cancerígenas.

La cantidad de interferón que se puede obtener a partir de leucocitos o fibroblastos es relativamente pequeña. Dos litros de sangre humana se requieren para producir aproximadamente un microgramo de interferón a partir de leucocitos. La terapia eficaz de las enfermedades infecciosas sensibles al interferón solamente podría llevarse a cabo en caso de poseer grandes cantidades de esta proteína, lo cual es prácticamente imposible si ha de ser purificada a partir de sangre humana.

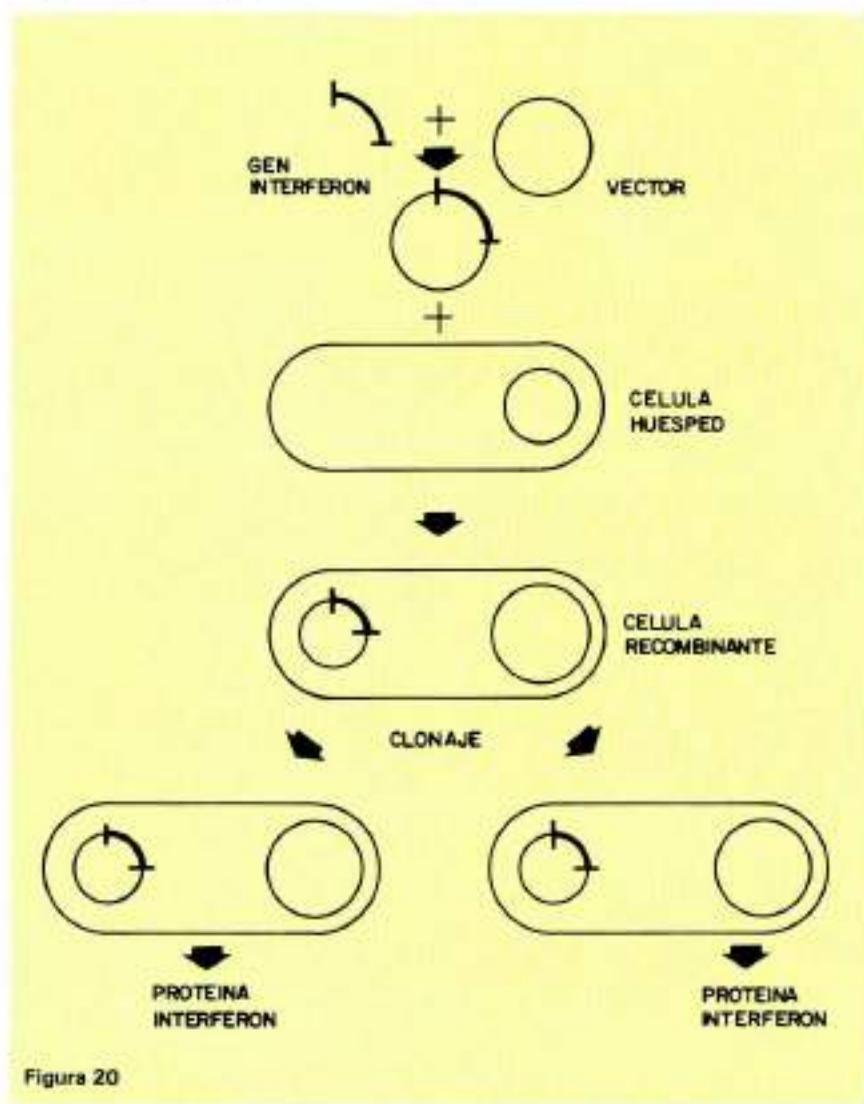


Figura 20

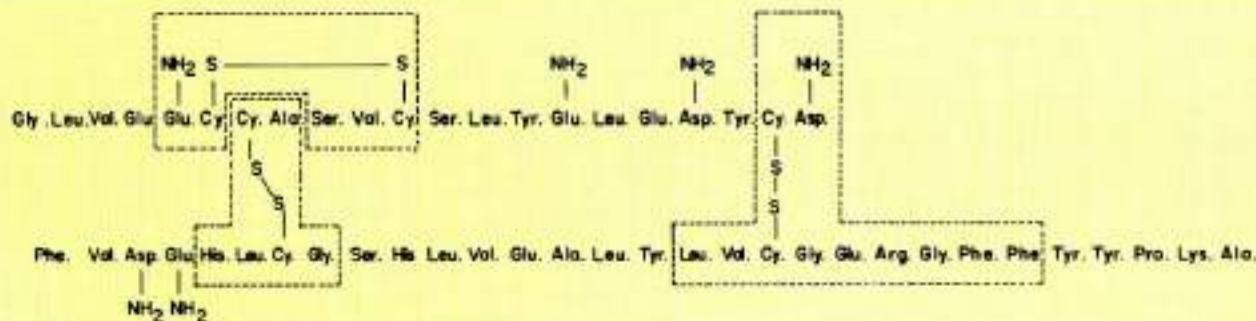


Figura 21. Cadenas A y B del gen de la insulina.

humanos, un litro de cultivo bacteriano puede dar lugar a la producción de 600 microgramos de interferón. Sin embargo, a pesar de estos datos que sin duda alguna se pueden considerar revolucionarios, hacen falta estudios sobre los efectos tóxicos de los interferones producidos por bacterias. Por esta razón es necesario no caer en la fácil tentación de sensacionalismo y demagogia al presentar la producción de interferón como la solución al problema del cáncer. Aún el papel fisiológico del interferón natural en las células productoras (leucocitos o fibroblastos) no está absolutamente definido. Parece ser que el interferón juega un papel importante en la regulación de la replicación de los virus dentro de las células eucarióticas y en la replicación de estas mismas células. Los efectos antitumorales del interferón se deducen de los resultados clínicos y es posible que este tipo de proteínas utilizadas en cantidades terapéuticas vayan acompañadas de reacciones inmunológicas que será necesario controlar. Se ha publicado muy recientemente que aun los interferones naturales (procedentes de leucocitos o fibroblastos) pueden producir antigenicidad. Lo más sorprendente y al mismo tiempo esperanzador es el hecho de que en los enfermos tratados con interferón y curados se encontraron anticuerpos inducidos neutralizadores del interferón administrado.

En resumen, con respecto a los in-

terferones, es necesario decir que estas proteínas con posible actividad antitumoral no estarán disponibles para su uso en cantidades terapéuticas hasta alrededor de 1985. A pesar de la controversia sobre la actividad antitumoral de estas proteínas, no sería consciente ni descartar tal posibilidad porque no ha sido totalmente demostrada, ni pretender que tales proteínas significarán la total erradicación del cáncer. El interferón puede ser uno más de los tratamientos anticancerígenos, quizás el más eficaz.

#### Hormona de crecimiento humana

La hormona de crecimiento humana, que es una proteína de 191 aminoácidos, puede ser producida por la bacteria *E. coli* a la que se ha transferido la información genética de esa hormona. Dado que la hormona de crecimiento humana es una proteína específica de especie, solamente podía ser obtenida a partir de cadáveres humanos, utilizándose para el tratamiento de enanos con deficiencia hipofisaria, para el tratamiento de fracturas de huesos, quemaduras, úlceras, etc.

La transferencia de información de la hormona de crecimiento humana a células de *E. coli* ha significado un paso decisivo en el refinamiento de las técnicas de ingeniería genética. El gen insertado en la bacteria se había construido mediante la unión

de dos fragmentos de DNA, uno de ellos natural (sintetizado bioquímicamente a partir de mRNA de la hormona de crecimiento humana) y otro sintetizado químicamente. Con objeto de que la bacteria efectuase una lectura correcta del gen insertado dentro de ella, utilizando como vector un plásmido, fue necesario insertar también en la molécula del plásmido y cerca del gen transferido, un fragmento de DNA que sirviera como iniciador de la lectura del gen. En estas condiciones la cantidad de hormona de crecimiento producida en cada una de las células llega hasta alcanzar la cifra de 186.000 moléculas por célula.

#### Insulina humana

Probablemente el desarrollo más espectacular de la ingeniería genética con respecto a la producción de proteínas mediante transferencia de información genética a la bacteria *E. coli*, es la producción de insulina humana. Esto se ha logrado mediante transferencia de información sintetizada químicamente.

La posibilidad de transferencia de genes sintetizados químicamente fue primeramente demostrada con respecto al gen que codifica la hormona humana llamada somatostatina. La síntesis del gen de la somatostatina pudo realizarse con cierta facilidad puesto que esta hormona se compone de una secuencia rela-

tivamente corta de aminoácidos. A partir de esta secuencia de aminoácidos, y con la ayuda del código genético, se especuló cuál podría ser la secuencia de nucleótidos que llevase la información para la síntesis del péptido (Figura 21).

A partir de este momento se desarrollaron técnicas específicas para la síntesis química del gen de la insulina. Esta hormona proteica se compone de dos cadenas llamadas A y B. La A está formada por 21 aminoácidos y la B por 30 aminoácidos. Conocida la secuencia de aminoácidos de cada cadena, se

sintetizaron químicamente los fragmentos de DNA que codificasen la información de cada una de ellas. Se construyeron dos plásmidos diferentes: a uno de ellos se le transfirió el fragmento de DNA que llevaba la información para la síntesis de la cadena A y al otro se transfirió la información de la cadena B. Estos plásmidos se insertaron en bacterias distintas. La rápida multiplicación de las bacterias condujo a la producción de grandes cantidades de los fragmentos A y B de la insulina. Puesto que la insulina nativa, en el organismo, está formada por estas dos cadenas unidas entre sí

(unión necesaria para la actividad), era necesario unir las cadenas A y B, producidas por las bacterias, de una forma similar a como se encuentran en el organismo (Figura 22). El empleo de sustancias apropiadas consiguió que esta unión se realizara con un 50-80% de eficiencia. En estas condiciones, la cantidad de insulina activa obtenida puede alcanzar hasta los 10 miligramos por 24 gramos de peso húmedo de células de *E. coli*.

Existen otros métodos para la producción de insulina, transfiriendo a bacterias el gen humano.

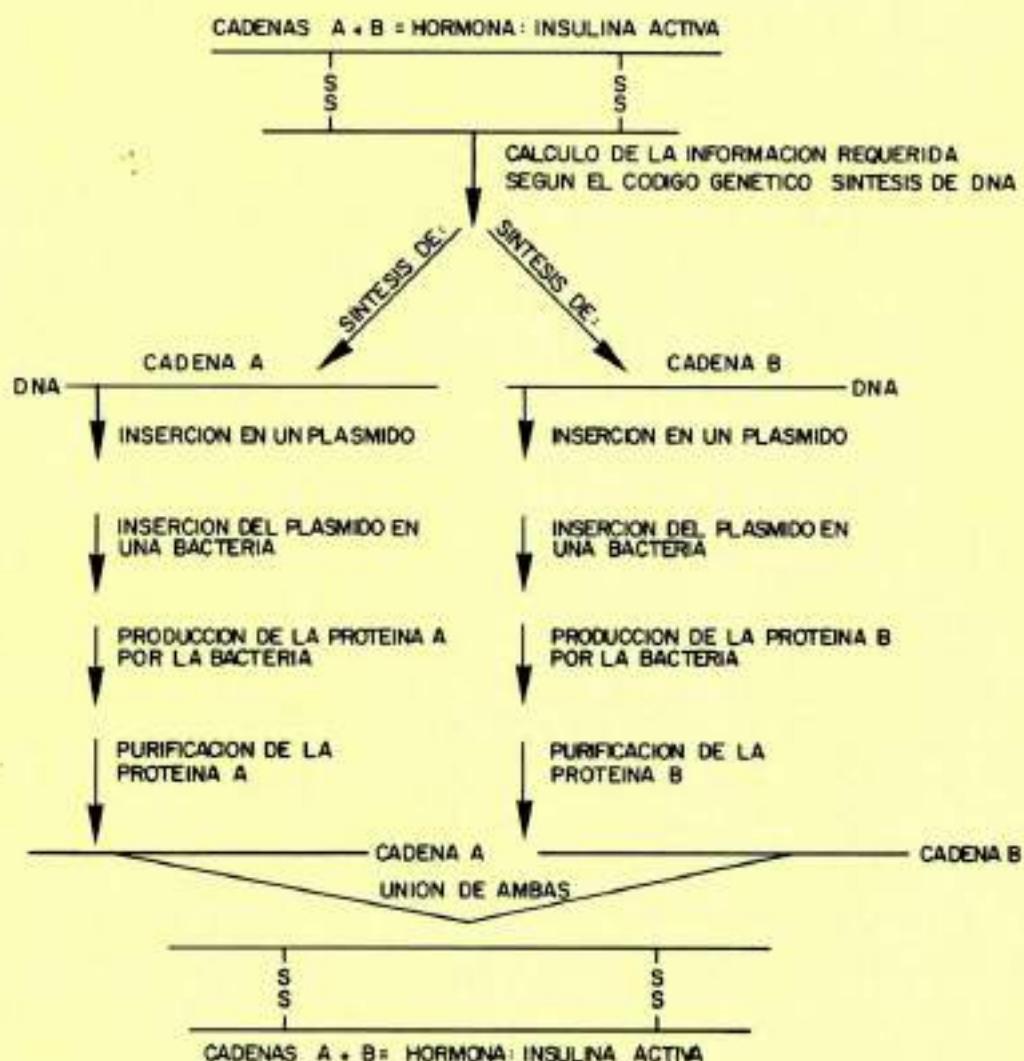


Figura 22

## TRANSFERENCIA DE DNA A CELULAS DE ORGANISMOS SUPERIORES

### TECNICAS

#### Vectores

Los vectores para transferencia de DNA a células de organismos superiores: levaduras, células animales y células vegetales, no están tan desarrollados como los vectores para transferencia de DNA a bacterias, siendo este un área muy activa de investigación. En general, los tipos de vectores utilizados son plásmidos (levaduras) o virus (células animales o vegetales).

Las levaduras pueden tomar DNA directamente del medio, incorporarlo en la formación de plásmidos híbridos de *E. coli*-levadura y en plásmidos de levadura. Las levaduras pueden tomar directamente DNA en ausencia de su pared celular exterior y en presencia de calcio. Introduciendo el DNA de levaduras en plásmidos de *E. coli* pueden propagarse éstos en *E. coli* y después de aislarlos, usarse para transferir DNA a las levaduras. Se obtienen, así, bajos porcentajes de integración de los plásmidos híbridos en el DNA de la levadura. Por último, se ha descubierto en levaduras la existencia de plásmidos internos independientes del resto del DNA que están presentes en unas 100 copias por célula. Utilizando estos plásmidos, los porcentajes de transformación aumentan drásticamente. Sin embargo, las cepas de levaduras así transformadas no son estables y pierden fácilmente el DNA incorporado.

Las células de mamífero aceptan fragmentos de DNA de origen extracelular a una frecuencia muy baja. Esto es debido, en parte, a que el mecanismo de introducción de DNA en el interior de las células en cultivo es complejo, y en parte a que solamente una proporción pequeña de las células es capaz de

aceptar esos fragmentos. Es además difícil encontrar mutantes apropiados de células de mamíferos que permitan la selección correcta de aquellas células que han incorporado los fragmentos de DNA. Un modo de introducir fragmentos de DNA en células de mamíferos que tiene la ventaja de dar un sistema de selección al mismo tiempo que un gran porcentaje de transformación, es el uso como vectores de ciertos virus de DNA tales como el SV40 y polioma. Otro sistema de transformación de células de mamíferos ha utilizado el virus herpes, como vector. Este virus tiene un gen llamado timidina quinasa. Si se utilizan células de mamíferos deficientes en timidina quinasa para ser transformadas, solamente aquellas células en las cuales se ha introducido el vector que contiene este gen pueden sobrevivir y por consiguiente ser seleccionadas en los medios apropiados.

Aunque en la actualidad no existen vectores suficientemente desarrollados para la transferencia de DNA a células vegetales, hay dos posibles candidatos: los virus vegetales y los plásmidos bacterianos. Los virus vegetales hasta ahora estudiados presentan varios problemas para su uso como vectores, tales como: pérdida de infectividad al añadirles DNA; demasiados sitios de restricción; falta de evidencia de integración en el DNA del huésped; falta de ensayos para identificar mutantes, etc. Aunque muchos de estos problemas son atacables con la tecnología actual, se necesita tiempo y esfuerzo para el desarrollo de los virus vegetales como vectores. Otro tipo de vector ya utilizado con cierto éxito proviene de la bacteria *Agrobacterium* que infecta numerosas plantas produciéndoles tumores. El mecanismo mediante el cual estas bacterias causan tumores a las plantas es la transferencia de fragmentos de sus plásmidos a las células vegetales. Todavía no se dispone de suficiente información para evaluar el uso potencial de este plásmido como vector.

#### Huéspedes

Aunque las técnicas de transformación están bastante controladas respecto a la transferencia de genes a bacterias, estas mismas técnicas son más complicadas cuando la transferencia se pretende hacer a células más complejas como son las levaduras y las células animales y vegetales.

Para poder transformar las células de levaduras es necesario primero digerir enzimáticamente su pared celular. Los llamados esferoblastos resultantes de la digestión de la pared celular se incuban con el DNA que se quiere insertar en presencia de cloruro cálcico. El uso de una sustancia llamada etilenglicol facilita la toma de los fragmentos de DNA. Una vez tratados con DNA, los esferoblastos se cultivan en un medio apropiado que los estabiliza y seguidamente se seleccionan las células viables.

Si el fragmento de DNA que se ha deseado incorporar dentro de la levadura puede replicarse de una manera autónoma, puede transformarse uno de entre cada mil o diez mil esferoblastos. Si, por otro lado, el fragmento de DNA que se ha deseado incorporar dentro de la levadura no puede replicarse autónomamente, sino que se ha incorporado dentro del cromosoma de la levadura, la transformación ocurre en una célula de cada 10 millones de esferoblastos. Puesto que la fracción de esferoblastos que han sido transformados es muy pequeña, se requiere una selección. Si la selección se realiza con éxito, de tal manera que solamente se obtienen células de levadura que han sido transformadas, el producto del fragmento de DNA incorporado dentro de la levadura, puede obtenerse teóricamente en cantidades ilimitadas.

De una manera similar a como se realiza la transformación de células de levaduras, se puede llevar a cabo la transformación de células animales. Las células animales no

tienen pared celular y toman más fácilmente el DNA externo. La nueva información genética se integra dentro del cromosoma de la célula.

La expresión del gen incorporado, es decir, la nueva función generada, restaura la función que faltaba en las células en el caso de que éstas no tuvieran el fragmento de DNA que se ha insertado. Fácilmente se puede comprobar, por consiguiente, la trascendencia de este tipo de inserción de genes dentro de las células animales, desde un punto de vista médico.

Las células vegetales ofrecen una serie de barreras a la introducción del DNA exógeno:

- Presencia de enzimas degradadoras y proteínas bloqueadoras de DNA en la pared celular.
- Presencia de la misma pared celular que ofrece una barrera mecánica a la entrada de DNA.
- Presencia de enzimas de degradación interna del DNA una vez que ha logrado entrar en la célula.

Estos problemas hacen que para transferir DNA a estas células haya que utilizar esferoblastos, es decir células a las que se les ha eliminado la pared celular. Aun así, todavía quedan muchos problemas que resolver en este campo. Una de las ventajas teóricas de la transformación de células vegetales es la posibilidad de reproducir plantas enteras a partir de una sola célula transformada mediante cultivo. Esto hace relativamente fácil la regeneración, propagación y el análisis de las plantas "diseñadas" a través de la ingeniería genética.

### Etapas

Las etapas generales para la transferencia de DNA a células de organismos superiores son esencialmente las mismas que para transferir el DNA a bacterias, es decir:

- A) Preparación de los vectores.
- B) Transferencia del DNA al vector.
- C) Multiplicación del fragmento de DNA transferido.
- D) Selección.

### EJEMPLOS PRACTICOS DE LAS TECNICAS EMPLEADAS

#### Tratamiento de enfermedades de las células de la sangre

Cline y sus colaboradores en 1980 transformaron por primera vez células de médula ósea con DNA en solución. Las células transformadas pudieron ser seleccionadas de entre el conjunto de células tratadas por su resistencia a una droga anticancerígena. Si las células transformadas habían incorporado el gen DHFR (Dihidrofolato reductasa) podían ser visualizadas y obtenidas porque podían sobrevivir en presencia de la droga. Como material utilizado para transformar estas células, Cline y sus colaboradores utilizaron DNA de células de ratón en los cuales los genes DHFR habían sido amplificados 30 veces.

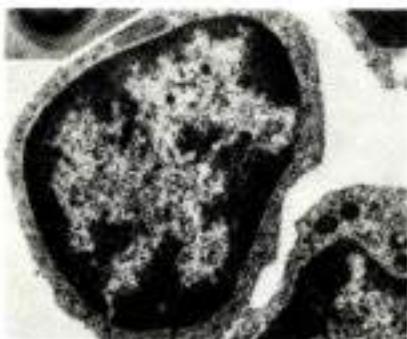


Figura 23

En el momento presente solamente en la médula ósea se puede considerar la posibilidad de reimplantar genes con objeto de corregir algunas enfermedades hereditarias de las células de la sangre, puesto que las células de la médula ósea pueden ser extraídas con relativa facilidad y posteriormente reimplantadas (Figura 23).

#### Tratamiento de la Talasemia

Los investigadores de la Universidad de California en Los Ángeles decidieron desarrollar un tratamiento que pudiese subsanar la deficiencia de la cadena  $\beta$  de la globina que da lugar a una enfermedad llamada Talasemia. El tratamiento está basado en la inserción de copias de genes humanos que llevan la información para la producción de la globina  $\beta$  en células enfermas y la posterior inserción de las células receptoras en la médula ósea. Se introduciría igualmente en las células que habían recibido el gen de la globina  $\beta$  un segundo gen que les daría ventaja selectiva con respecto a las células de la médula ósea no tratadas, por lo que aquéllas se multiplicarían más rápidamente que estas últimas. Aproximadamente 10.000 células del total de las células reinsertadas en la médula ósea contenían ambos genes en su interior. Si una sola de estas células pudiera fijarse y proliferar en la médula ósea, el paciente tendría en su torrente sanguíneo cantidades suficientes de globina  $\beta$  y su enfermedad habría sido erradicada. Desgraciadamente esta terapia basada en ingeniería genética no ha dado resultados satisfactorios hasta el momento presente.

Una pregunta que todavía no ha recibido respuesta y que es crucial, en cuanto al aspecto clínico de este tipo de terapia genética, es la de saber si es posible mantener en el gen reinsertado el control correcto de su expresión. Es absolutamente esencial que estos genes se expresen

sen de la misma manera en las células receptoras a como lo hacen en las células normales de donde derivan. Evidentemente la expresión de estos genes en un tejido no apropiado o bajo un control anormal, puede ser médicamente desastroso. Es de sobra conocido el hecho de que la superproducción de una enzima puede en muchas circunstancias ser tan perjudicial como la deficiencia.

### Síndrome de Lesch-Nyhan

El síndrome de Lesch-Nyhan da lugar a personas que poseen unas características determinadas en cuanto a deficiencia mental y malformaciones externas. A nivel molecular, las células de estas personas carecen del gen HGPRT (Hipoxantina guanosina fosforribosil transferasa) y de la enzima codificada por él.

Uno de los ejemplos más espectaculares que se ha logrado respecto a la transformación de células de mamíferos es la introducción en células de personas con el síndrome de Lesch-Nyhan del gen HGPRT de bacterias. Como resultado de la deficiencia en el gen antes citado, las células procedentes de pacientes con el síndrome de Lesch-Nyhan no pueden crecer en un medio de cultivo selectivo. Sin embargo las células, una vez transformadas con el gen bacteriano, pueden crecer en este mismo medio. Estos resultados abren perspectivas nuevas a la terapéutica de las enfermedades hereditarias al mismo tiempo que posibilitan el estudio del control de la expresión de los genes en las células de mamíferos.

### Mejora del valor nutritivo de la soja

Las investigaciones que tienden a desarrollar vehículos transportadores de genes a células vegetales o a promover la inserción de genes en

el cromosoma de una célula vegetal deficiente tendrán grandes aplicaciones en Agricultura.

Un ejemplo de este potencial son las investigaciones de la Universidad de Connecticut para conseguir variedades de soja con altos porcentajes de metionina (un aminoácido esencial para el hombre y cuyo contenido en la soja es demasiado bajo). Los estudios pretenden aumentar, por métodos de ingeniería genética, el contenido de la proteína ureasa, rica en metionina, para así aumentar el valor nutricional de la soja. Este proyecto incluye:

- Caracterización de la síntesis y regulación de ureasa en cultivos de células de soja.
- Construcción de mutantes reguladores de ureasa (usando clonaje del DNA de soja).
- Regeneración de plantas completas a partir de células productoras de grandes cantidades de ureasa.
- Evaluación de la expresión y transmisión del nuevo carácter de plantas de soja.

Hasta el momento se ha avanzado algo en los dos primeros pasos, consiguiéndose aislar el gen de la ureasa; sin embargo, quedan aún muchos problemas por resolver. Aun cuando este tipo de aplicaciones se encuentra en fase incipiente, es ejemplo ilustrativo de lo que será el tipo de experimentación en este campo durante la próxima década.

### Problemas técnicos

En este área abundan los problemas técnicos dado que la transferencia de DNA a levaduras, células animales y células vegetales, constituyen temas de investigación actual. A modo de ejemplo podemos señalar los siguientes:

- Falta de los vectores adecuados.
- Falta de datos precisos sobre el funcionamiento de los genes de organismos superiores.

- Bajos porcentajes de transformación.
- Dificultades en la obtención y propagación de huéspedes mutantes para efectuar la selección.
- Control multigénico de los caracteres biológicos.

## TRANSFERENCIA DE DNA POR FUSION CELULAR (HIBRIDOMAS)

Una de las mayores aplicaciones de la tecnología de los hibridomas es la producción de anticuerpos, tema al que se va a restringir esta exposición.

### Técnicas

Cuando se introducen en el torrente sanguíneo de un animal elementos extraños, su cuerpo produce sustancias (anticuerpos) que reaccionan contra ellos bloqueándolos. Este fenómeno se conoce con el nombre de respuesta inmune y la ciencia que lo estudia se conoce con el

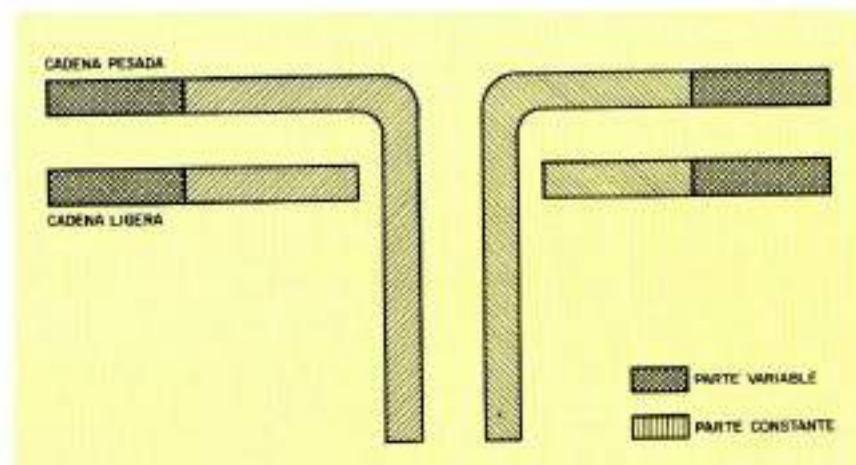


Figura 24. Anticuerpo.

nombre de Inmunología. Aunque la estructura del anticuerpo se conocía desde hace varios años (Figura

24), ha sido únicamente en los dos últimos años, cuando se ha podido detectar las reorganizaciones del material genético de las células del sistema inmune que dan lugar a que cada célula segregue un determinado anticuerpo. El cuándo, el cómo, y el porqué se origina una línea celular productora de un anticuerpo concreto no está dilucidado.

Un solo antígeno es capaz de dar lugar a la producción de varios anticuerpos según el número de los llamados determinantes antigénicos puesto que cada determinante antigénico del antígeno induciría un anticuerpo distinto (Figura 25). Cada anticuerpo es producido por un clon celular de linfocitos distinto. La respuesta inmunológica a un antígeno es, pues, una respuesta múltiple y compleja. La extraordinaria especificidad de los anticuerpos los ha convertido en instrumentos envidiables para reconocimiento, cuantificación y aislamiento tanto de células como de proteínas individuales. Sin embargo, los anticuerpos originados en un animal como respuesta a un antígeno concreto no se encuentran en una forma purificada u homogénea, sino mezclados dentro de una gran variedad de moléculas anticuerpo que difieren en cuanto al reconocimiento de los antígenos, y que, aun reconociendo un mismo antígeno, lo hacen en lugares distintos y con distinta afinidad. Este hecho ha representado

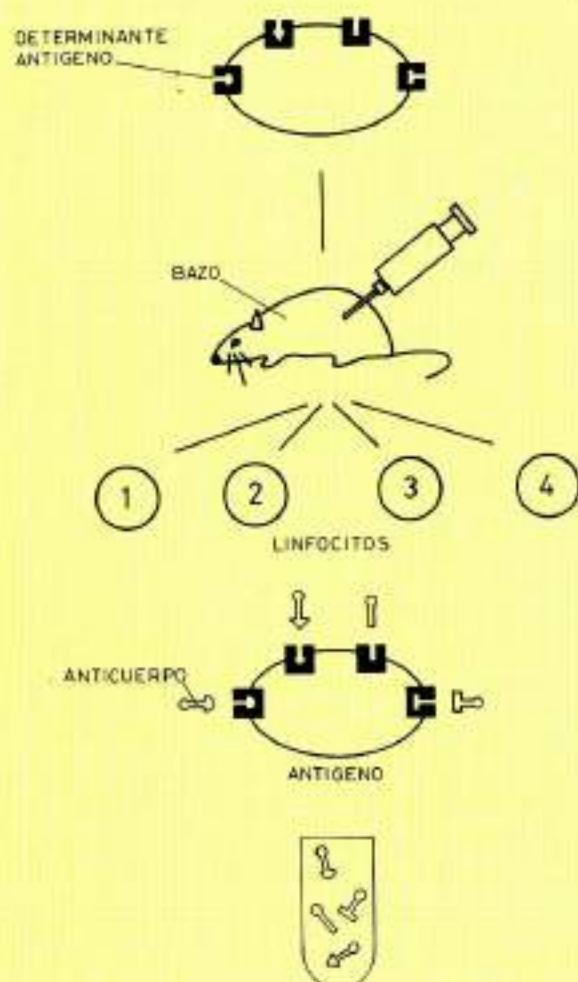


Figura 25

una barrera infranqueable, hasta muy recientemente, al estudio molecular de determinados componentes del sistema inmune.

Tal barrera ha sido franqueada por los recientes descubrimientos publicados por Milstein sobre producción de líneas celulares, llamadas hibridomas, capaces de producir una única especie molecular de anticuerpos y capaces de ser mantenidas indefinidamente en animales de experimentación o cultivos celulares. Los anticuerpos formados por cada una de estas células se llaman monoclonales puesto que proceden de una única línea celular o clon (Figura 26).

Desde un punto de vista restringido, la técnica de formación de anticuerpos mediante hibridomas no entra dentro de lo que propiamente se podría llamar ingeniería genética. Ahora bien, puesto que se realiza mediante la fusión de dos células, una de ellas productora de anticuerpos y la otra de características tumorales (mieloma), la construcción de estas células híbridas productoras de anticuerpos monoclonales supone la transferencia de la información de una célula a otra. Ya que esta transferencia, aunque producida por medios naturales, ha sido artificialmente estimulada, es justificable la inclusión de las técnicas de formación de anticuerpos monoclonales dentro del concepto de ingeniería genética, en un sentido amplio.

La originalidad del método de Milstein para la formación de hibridomas reside en la ingeniosidad de perpetuar las células formadoras de anticuerpos mediante su fusión con células tumorales que tiene la capacidad de multiplicarse indefinidamente. Las células normales formadoras de anticuerpos no tienen esta capacidad. Después de producir la fusión celular entre las células productoras de anticuerpos y las células tumorales, hace falta seleccionar aquella célula o línea celular que produce el anticuerpo deseado. Existen técnicas bioquímicas que

permiten realizar esta operación con éxito (Figura 26). Una vez seleccionada la célula híbrida, se puede conservar por largos períodos en un medio de cultivo apropiado o de manera indefinida mediante su congelación. Pueden además inyectarse estas células híbridas en

animales de experimentación del mismo tipo que los que suministraron las células originales. Estos animales desarrollan tumores formados por la proliferación de las células híbridas inyectadas, que segregan el anticuerpo específico producido por ellas.

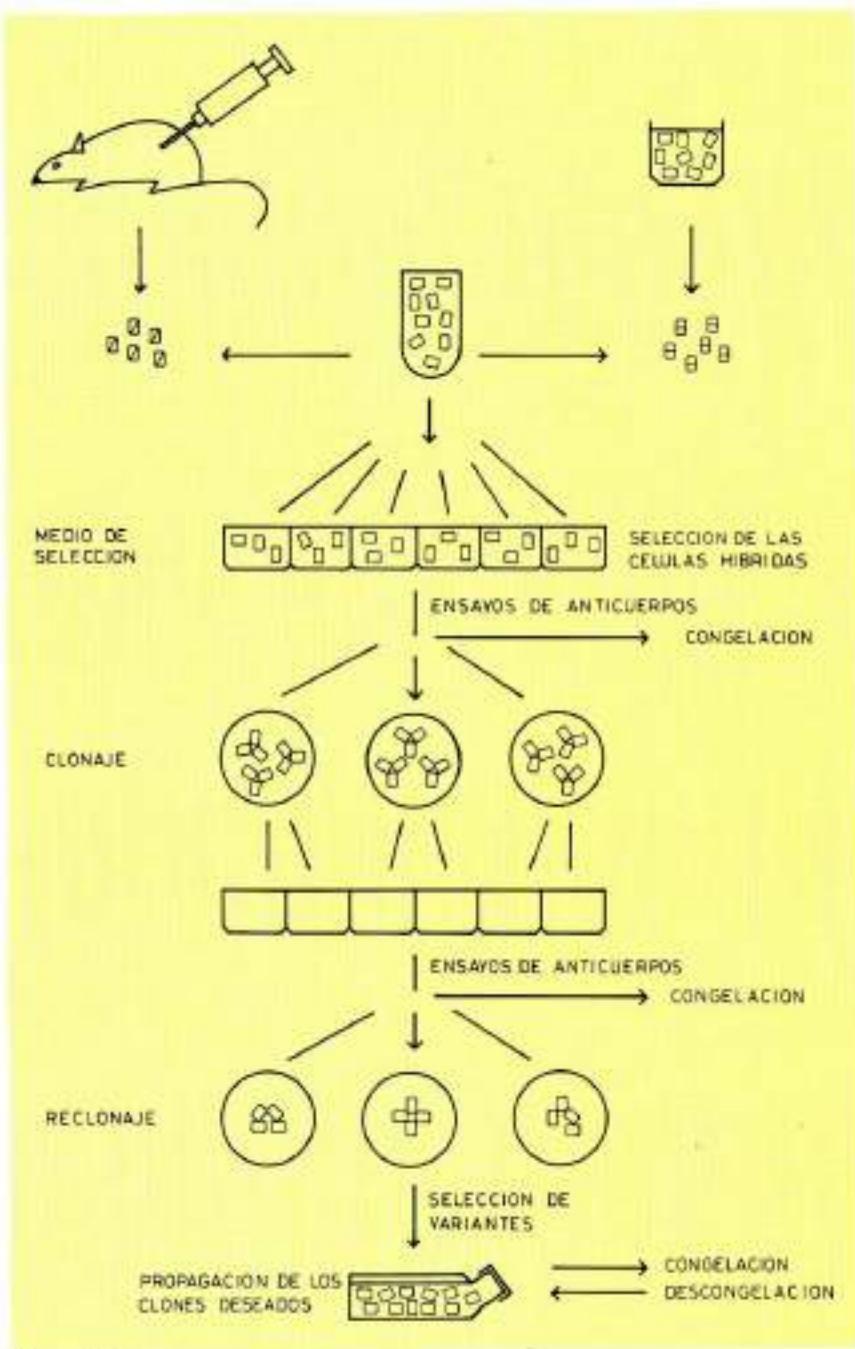


Figura 26

## EJEMPLOS PRACTICOS DE LAS TECNICAS EMPLEADAS

### Diagnóstico de enfermedades

Los anticuerpos monoclonales están sustituyendo poco a poco a los anticuerpos usados convencionalmente, tanto en ensayos clínicos, como en investigación fundamental. Puesto que pueden producirse en grandes cantidades, es previsible que su uso se extienda notablemente como método de diagnosis.

### Determinación de grupos sanguíneos

El ejemplo más típico reside en el ensayo de los grupos sanguíneos A, B, AB y O. Los anticuerpos contra los antígenos A y B de los eritrocitos se obtienen normalmente a partir de suero humano. La presencia en el suero humano de otros tipos de anticuerpos no deseados podría oscurecer la reacción anti-A o anti-B, razón por la cual los anti-B o anti-A no pueden ser obtenidos a partir de inmunización de animales de laboratorio.

### Pruebas para trasplantes

Probablemente uno de los mayores impactos de los anticuerpos monoclonales, en investigación fundamental, está en la posibilidad de obtener anticuerpos monoclonales contra antígenos de histocompatibilidad. Este hecho permitirá detectar los marcadores celulares que establecen la identidad individual de determinadas células. Se tienen puestas grandes esperanzas en la aplicación de estos principios a trasplantes de órganos, aunque esto sólo constituya un aspecto de lo que debiera ser la normalización a gran escala de la clasificación de tejidos.

### Tratamiento contra células tumorales

Se está trabajando en la posible utilización de los anticuerpos monoclonales en terapia directa, cuya aplicación inmediata será la inmunización pasiva (inyección de un anticuerpo al paciente). En terapia tumoral se anuncian ya dos funciones para los anticuerpos monoclonales. Una de ellas se relaciona con el mecanismo de acción de drogas tóxicas antitumorales: los anticuerpos contra antígenos específicos del tumor podrían unirse a las moléculas de la droga para reforzar la acción de ésta. La segunda sería un método alternativo por el cual podrían fabricarse anticuerpos anti-tumor que localizarían y atacarían las células malignas.

Uno de los problemas relativos a la aplicación de anticuerpos monoclonales en el campo de la terapia humana reside en el hecho de que estos anticuerpos, casi todos los hasta ahora obtenidos, no proceden de linfocitos humanos sino de linfocitos de ratón o de rata que se han fusionado con células tumorales (mieloma). Los intentos hasta ahora realizados con objeto de producir células híbridas humanas (linfocitos humanos y mielomas de ratón o rata) no han tenido éxito ya que cuando se fusionan las células humanas con mielomas de ratón o de rata se produce una pérdida preferencial de los cromosomas humanos en las células híbridas. La utilización de anticuerpos monoclonales producidos por linfocitos de ratón o de rata, en organismos humanos, podrían dar en el sistema inmune respuestas no deseables. Se ha empezado, sin embargo, a utilizar recientemente una estirpe mieloide humana capaz de fusionarse con linfocitos humanos aunque estos resultados son todavía muy preliminares.

En el campo de la investigación sobre el cáncer se ha realizado en los últimos años progresos sustanciales con respecto a la caracterización de las células cancerosas, al

análisis de la acción de ciertos virus productores de tumores y al establecimiento de la relación existente entre mutagénesis y carcinogénesis. Muchas son las preguntas que se podrían hacer con respecto a la utilidad de los anticuerpos monoclonales y antígenos de superficie; algunas de las fundamentales serían: la de tratar de saber qué tipos de alteraciones contribuyen a la carcinogénesis; si estas alteraciones pueden ocurrir sin un cambio genético; el por qué las células cancerosas dejan de responder a los mecanismos de control de crecimiento de las células normales; si cambios en las propiedades de superficie de las células hacen que las células cancerosas rebasen sus límites en el tejido original, y si los antígenos (o sus correspondientes anticuerpos) de las células cancerosas podrían servir de base para una terapia inmunológica de tumores particulares.

Un problema central en la terapia del cáncer es la falta de selectividad de las drogas anticancerígenas. Un intento de mejorar esta selectividad lo constituye la unión de las drogas a anticuerpos contra antígenos de superficie asociados a tumores. Hasta el momento los complejos formados droga-anticuerpos no han dado mucho éxito en tratamientos *in vivo*, a pesar de que esos complejos tenían alta selectividad en experimentos *in vitro*. Con objeto de mejorar la selectividad y destrucción de células tumorales mediante los complejos droga-anticuerpos, varios laboratorios han formado complejos droga-anticuerpos monoclonales. Estos complejos parecen ser activos, de alta selectividad, y destruyen células tumorales tanto *in vitro* como *in vivo*. Evidentemente existen limitaciones terapéuticas al uso de estos complejos, dado que las toxinas utilizadas para formar las moléculas híbridas son generalmente de origen vegetal y por lo tanto proteínas extrañas al organismo humano que pueden activar el sistema inmune que neutralizaría su efecto.

### III. SEGURIDAD BIOLÓGICA

A pesar, sin embargo, de estas y otras muchas más limitaciones de estos tratamientos, no parece que se pueda poner en duda que la posibilidad de formación de anticuerpos monoclonales contra antígenos de superficie específicos ha abierto un nuevo campo en el tratamiento de las células tumorales.

#### RIESGOS DE LA INGENIERIA GENÉTICA

La Ingeniería Genética y sus métodos han suscitado una amplia controversia en cuanto al daño potencial que pueden originar a los seres vivos, en concreto al hombre, y al medio ambiente. Dado que las especies naturales a lo largo de la evolución han organizado y retenido su propia identidad a través de muchas generaciones como resultado de su adaptación a un medio ambiente concreto, estos sistemas ecológicos han supuesto claras barreras para la formación de organismos nuevos no adaptados. La creación artificial de nuevos organismos, no originados por evolución natural, supondrá la ruptura de controles naturales al introducir dentro del sistema ecológico organismos que de otra manera no podrían haber sido formados. Al mismo tiempo, el intercambio de genes entre organismos no relacionados y que de una manera natural no podrían intercambiar su material genético, pone en manos del hombre una tecnología capaz de crear nuevas formas de vida. Este proceso que puede llevar a un cambio en el sistema de equilibrio biológico, originado durante millones de años por los procesos evolutivos, establece la posibilidad de seleccionar genes, introducirlos en los organismos nuevos y dar lugar a que existan en dichos organismos nuevas potencialidades con efectos impredecibles.

Mientras que la seguridad de este tipo de investigaciones ha sido ampliamente discutida, hay un acuerdo bastante sustancial con respecto a los beneficios potenciales que de ellas se derivan. Es posible implantar en bacterias genes que especifiquen la producción de algunas sustancias, importantes desde el punto de vista sanitario o industrial, en bacterias haciendo posible una producción masiva de estos productos. Además, por primera vez en la historia de la ciencia, se puede dispo-

ner de grandes cantidades de fragmentos de DNA de un tipo específico (genes). De esta manera se pueden llevar a cabo análisis químicos obteniéndose información sobre la estructura del material genético, sobre los sistemas de información codificados en él, y sobre los mecanismos de control de la expresión de los genes.

Estas técnicas de ingeniería genética tendrán aplicaciones comerciales incalculables. No está claro, sin embargo, cuándo esta tecnología será capaz de poner un producto en el mercado. Algunas proteínas tales como la insulina y el interferón serán producidos de una manera masiva utilizando estas técnicas. De hecho existe en el momento presente la tecnología necesaria para la superproducción de proteínas y para alterar genes determinados con objeto de mejorar la información contenida en su estado nativo. Sin duda alguna todos estos desarrollos tendrán un aspecto positivo en el progreso de la Biología y en sus aplicaciones.

La evidencia experimental de estos últimos años en ingeniería genética ha hecho disminuir la preocupación inicial por la seguridad de este tipo de tecnología. Se ha comprobado, en términos generales, que aunque los peligros potenciales eran razonables, en la práctica no se han dado. Incluso se ha advertido que las nuevas células originadas por transferencia de genes no tienen ninguna ventaja selectiva respecto a la célula original, sino todo lo contrario, siendo un problema actual el cómo conservar estos nuevos genes para evitar la pérdida de las ventajas de producción que se habían conseguido.

## PRECAUCIONES EN LA EXPERIMENTACION

Debido a los riesgos antes mencionados es necesario tomar precauciones en este tipo de trabajos para evitar escapes incontrolados y proteger el ambiente de las nuevas cepas bacterianas originadas por esta tecnología. Actualmente se dispone de varios medios para disminuir la probabilidad de que una de estas nuevas cepas escape al control y, por lo tanto, disminuir aún más el riesgo de que una de estas cepas sea patógena para los animales o para el hombre. Los medios de seguridad empleados son de dos clases: medios físicos y medios biológicos.

Los medios físicos para efectuar este tipo de experimentación se han compilado en la Guía del National Institute of Health (Maryland, U.S.A.). Los medios van desde los métodos clásicos utilizados para experimentos microbiológicos (llamados niveles  $P_1$  y  $P_2$ ) hasta los métodos más cuidadosos empleando cabinas especiales, habitaciones a presión reducida, aislamiento, etc utilizados para experimentación de los agentes implicados en la guerra biológica (llamados  $P_3$  y  $P_4$ ). Nadie espera que estos medios físicos sean perfectos y de hecho los que trabajan incluso en los niveles más protegidos terminan siendo infectados por los microorganismos, por lo que se les vacuna previamente.

La falta de confianza en la efectividad total de los medios físicos ha hecho que se consideren medios biológicos como otro método adicional para aumentar la seguridad. Estos métodos biológicos se centran en evitar el crecimiento de las cepas mediante el uso de huéspedes incapaces de crecer en condiciones difíciles de encontrar fuera del laboratorio. Entre los medios utilizados están:

— La utilización de huéspedes que son menos infecciosos para el hombre (por ejemplo *B. subtilis* en vez de *E. coli*).

- La utilización de huéspedes para los que existen vacunas.
- La utilización de huéspedes con varias alteraciones que dificultan su supervivencia fuera del laboratorio:
  - mutaciones que los hacen inviables si no existen ciertos nutrientes en el medio;
  - mutaciones que los hacen dependientes de altas temperaturas para crecer;
  - deleciones completas de los genes necesarios para sintetizar nutrientes;
  - acumulación de varias de estas alteraciones.
- La utilización de vectores que sólo puedan propagarse en huéspedes con caracteres muy peculiares (cepas supresoras).

En conclusión la Guía del National Institute of Health recomienda:

1. Aquellos que deban tomar parte en experimentación de ingeniería genética deberán seguir un curso riguroso sobre medidas de seguridad.
2. Los programas de investigación deberán incluir métodos de evaluación y control del impacto de los experimentos en las personas que trabajan en ellos y en el medio ambiente que les rodea.
3. Cualesquiera leyes deberán hacerse cumplir a todos los laboratorios tanto industriales como universitarios.
4. Los experimentos que lleven aparejados un mayor riesgo deben limitarse a los laboratorios mejor equipados, en los que al menos deberá existir un nivel de seguridad  $P_3$ .

## IV. POSIBLES APLICACIONES DE LA INGENIERIA GENETICA

### PRODUCCION DE HIDROGENO

La producción de hidrógeno a partir de agua, utilizando la energía radiante del sol, se ha demostrado en un gran número de cultivos de algas. Es teóricamente posible producir hidrógeno utilizando estos cultivos. El uso de las algas para producir hidrógeno no es sólo deseable como fuente alternativa de energía, sino que además el hidrógeno como combustible no contamina y el sustrato necesario y la fuente de energía (el agua y el sol) son prácticamente inextinguibles. El alga puede ser usada como fertilizador o ingrediente en los piensos. Algunos de los problemas que surgen en este proceso, tales como la inhibición por oxígeno de las enzimas implicadas en el mismo, la selección de la especie y las condiciones nutritivas necesarias, son abordables por tecnología de DNA recombinante.

Se están investigando los procesos de producción de hidrógeno en algunas algas (Florida). El estado actual de esta tecnología, excluye su aplicación a corto plazo.

### PRODUCCION DE HIDROCARBUROS

Existen algunas plantas que producen hidrocarburos en sus líquidos internos. Para que su uso como sustitutivo de hidrocarburos de petróleo sea económicamente rentable, es necesario que la producción por peso de planta y por unidad de terreno cultivado alcance un cierto nivel. El nivel de producción alcanzado por las variedades naturales no es competitivo con los precios

actuales del petróleo. Ahora bien, es posible conseguir variedades manipuladas genéticamente cuya producción relativa al peso y al área sean 100 ó 1.000 veces superiores a la producción de la variedad natural, lo que sin duda haría competitivo este proceso. Este esquema de producción no requiere plantas de refino puesto que los vegetales producen hidrocarburos bastante puros.

Se están estudiando plantas tropicales productoras de hidrocarburos (Calvin en Berkeley, California) y es posible su manipulación por ingeniería genética para aumentar su rendimiento.

### PRODUCCION DE METANO

La producción de metano interesa desde el punto de vista de obtención de una fuente alternativa de energía a base de utilizar desechos orgánicos contenidos en los residuos agrícolas, industriales, urbanos, etcétera.

La conversión anaerobia de materiales orgánicos en metano es un proceso natural. La tecnología de producción de metano está desarrollada y se está aplicando a muchos sustratos de desecho, dependiendo de su biodegradabilidad, sus usos alternativos, el posible valor económico de éstos y su competitividad con otras fuentes alternativas de energía. En Asia y en Europa existen miles de plantas a pequeña escala que satisfacen plenamente las necesidades locales. Algunos de los principales problemas que se encuentran son: el mantenimiento del pH, la producción simultánea de CO<sub>2</sub> que reduce la calidad del metano y la no degradación de algunos productos en condiciones anaero-

bias (ligninas, ceras, etc.). Estos problemas podrían atacarse por manipulaciones genéticas en las cepas bacterianas correspondientes, construyendo cepas activas a bajas temperaturas que además pudieran degradar ligninas en condiciones anaerobias.

En este sentido, ya se están investigando nuevas cepas de bacterias para transformación de biomasa (General Electric Co.).

### PRODUCCION DE ALCOHOLES (ETANOL Y METANOL)

La producción de alcoholes interesa principalmente desde el punto de vista de la obtención de carburantes alternativos al petróleo en el área de energía como son, por ejemplo, el metanol y el etanol.

La oxidación de metano por medio de bacterias es un proceso deseable aunque con las cepas actuales es muy poco eficiente. El etanol se produce industrialmente en Brasil por fermentación de la caña de azúcar para su utilización como sustitutivo parcial de las gasolinas. La producción de etanol y metanol a partir de desechos (celulosa y lignina) de la agricultura no utilizables como alimento tiene un prometedor futuro si, entre otros problemas, se pueden desarrollar las cepas de levaduras o bacterias necesarias para llevar a cabo estos procesos.

Está en proyecto de planta piloto la producción de etanol para gasolinas, a partir de almidón, mediante un proceso continuo utilizando ingeniería genética con levaduras como fuente de los catalizadores necesarios (Cetus y National Distillers en California). Otro sis-

tema es la producción de etanol a partir de celulosa por fermentación con bacterias *Clostridium* (Sinskey, Massachusetts Institute of Technology y General Electric Co.)

## OBTENCION DE PRODUCTOS QUIMICOS INTERMEDIOS

Se trata de producir mediante los microorganismos adecuados algunos productos químico-orgánicos intermedios de importancia industrial. Una clase importante de estos productos lo constituyen los monómeros utilizados en la fabricación de polímeros tales como plásticos (en aplicaciones estructurales, médicas, eléctricas, electrónicas, etc.) y fibras sintéticas (tejidos y pieles artificiales).

En la obtención de estos intermedios se emplean actualmente procesos químicos a altas temperaturas y presiones, por lo que su sustitución por procesos biológicos lleva aparejado un ahorro de energía capaz de reducir, al menos a la mitad, el coste de producción de estos compuestos.

Exxon Research & Engineering Co. está explorando la producción bacteriana de intermedios químicos. Du Pont está formando un grupo de investigación también en este área. Cetus+Social también se encuentran en este campo, en concreto en la producción de óxido de propileno, importante intermedio en la producción de plásticos (poliester y uretano). Así mismo, a nivel de planta piloto, se encuentra la producción de etilenglicol (el refrigerante utilizado en automóviles) a partir de alquenos (Cetus en cola-

boración con Standard Oil, California).

## OBTENCION DE PRODUCTOS DE QUIMICA FINA

El área de química fina comprende un grupo de sustancias químico-orgánicas complejas, altamente elaboradas, en cuya síntesis intervienen varias etapas. Estas sustancias químicas suelen ser altamente específicas y con un grado de actividad biológica muy elevado. Las dificultades que entraña su obtención, así como su actividad, hace que los niveles de producción sean mucho menores que los de las industrias químicas convencionales, tales como la petroquímica, papelera, textil, etc. Como productos más característicos de la química fina tenemos las vitaminas, hormonas, péptidos, antibióticos, sulfamidas, alcaloides, narcóticos, analgésicos, etc. Estos productos tienen especial aplicación a los sectores Farmacéutico, Agrícola y Alimentario.

La producción actual de estos compuestos tiene lugar por:

- a) Extracción y purificación a partir de productos naturales.
- b) Procesos de síntesis química.
- c) Procesos fermentativos.
- d) Procesos por combinación de a, b o c.

Sin embargo, para un futuro próximo, se prevé el desplazamiento, por parte de las técnicas de recombinación de DNA y cultivos celulares, de las tecnologías de los apartados a y b. En el caso de la tecnología de fermentación (apartado c), la eficiencia de producción de las cepas puede aumentarse por métodos de

ingeniería genética. Así, se sabe que muchas de las cepas productoras de algunos de estos productos contienen un mayor número de copias de los genes necesarios para fabricar el producto, que las cepas normales. El número de copias de estos genes dentro de la bacteria puede aumentarse introduciendo plásmidos o virus en los que se hayan incluido copias de los genes. Pueden conseguirse, así, cepas con producciones hasta unas 50.000 veces mayores.

## ENZIMAS

Su aplicación es muy extensa desde catalizadores para procesos químicos hasta kits de diagnóstico y kits de productos terapéuticos.

La producción masiva de enzimas de organismos eucariontes no es viable mediante técnicas de cultivo celular y en los casos que es posible obtenerlas se hace mediante la extracción de productos naturales (vegetales y animales). La nueva tecnología permite en principio utilizar cultivos bacterianos o fermentaciones, para producir enzimas de células eucarióticas gracias a la posibilidad de poder introducir los genes de estas células en bacterias. Son de esperar importantes desarrollos en este campo de aplicación.

La uroquinasa, una enzima humana que se usa clínicamente para disolver coágulos de sangre, se ha fabricado en bacterias gracias a la tecnología de DNA recombinante (Abbott Laboratories). La producción "tradicional" de esta enzima se basa en cultivos de células de riñón poco eficientes y de compleja tecnología que requieren 40 días de incubación.

## HORMONAS PEPTIDICAS

Las hormonas peptídicas tienen una actividad reguladora e integradora de las funciones de los diversos órganos y tejidos que constituyen un organismo superior.

Muchas de las hormonas utilizadas para tratamientos médicos son péptidos o proteínas. Su uso clínico está limitado solamente porque son difíciles de obtener en cantidades apreciables. La hormona del crecimiento es uno de estos casos, es demasiado compleja para poderse sintetizar químicamente. La fuente actual de esta hormona, las pituitarias de cadáveres humanos, no es muy idónea y como en muchos otros casos las hormonas similares obtenidas de animales no son activas en el hombre.

Incluso en el caso de la insulina humana, en que las necesidades clínicas están actualmente satisfechas con insulina de animales, su producción en bacterias la independizaría de las fluctuaciones de mercado ganadero y se evitarían, así, posibles fenómenos de alergias. Los procedimientos actuales de obtención hacen uso de la síntesis química (péptidos pequeños) o bien extracción y purificación de las proteínas a partir de órganos de animales (por ejemplo, la insulina se extrae del páncreas bovino y porcino). En el primer caso, el problema es el alto coste y la limitación de la síntesis química a péptidos pequeños; en el segundo caso, la limitación viene dada porque no todas las hormonas de animales funcionan en el hombre y las que lo hacen pueden inducir alergias y otros fenómenos inmunológicos. Para su uso en clínica, es necesario alterar sintéticamente las estructuras de péptidos.

La habilidad de generar análogos estructurales hace posible efectuar comparaciones de su comportamiento biológico con la molécula normal, lo que permite obtener información acerca de su funciona-

miento. Además, los análogos estructurales dan varios niveles de acción que permiten un mayor poder y flexibilidad en el tratamiento de una enfermedad. En la actualidad, esto es posible hacerlo por métodos de síntesis química y sólo cuando los péptidos son pequeños. Con los métodos de ingeniería genética, hasta las proteínas más grandes pueden manipularse en uno o varios aminoácidos.

Entre las hormonas humanas que ya se producen en bacterias se encuentran la timosina, agente estimulador de la inmunología para tratamiento de algunos cánceres (Genentech), la hormona estimuladora del crecimiento humano (Genentech-Kabi) y la insulina para la diabetes (Genentech-Eli Lilly).

Estos productos están pendientes de pruebas en animales y pruebas clínicas. Otros compuestos de este tipo en los que se está trabajando son la somatostatina, el interferón para control de infecciones víricas y posiblemente algunas formas de cáncer (Shering-Biogen y Genentech-Roche, Cetus, Du Pont, etc.), y la endorfina, un analgésico. Por otra parte, se han logrado obtener análogos de proinsulina humana en los que la parte central de la molécula fue reducida de 35 a 6 aminoácidos.

## ANTIGENOS VIRALES (VACUNAS)

Otra clase de moléculas con gran potencial en utilización, principalmente, en medicina y veterinaria son las proteínas antigénicas de algunos virus de mamíferos.

Estas moléculas se encuentran en

el caparazón de la partícula del virus y son las moléculas capaces de ser neutralizadas e inactivadas por los anticuerpos defensivos contra el virus invasor. Tradicionalmente se han empleado virus muertos como agentes inductores de anticuerpos. Los virus muertos son vacunas efectivas debido a que después de su inoculación en mamíferos sanos, éstos fabrican anticuerpos contra el virus muerto y los anticuerpos producidos son capaces de reaccionar con el virus vivo. Los problemas que se han encontrado con el uso de este tipo de vacunas incluyen el peligro de que la solución donde se encuentran los anticuerpos esté contaminada con virus vivos y el peligro y la dificultad de producir grandes cantidades de virus. Si una de las proteínas del caparazón vírico fuera capaz de inducir anticuerpos éstas podrían ser empleadas como una vacuna menos peligrosa. Además, estas proteínas podrían obtenerse a muy bajo precio.

Se están llevando a cabo investigaciones básicas en este campo, por lo que no es de prever su aplicación a corto plazo. No obstante, se estima que en el futuro este tipo de vacunas sustituirán a las vacunas clásicas.

## HIBRIDOMAS (ANTICUERPOS MONOCLONALES)

De utilización en una gran variedad de métodos de diagnóstico de enfermedades en agricultura, medicina y veterinaria. En medicina tendrían gran repercusión en terapia y en diagnóstico.

Los reactivos de diagnóstico utilizados "tradicionalmente" utilizan mezclas de anticuerpos vertidas a

la sangre de los animales inyectados con la sustancia antígeno cuyo diagnóstico se quiere estudiar. La técnica conocida como hibridomas produce células híbridas que expresan tanto la producción de los anticuerpos buscados como la capacidad de propagación *in vitro* haciendo así posible la producción de anticuerpos idénticos o monoclonales a un precio más asequible y de una gran especificidad.

La técnica de producción de anticuerpos monoclonales está desbancando los métodos clásicos de obtención de anticuerpos. Prácticamente la totalidad de las casas comerciales que fabrican kits de diagnóstico para hospitales están adquiriendo esta tecnología.

## GENES

Se estima que en un futuro se podrán tratar algunas enfermedades hereditarias mediante la introducción de genes sanos en las células deficientes.

Es quizás la aplicación última de esta tecnología al tratamiento de enfermedades hereditarias. Se ha conseguido aislar ya genes "sanos" para algunas proteínas causantes de enfermedades hereditarias. Si uno de estos genes se puede incorporar, junto con sus elementos de control, en una célula defectiva y ésta puede ser devuelta al organismo, la enfermedad hereditaria podría ser curada. Se sabe desde hace tiempo que es posible implantar en ratones células de la médula ósea manipuladas *in vitro*.

Existe un volumen importante de investigación con mamíferos pequeños como ratones y conejos introduciendo segmentos de DNA en sus células (Yale, Rockefeller, NIH).

## FIJACION DEL NITROGENO

De gran importancia en agricultura, puesto que puede hacer posible la eliminación del requerimiento de abonos nitrogenados.

Ni los animales ni las plantas, sólo ciertas bacterias pueden convertir el nitrógeno atmosférico en nitrógeno orgánico nutritivo. Las plantas leguminosas son capaces de fijar nitrógeno gracias a las bacterias que llevan simbióticamente en las raíces. Todas las demás plantas necesitan para crecer abonos nitrogenados cuya fabricación se hace a partir de sustancias orgánicas, lo que encarece el proceso. Si fuera posible aislar los genes bacterianos que controlan la fijación del nitrógeno e introducirlos en la semilla de una planta cualquiera (trigo, maíz, etc.), se conseguirían nuevas variedades de plantas capaces de crecer sin abonos nitrogenados. Las repercusiones sociales y económicas de este proceso serían enormes. Solamente el estudio y mejora de las cepas bacterianas fijadoras de nitrógeno ya existentes supondría incrementos en la producción a corto plazo.

Los genes controladores de la fijación de nitrógeno de algunas bacterias se han introducido en los cromosomas de levaduras sin que hasta el momento se haya conseguido su funcionamiento (Cornell University). Este es un paso previo a la introducción de los genes en las plantas. El estudio del funcionamiento de los genes responsables de la fijación de nitrógeno se está llevando a cabo en varias instituciones de investigación (Massachusetts Institute of Technology, Max Plank, etc.).

## PROTEINAS CELULARES (SCP, SINGLE CELL PROTEIN)

Tienen aplicación en el campo de la ganadería como fuente alternativa de proteínas.

Las proteínas celulares (SCP, Single Cell Protein) se refieren a levaduras, bacterias, hongos o algas cultivados para aprovechar su contenido proteico. Las células de estos organismos contienen carbohidratos, lípidos, vitaminas y proteínas cuya obtención sería más cara por otros medios. Estos procesos, sin embargo, son caros debido a que las fermentaciones requieren energía y trabajo en condiciones estériles. Además se ha observado que si estos microorganismos forman una parte sustancial de la dieta, su alto contenido en ácidos nucleicos pueden dar lugar a problemas renales. A menudo se encuentran microorganismos distintos que poseen ventajas parciales en estos procesos, por lo que el intercambio de genes entre ellos por ingeniería genética podría desarrollar nuevas cepas óptimas para la obtención de SCP a precios competitivos.

Se ha conseguido alterar el metabolismo de un microorganismo que crece mejor en medios nutrientes a base de metanol. El proceso ha sido posible gracias a la transferencia de genes de una especie de bacterias a otra, mejorando de esta manera la eficiencia de utilización de nitrógeno de la bacteria receptora (Imperial Chemical Industries en Inglaterra).

## DESARROLLO DE INSECTICIDAS

Tienen interés en el campo de la agricultura para control de las plagas.

Existen multitud de microorganismos (bacterias, protozoos y virus) que afectan patogénicamente a los insectos que constituyen las plagas de la agricultura. Estos microorganismos o sus productos naturales pueden usarse para inducir enfermedades en los insectos directamente o bien en combinación con insecticidas químicos. Esta estrategia está llamada a sustituir o reducir al mínimo el empleo de productos químicos como insecticidas debido al consumo de energía, coste y contaminación que su uso lleva consigo. Se ha demostrado que varios microorganismos inductores de enfermedades en insectos, no son peligrosos para el hombre o vertebrados. A pesar de todo, éste es un punto que necesita de un amplio estudio antes de poder ser aplicado extensivamente. Se han identificado y usado ya algunos de los microorganismos para control de plagas de insectos aunque su aplicación todavía está poco desarrollada.

La manipulación genética en este campo puede contribuir al desarrollo de las cepas apropiadas mediante combinación de especies distintas de microorganismos. El reciente desarrollo de estas técnicas hace que las aplicaciones en este campo no se esperen a corto plazo.

## EXTRACCION DE METALES

Los microorganismos utilizados pertenecen al género de bacterias tiobacilo. Son bacterias que viven en los ácidos y obtienen energía para su crecimiento, produciendo hierro oxidado, ácido sulfúrico y sales metálicas del ácido sulfúrico. El hierro oxidado y el ácido sulfúrico

producido por las bacterias sirve para extraer uranio y otros metales, de los minerales que los contienen en bajas proporciones. Estos procesos se utilizan ya debido a su simplicidad y bajo coste aunque es muy posible que se puedan mejorar mediante manipulaciones genéticas de las cepas responsables de estos procesos.

Con cepas naturales de tiobacilos este proceso se utiliza para recobrar uranio de minerales con un contenido muy bajo, proceso que sería inviable económicamente por otros medios (India, Canadá, Rusia). En Alemania (Hannover) se está estudiando esta posibilidad, con la utilización de varias cepas de tiobacilos. El método puede aplicarse a la obtención de cobre, cinc y antimonio, además de uranio. Existen proyectos de extracción de metales desarrollando cepas de bacterias como concentradores, todavía en estado de laboratorio (Incold & Biogen). También se están investigando bacterias para controlar la producción de metales pesados (General Electric, Co.).

## BIODEGRADACION

Gran parte de la contaminación proviene de desechos poco biodegradables tales como plásticos, detergentes, etc., y de la gran cantidad de compuestos químicos que sobrepasan la capacidad del ecosistema natural para su eliminación, tales como el fósforo y productos de desecho de la industria química. El problema se puede atacar desarrollando cepas de microorganismos que sean capaces de degradar o asimilar estos compuestos. A me-

nudo pueden encontrarse cepas naturales capaces de llevar a cabo algunos de los pasos para la degradación. La combinación de las capacidades de varias cepas naturales por métodos de la ingeniería genética daría lugar a las cepas necesarias para llevar a cabo una biodegradación completa.

En este sentido, se ha desarrollado ya una cepa de bacterias capaces de destruir residuos de crudos (General Electric, Co.).

## VARIEDADES NUEVAS DE PLANTAS Y ANIMALES

El uso de selecciones genéticas para generar individuos con características hereditarias favorables a su cultivo o cría, dentro de una misma especie, es una técnica muy antigua. La posibilidad de generar nuevos individuos mediante transferencia de genes desde una especie a otra, ha quedado abierta por medio de los métodos de la ingeniería genética. Así, las levaduras se están investigando como medio de convertir los desechos agrícolas en etanol, que se utilizaría como fuente de energía. Ahora bien, las levaduras no son capaces de romper la celulosa que se contiene abundantemente en estos desechos. Otros microorganismos poseen celulasas para romper la celulosa, sin embargo no producen etanol. La transferencia de los genes de las celulasas a las levaduras fermentadoras, podría generar un nuevo organismo capaz de efectuar los dos procesos.

En la Universidad de Stanford se está trabajando con determinados genes del maíz y de levaduras. Estos trabajos permitirán introducir genes de levaduras en el maíz o

amplificar algunos genes que están en el maíz, dando lugar a variedades más eficientes y con mayor productividad. En la Universidad de Yale se ha logrado transplantar plásmidos de bacterias conteniendo enzimas a cigotos de ratón, consiguiéndose el nacimiento de ratones que contienen enzimas del plásmido.

**CUADRO SINOPTICO  
DE LAS APLICACIONES  
DE LA INGENIERIA  
GENETICA**

ACTIVIDAD	TECNOLOGIAS ACTUALES
Producción de hidrógeno	Vía procesos petroquímicos Vía procesos electroquímicos
Producción de hidrocarburos	Refino del petróleo
Producción de metano	Destilación gas natural
Producción de metanol	Vía gas de síntesis
Producción de etanol	Vía adición ácido sulfúrico a etileno y fermentación glucosa y almidón
Obtención de productos químicos intermedios	Vía proceso de síntesis química
Obtención de productos de química fina	Vía extracción Vía síntesis química Vía fermentación
Producción de péptidos y proteínas	Vía extracción Vía síntesis química Vía fermentación
Producción de antígenos virales	Vacunas clásicas
Producción anticuerpos	Vía extracción de animales vivos sensibilizados
Genes	_____
Producción de fertilizantes	Fertilizantes químicos: Vía síntesis química
Obtención de proteínas unicelulares	Microorganismos que convierten hidratos de carbono en proteínas
Producción de insecticidas	Vía extracción y Vía síntesis química
Extracción de metales	Incineración y vertido
Eliminación de desechos poco biodegradables	Incineración
Variedades nuevas de plantas y animales	Selección genética

TECNOLOGIAS FUTURAS	TIEMPO COMERCIALIZACION UTILIZANDO TECNOLOGIAS FUTURAS (PLAZO)
Biofotólisis	Largo
Cultivos agroenergéticos	Largo
Biodegradación de residuos orgánicos agrícolas y urbanos	Medio
Conversión de metano a metanol	Medio
Conversión directa de celulosa a etanol	Corto
Vía procesos microbiológicos	Corto
Vía procesos microbiológicos	Medio
Vía procesos microbiológicos	Corto
Síntesis de proteínas vía procesos microbiológicos	Largo
Anticuerpos monoclonales	Corto
Manipulación genética	Largo
Trasplante a plantas de genes de fijación nitrógeno en microorganismos	Largo
Organismos que utilizan otros sustratos	Corto
Microorganismos inductores de enfermedades de insectos	Medio
Proceso de lixiviación con bacterias manipuladas	Medio
Vía procesos microbiológicos	Largo
Manipulación genética	Largo

## V. PANORAMICA INTERNACIONAL Y NACIONAL

### INTRODUCCION

Las técnicas esenciales utilizadas en ingeniería técnica se han popularizado de tal manera que cualquier laboratorio de bioquímica, con una infraestructura de investigación medianamente dotada, puede llevar a cabo la reprogramación genética de bacterias con cierto éxito. Por esta razón la cantidad de laboratorios que trabajan en ingeniería genética se ha extendido en muy poco tiempo en todos los países donde se efectúa investigación en biología molecular. Hacer un índice de todos estos laboratorios sería prácticamente imposible siendo además un hecho que la investigación en esta materia sigue una progresión geométrica.

La panorámica Internacional y nacional sobre el tema que se expone a continuación, se centrará en indicar la política de innovación tecnológica a la que ha conducido la ingeniería genética, así como las firmas comerciales ya establecidas en el sector. El énfasis se hará fundamentalmente en lo realizado en USA, dado que es la nación pionera en esta rama.

### ESTADOS UNIDOS

#### Política de desarrollo

Un amplio documento titulado "Impactos de la ingeniería genética: Aplicaciones a microorganismos, animales y plantas" ha sido finalmente publicado por la Oficina del Congreso de Evaluación Tecnológica en Washington (Office of Technology Assessment). El objetivo del documento es sopesar el "potencial y los problemas que resultan de la aplicación de la ingeniería genética a una serie de importantes industrias".

Este documento, de más de setecientas páginas, intenta ayudar a los miembros del Congreso que han de desarrollar una estrategia sobre esta tecnología emergente.

El documento de OTA hace notar que "el impacto de esta tecnología se dejará sentir en toda la gama de industrias químicas" añadiendo que "al menos en teoría cualquier producto químico de naturaleza orgánica podría obtenerse por un proceso biológico"; que los productos concretos que se verán afectados "pueden determinarse solamente después de rigurosos estudios de caso por caso" y estima que, en 20 años, el impacto económico total anual en la industria química se medirá en miles de millones de dólares.

El documento pone de manifiesto cuatro áreas donde la ingeniería genética ofrece ventajas sobre los métodos tradicionales en la industria química. Estas son: a) el uso de fuentes renovables; b) condiciones de operación en los procesos mucho menos drásticas que las actuales; c) métodos de producción en una sola etapa, y d) la atractiva probabilidad de una menor contaminación.

Diseminadas a lo largo del informe OTA existen una serie de recomendaciones encaminadas a la potenciación de esta nueva tecnología por el Congreso, entre las que cabe citar:

- Establecimiento de un nuevo "Instituto de Biotecnología".
- Establecimiento de centros de investigación interdisciplinarios en Universidades.
- Mejora de los cauces de comunicación entre la Universidad e Industria.
- Estimulación a la industria mediante reducciones fiscales.
- Financiación a proyectos específicos.
- Financiación a las agencias federales ya establecidas y que estén interesadas en el tema.

- Dejar las cosas tal como están, permitiendo a la industria y agencias federales el desarrollo de sus propias prioridades.

De todas formas, a pesar de que hasta ahora no se ha llevado a cabo ninguna acción por el Congreso, la propia dinámica de la sociedad norteamericana ha hecho que el sector se encuentre en una gran expansión. Así, actualmente se realizan numerosos proyectos de investigación en las principales Universidades del país y lo que es más importante, existen estrechas relaciones entre los equipos de investigación de las Universidades y las nuevas firmas comerciales creadas por el capital de alto riesgo, asegurando la pronta comercialización de los últimos hallazgos. A continuación se enumeran varias de las relaciones ya establecidas o en proceso de formación.

La firma comercial Biogen ha propuesto al MIT (Massachusetts Institute of Technology) establecer un acuerdo de colaboración en ingeniería genética, colaboración que se llevaría a cabo mediante el alquiler de espacios de laboratorios existentes, de tal manera que los estudiantes postgraduados podrían continuar trabajando en la Universidad al mismo tiempo que pondrían sus conocimientos al alcance de usos industriales. Esto evitaría el coste financiero del establecimiento de nuevos laboratorios al mismo tiempo que facilitaría la comunicación entre Universidad e Industria. Parte de los gastos de financiación de los estudios fundamentales en ingeniería genética serían sufragados también por la firma comercial farmacéutica Eli Lilly.

La Universidad de Michigan está en conversaciones con la firma comercial farmacéutica Warner Lambert y la Dow Chemical Company. Igualmente la Universidad de Yale ha establecido contactos con la industria para la aplicación de técnicas de ingeniería genética.

En la Universidad de Harvard, el 30 de octubre de 1980, se presentó el

problema de planificar la posible explotación de los resultados de la investigación en ingeniería genética. La propuesta consistía en tener participación como accionista en una firma comercial que utilizaría la reprogramación genética de bacterias en sus instalaciones, sin que la Universidad tuviera que invertir dinero en la compañía. Una de las técnicas empleadas para la reprogramación sería la de Mark Ptashne (profesor de Harvard) con respecto a los genes del interferon de fibroblastos humanos, insertados en E.-Coli. Después de un controvertido debate, el 4 de diciembre de 1980, la Universidad de Harvard decidió no tomar parte ni aun como socio no capitalista. El argumento más fuerte que la Universidad utilizó para justificar su negativa fue el que no se podría evitar discriminación en contra o a favor de aquellos de cuya investigación fuera a depender en algún grado la financiación de la Universidad.

Por otra parte, la firma comercial Biogen, originariamente suiza, que utilizaba la técnica de Walter Gilbert (profesor de Harvard) para la síntesis de insulina humana se comprometía a que algunos de sus beneficios se invirtieran en investigación fundamental e ingeniería genética en la Universidad de Harvard.

En la Universidad de Stanford existe gran discusión sobre si la Universidad se puede unir o no a la industria con objeto de obtener participación en beneficios comerciales. La decisión tomada es la de no integrarse en empresas industriales dentro de un sistema de inversión de capital o de acciones. Sin embargo, se da una respuesta positiva al establecimiento de relaciones universidad-industria con respecto a programas consultivos. Se ha establecido un programa por el cual la firma comercial se comprometería a enviar representantes una vez al año a la Universidad para ponerse en contacto con los trabajos del departamento en el cual se realice in-

geniería genética y a recibir una visita de un miembro de la Facultad para discutir la investigación que se realiza en el departamento industrial. Al mismo tiempo la firma comercial enviaría a la Universidad, de forma periódica, a uno de sus miembros con objeto de plantear problemas que puedan surgir a lo largo del desarrollo industrial. La firma comercial pagaría 12.000 dólares al año a la Universidad, cantidad que se emplearía en el mantenimiento de jóvenes investigadores. En los últimos meses del año 1980 eran ya 50 las firmas comerciales que habían firmado este tipo de contrato.

A pesar de la confusión existente en los acuerdos Universidad-Industria con respecto a la explotación de la ingeniería genética con fines industriales, lo que sí ha surgido con claridad de las discusiones habidas entre las universidades de Harvard y Stanford con la industria es la conciencia de que se ha de ser extremadamente cuidadoso para no generar conflictos entre los intereses académicos y los financieros industriales. Sin embargo hay que reconocer, como lo ha hecho el doctor Donald Kennedy, presidente de la Universidad de Stanford, que la presión comercial ha favorecido que una gran variedad de posibilidades, en las que los científicos no habían pensado con anterioridad surjan como potencialmente útiles.

#### **Firmas comerciales**

Frecuentemente transcurren décadas antes de que los descubrimientos científicos traspasen los laboratorios de investigación y formen parte de la vida diaria. Debido a su extraordinario potencial, la ingeniería genética parece ser una excepción. Desarrollada en la década de los 70 en varios centros académi-

cos, principalmente en Stanford, Harvard y MIT, está transvasándose rápidamente de las Universidades a la Industria.

Un gran número de compañías, basadas en la ingeniería genética, están proliferando de costa a costa particularmente en California y en el área de Boston-Nueva York-Washington. Los analistas de Wall Street no se ponen de acuerdo acerca de cuáles de las firmas que acaban de surgir serán la Polaroid, Xerox o Texas Instrument de la ingeniería genética. Sin embargo un reducido grupo parece encontrarse a la cabeza.

#### **GENENTECH INC.**

Fue fundada en 1976, en San Francisco por el inversor de capital-riesgo (Venture-Capital) Robert Swanson y el bioquímico de la Universidad de California Herbert Boyer. A finales de 1980 la Compañía tenía un staff de 120 empleados (de los cuales 50 eran Ph. D.). Ha firmado acuerdos de investigación con varias compañías farmacéuticas importantes, tales como:

#### **ELI LILLY**

La firma comercial farmacéutica Eli Lilly, que utiliza la técnica desarrollada por Genentech, ha empleado la cantidad de 40 millones de dólares para la construcción de dos plantas (laboratorio-industria), en sus fábricas de Speke en Inglaterra y en su fábrica de Indianápolis en los Estados Unidos, con objeto de producir insulina humana a partir de reprogramación bacteriana. A pesar de la rapidez de las investigaciones en torno a este punto, se tardarán unos dos años en la producción a escala industrial de insulina humana. Una de las razones de esta demora es la necesidad de examinar la calidad de la insulina humana producida por la reprogramación de bacterias y sus efectos clínicos. Se está llevando a cabo un examen de estos efectos clínicos en

el Guy Hospital en Inglaterra administrando a individuos sanos tal tipo de insulina. Hasta el momento presente se desconoce si esta hormona, así producida, tiene o no efectos secundarios. Como es sabido algunos enfermos no toleran la insulina de páncreas de cerdo y ternera en cuanto que este tipo de hormona induce respuestas no deseables del sistema inmune.

#### HOFFMAN-LA ROCHE

La firma comercial farmacéutica Hoffman-La Roche, bajo contrato con la Genentech producirá interferon humano mediante técnicas diferentes a las de Biogen. El gen del interferon humano se aisló de las células KG-1 que producen grandes cantidades de mRNA de interferón. Una vez obtenido el mRNA del gen del interferón, el fragmento de DNA de este gen se obtuvo por un sistema llamado transcripción inversa que transforma el mRNA en DNA. Una vez insertado este fragmento en un plásmido y transferido a una bacteria, éstas produjeron la proteína interferon con actividad antiviral, aunque carecía de los azúcares propios del interferon natural humano.

#### KABI

La firma comercial sueca Kabi Vitrum AG produce la hormona de crecimiento humano (GH) a partir de pituitarias de cadáveres humanos. Esta hormona se viene utilizando para el tratamiento de niños deficientes en GH (5-7% de la población total). La firma comercial Kabi pidió a Genentech que hiciese los experimentos necesarios de reprogramación bacteriana que condujesen a la producción masiva de GH. Bajo este contrato, Kabi tendría los derechos totales de comercialización de la hormona GH en el mundo entero excepto en USA y Canadá. Genentech, utilizando fermentadores de 700 litros, ha anunciado la producción masiva de GH, aunque no se han realizado hasta el

momento presente los correspondientes experimentos de toxicidad. Puesto que la ingeniería bioquímica y muy en particular el desarrollo de sistemas de fermentación a gran escala son un prerequisite indispensable para la producción masiva de las sustancias originadas por ingeniería genética, la firma comercial Genentech ha superado a Kabi, en cuanto a la producción de GH, por la posibilidad de utilización de fermentadores de 700 litros. Kabi solamente puede utilizar, según las regulaciones suecas, fermentadores de 10 litros. La GH producida por Genentech ha comenzado a ser probada clínicamente, de una manera sistemática, en enero de 1981 en el Great Ormond Street Hospital For Sick Children, aunque el doctor James Tanner, director del Hospital piensa que Genentech ha probado suficientemente la toxicidad de esta hormona. El Departamento de Salud del Reino Unido ha permitido que la hormona sea utilizada en el hospital.

#### CETUS CORP

Fue fundada hace una década por el médico Peter Farley, el bioquímico Ronald Cape y el Premio Nobel en Física, Donald Glaser. Cetus ha aplicado su experiencia en ingeniería genética a un gran número y variedad de productos y procesos. Los siguientes programas representan las áreas principales de investigación y desarrollo:

##### a) *Productos químicos.*

- Oxidos de alquenos. Se trata de un programa que persigue el desarrollo de un proceso biológico (enzimático) para convertir alquenos en sus correspondientes óxidos o glicoles.
- Aceites lubricantes. El programa pretende desarrollar un proceso biológico para, a partir de residuos hidrocarbonados, obtener productos de un valor añadido más alto tales como aceites lubricantes.

- Existen varios programas para el desarrollo de procesos biológicos, con el fin de obtener gran variedad de productos químicos. Los procesos están basados en el uso de enzimas o células inmobilizadas.

##### b) *Alimentación.*

- Fructosa. Junto con el desarrollo de un proceso para producir óxidos de alqueno y glicoles, Cetus ha desarrollado un proceso enzimático capaz de catalizar la conversión de glucosa y oxígeno a peróxido de hidrógeno y glucosona pudiéndose esta última convertir rápidamente en fructosa.
- Proteínas. Se trata de un proceso desarrollado en colaboración con una compañía de alimentación para el aprovechamiento de residuos agrícolas en la producción de un pienso de alto contenido proteico para animales.

##### c) *Energía.*

- Gasohol. Cetus es propietaria de un proceso de fermentación de flujo continuo para la conversión de glucosa derivada del maíz a etanol. Así mismo, está desarrollando nuevos procesos de conversión de biomasa utilizando todos los componentes del sistema celulosa/hemicelulosa/lignina.
- Recuperación de petróleo. La goma de xantano, es una sustancia que se produce naturalmente por una bacteria y es un agente que se usa para recuperar mediante presión el petróleo que queda en los yacimientos petrolíferos. Cetus firmó un acuerdo con Indiana Standard para explorar el desarrollo de un proceso de fermentación de flujo continuo para la producción de goma de xantano.

##### d) *Productos farmacéuticos.*

- Cetus está desarrollando en esta línea toda una serie de procesos para producir:
- Vacunas
  - Interferón

- Productos de diagnóstico
- Insulina humana
- Vitaminas
- Antibióticos

Debido al gran número de líneas de interés, Cetus ha tenido problemas a la hora de concentrar sus esfuerzos en una determinada área.

A finales de 1980, Cetus contaba con un staff de 276 empleados, de los cuales 45 eran Ph. D., y sus instalaciones se encuentran también en el área de San Francisco.

#### **BIOGEN (USA)**

En Cambridge (Mass) se quiere establecer la firma comercial subsidiaria de la suiza Biogen con un capital de 5.5 millones de dólares, financiada también por Monsanto con un capital de 20 millones de dólares, Shering Plough con un capital de 8.8 millones de dólares e International Nickel con un capital de 8.8 millones de dólares. Así pues, la firma comercial Biogen comenzaría con un capital inicial de 45 millones de dólares. Después de la conferencia de Weissmann, en la que anunció la producción de interferon, el valor nominal de la firma comercial Biogen ascendió de 45 millones de dólares a 100 millones de dólares. Se estima que la comercialización del interferón supondrá unas ventas de 3.000 millones de dólares para 1987.

#### **GENEX**

Esta compañía fue fundada en 1977 por el biólogo molecular J. Leslie Glick, para producir enzimas y otros productos químicos mediante técnicas de ingeniería genética. Genex, cuyas instalaciones radican en el estado de Maryland, también lleva a cabo trabajos de investigación para otras compañías. Tiene un contrato con Bristol-Myers para producir interferón. Cuenta en la actualidad con una plantilla de 88 personas, de las cuales 30 son Ph. D.

Recientemente tanto Genentech como Cetus han sacado acciones al mercado por un valor nominal de 30 y 150 millones de dólares respectivamente, incrementándose rápidamente el valor real de las mismas. El rápido incremento en bolsa de las acciones de las firmas comerciales dedicadas a la biotecnología en ingeniería genética, es indicativa del impacto comercial que se piensa tendrá en el futuro, a pesar de no haber producido esta tecnología ni un sólo dólar en ventas reales.

En cuanto a la producción de anticuerpos monoclonales, utilizando la técnica de producción de hibridomas, existen en la actualidad varias firmas comerciales. Una de ellas es Hybritech (La Jolla-California) fundada en 1978 con un capital fundacional de 2 millones de dólares y una plantilla de 52 personas (al final del año 1981 constará de 100). Otra firma comercial es la Clonal Research of Newport Beach (California). Los anticuerpos monoclonales producidos por ambas industrias están destinados, en principio, al diagnóstico de ciertas enfermedades y a la detección intracelular de sustancias específicas. Hasta el momento presente, sin embargo, todos los anticuerpos monoclonales producidos por estas industrias

se emplean a nivel experimental únicamente en laboratorios. Su empleo para el diagnóstico clínico, sobre todo referido a humanos, está muy restringido, hasta que no se determinen con exactitud sus características particulares. Una tercera firma comercial que ha introducido anticuerpos monoclonales en el mercado para laboratorios de investigación es New England Biolabs. Esta firma se ha especializado en el desarrollo de anticuerpos monoclonales contra linfocitos B y T y algunos antígenos de superficie.

COMPAÑIA	PRINCIPALES INVERSORES
Cetus	National Distillers Standard Oil (Calif.) Standard Oil (Ind.)
Genentech	Innoven <sup>1</sup> Klemer & Perkins <sup>2</sup> Lubrizol
Genex	Innoven <sup>1</sup> Koppers <sup>3</sup>

1: Firma de capital-riesgo formada por Monsanto y Emerson Electric.

2: Firma de capital-riesgo implantada en California.

3: Empresa americana de Ingeniería.

**ACTITUD DE LAS PRINCIPALES  
COMPAÑIAS QUIMICAS EN USA  
CON RESPECTO A LA  
INGENIERIA GENETICA**

**ALLIED CHEMICAL**

Tiene un 10 % de una firma canadiense llamada Biologicals. Pequeño programa en investigación en los laboratorios centrales de Siracusa.

**AMERICAN CYANAMID**

Participa en un 20 % en Molecular Genetics. Está empezando su propio programa de investigación: interés principal en agricultura y productos farmacéuticos.

**ATLANTIC RICHFIELD**

Ha iniciado un pequeño esfuerzo en agricultura.

**CELANESE**

Programas muy recientes y limitados en su centro de investigación

**DOW CHEMICAL**

Ha invertido 5 millones de dólares en Collaborative Genetics (Mass). Ha desarrollado su propio programa en agricultura, medicina y catalizadores.

**DUPONT**

Va a desarrollar un programa muy amplio con intereses específicos en genética de plantas e interferón.

**EASTMAN KODAK**

No desarrolla actividad en el área.

**EXXON**

Sigue los acontecimientos pero hasta la fecha no ha desarrollado ningún programa.

**W. R. GRACE**

La división de bioingeniería tiene interés en la producción de aminoácidos.

**GULF OIL**

Ha desarrollado un programa en biomasa conjuntamente con una compañía japonesa. Tiene contratos de investigación con Universidades.

**HERCULES**

Desarrolla un programa a través de una filial.

**MONSANTO**

Tiene numerosos programas, incluyendo una inversión de 20 millones de dólares en Biogen (USA), contratos de investigación con Genentech y participación en Genentech y Genex a través del grupo Innovent.

**OCCIDENTAL**

Programa de investigación a través de subsidiaria.

**PHILIPS PETROLEUM**

No presenta actividad por el momento.

**ROHM & HAAS**

Altas posibilidades de comenzar algún proyecto.

**SHELL OIL**

Tiene un contrato con Cetus para el desarrollo de interferón.

**STANDARD OIL (Ind)**

Tiene una gran variedad de proyectos en su centro de investigación. Participación de Cetus.

**STAUFFER CHEMICALS**

Optimización de proceso de fermentación del glutamato monosódico.

## INGLATERRA

### Política de desarrollo

En 1980 se publicó un documento elaborado conjuntamente por el Advisory Council for Applied Research and Development, el Advisory Board for the Research Council y la Royal Society, en el que se hacían una serie de recomendaciones para el desarrollo de la biotecnología en Inglaterra. A continuación se citan algunas de ellas.

- Se debe formar un *comité conjunto gubernamental* que estudie los desarrollos necesarios en biotecnología. Este comité tratará de:

- Promover nuevos proyectos de investigación realizables en universidades y otras instituciones.
- Promover la colaboración entre investigadores de forma interdisciplinar.
- Facilitar un ambiente por el cual los investigadores en ciencia aplicada comiencen a utilizar métodos biotecnológicos.
- Establecer condiciones por las cuales la obtención de fondos para el desarrollo de programas específicos esté supeditada a las implicaciones tecnológicas del mismo.

Este comité deberá disponer de tres millones de libras para financiar los nuevos programas de investigación.

- Se debe establecer un *grupo interdepartamental* que coordine las acciones de diversos organismos e instituciones. El Departamento de Industria debe tomar la iniciativa con la aportación de un 50% de capital necesario. El restante 50% será aportado por Universidades, asociaciones de investigación e inversores. Este grupo interdepartamental realizará estudios y prospectivas para el desarrollo de nuevos proyectos.

- El *grupo interdepartamental y comité conjunto gubernamental* tendrán miembros comunes con objeto de evitar la división entre investigación aplicada y básica. Este comité se reunirá de 4-5 veces al año.

- Se deberá realizar un esfuerzo en la formación de personal en biotecnología promoviendo el intercambio entre los diferentes departamentos universitarios.

- Los comités que concedan ayudas a las universidades deben de promover la expansión de un número limitado de centros ya existentes en biotecnología. Se deberá hacer una inversión mínima de 2 millones de libras para mejorar la infraestructura de los centros elegidos.

- El National Research and Development Council (NRDC) que tiene entre otras misiones la de patentar las investigaciones llevadas a cabo en las universidades, debe revisar la ley de patentes actualmente en vigor.

- Es necesario realizar un estudio de las normas legales necesarias que regulen el establecimiento de laboratorios en biotecnología.

- Los Ministerios de Agricultura, Pesca y Alimentación deben investigar la rentabilidad del empleo de productos agrícolas como sustratos de procesos biotecnológicos.

- Los Departamentos de Salud y Seguridad Social deben promover la creación de pequeños laboratorios en biotecnología.

- Los Departamentos de Medio Ambiente y Energía, junto con otras agencias del gobierno, deben de estudiar el empleo de la biotecnología con respecto a la utilización de materiales deshecho como materia prima para la recuperación de sustancias derivadas de ellos.

Hasta el momento presente el Gobierno no ha tomado ninguna acción ejecutiva con respecto a la biotecnología y se ha limitado a publicar en un libro blanco opiniones

con respecto a las sugerencias de ACARD, NRDC y Royal Society.

### Firmas comerciales.

El 6 de noviembre de 1979 se constituyó en Inglaterra una nueva firma comercial llamada Celtech que utilizaría la ingeniería genética para la producción de sustancias fundamentalmente de orden farmacológico. La firma comercial comenzó con un capital fundacional de 12 millones de libras y está situada en Cambridge. Espera contratar de 75 a 100 investigadores en dos años. El 44% del capital fundacional será aportado por la NEB (National Enterprise Board), una corporación estatal financiada con fondos públicos.

Otro laboratorio, Searle Laboratories de Crawley Dow utiliza la técnica de producción de anticuerpos monoclonales para la producción de sustancias potencialmente utilizables en diagnóstico clínico y vacunas. Esta compañía introduce igualmente interferón a partir de cultivos de leucocitos humanos. También la firma comercial Wellcome Foundation (Londres) produce interferón humano a partir de cultivos masivos de linfoblastos, siguiendo la técnica de Flow Laboratories.

## SUIZA

### Política de desarrollo.

No se dispone de datos acerca de trabajos o documentos encargados o realizados por el gobierno suizo, con respecto al establecimiento de una política de desarrollo o potenciación de la biotecnología en Suiza, aunque sí existe un soporte eco-

nómico activo a los diferentes grupos universitarios que trabajan en el área.

#### **Firmas comerciales.**

La firma Biogen fue fundada en mayo de 1978 como una corporación holandesa-antillana con participación suiza. Con un capital fundacional de 750.000 dólares otorgado por Inco, T. A. Associates (una firma comercial de Boston), algunos inversores europeos y Moshe Alafi, comenzó a financiar la síntesis de interferón del grupo de Charles Weissman de la Universidad de Zurich, la investigación sobre hepatitis de la Universidad de Edimburgo y la producción de insulina según el método Walter Gilbert en la Universidad de Harvard. A finales de 1978 Inco aumentó en 1,27 millones de dólares del capital fundacional de Biogen. Puesto que la firma comercial farmacéutica Schering-Plough obtuvo en el año 1979 el 16% del valor en bolsa de la firma comercial Biogen por un total de 8 millones de dólares, el capital fundacional de Biogen ascendió a 10 millones de dólares. La Schering-Plough adquirió la licencia de comercialización de los tres productos antes citados producidos por Biogen.

Hacia finales de 1980 la firma comercial Biogen SA en Ginebra tenía un staff de 50 empleados (de los que 18 eran Ph. D.).

Biogen ha anunciado recientemente la posibilidad de multiplicar por veinte la cantidad del interferón producido por cada bacteria reprogramada. Es muy factible que esta cantidad pueda ser superada en varios órdenes de magnitud en el futuro. Igualmente Biogen investiga intensamente en la producción de algunas proteínas del suero sanguíneo mediante la reprogramación de bacterias. Así mismo está interesada en la producción de varias vacunas de alta especificidad.

## **FRANCIA**

### **Política de desarrollo.**

En el octavo plan de desarrollo, se proponen una serie de acciones que se pueden centrar en el desarrollo de una estrategia industrial a todos los niveles con el fin de poner en marcha una industria competitiva que adopte las tecnologías del futuro. Para tal fin es necesario: a) mejorar el sistema de investigación; b) clarificar la gestión; c) establecer canales de disponibilidad de los conocimientos científicos para una mayor cooperación; d) incrementar la cantidad y calidad de la formación de jóvenes investigadores; e) intensificar la interdisciplinariedad. Todas estas necesidades suponen un esfuerzo financiero de la nación que ponga la investigación francesa en los niveles de los países más avanzados. Entre las prioridades establecidas por el plan de desarrollo, ésta es la primera.

Para fomentar estas actividades el Estado intervendrá en varias formas:

1. Revisará la legislación fiscal para impulsar el esfuerzo inversor.
2. La Asociación Nacional para la promoción de los resultados de la Investigación (A.N.V.A.R.) distribuirá fondos especiales en forma de primas y ayudas a la innovación.
3. Incrementará la colaboración entre laboratorios privados y públicos.
4. Impulsará la investigación mediante a) distribución de fondos específicos dirigidos a financiación de innovación industrial; b) creación de un clima favorable a la investigación en Centros Técnicos, Universidades; c) utilización de 1.500 millones de francos 1980 para la financiación de polos científicos regionales.

Así pues, la política industrial del octavo plan de desarrollo propone: desarrollar iniciativas, inventar más y mejor, innovar y desarrollar las industrias del futuro. En el capítulo de innovación y desarrollo de industrias del futuro se señala la informática, la microelectrónica y la biotecnología.

Para fomentar las técnicas biotecnológicas, la acción más urgente se situaría en el desarrollo de las investigaciones de base o fundamentales, la organización de sistemas de transferencia de resultados de la Universidad a la industria y en la formación personal.

Dentro del desarrollo de investigaciones fundamentales, se señala la necesidad de hacer estudios profundos sobre la genética y fisiología de las células procariontes y eucariontes y sobre la explotación óptima de las reacciones biológicas.

En cuanto a la organización de Sistemas de Transferencia, se indica que su misión será:

- a) Canalizar investigaciones fundamentales orientadas.
- b) Caracterizar y evaluar los sistemas productores.
- c) Preparar la explotación industrial de los resultados de la investigación.
- d) Realizar trabajos en prestación de servicios.
- e) Fomentar el intercambio de especialistas con el extranjero.

Se señala que será conveniente la creación de Centros de Transferencia que actúen de intermediarios entre los organismos dedicados a la investigación básica y la industria.

Con respecto a la formación de personal en las diversas ramas de la biotecnología se pretende la remodelación de los centros de formación ya existentes y la creación de otros nuevos en diversas partes de Francia (París, Tolouse, Strasbourg, Lyon, Marsella, Nancy y Clermont-Ferrand).

### Firmas comerciales.

Hasta el momento presente, la ingeniería genética en Francia no ha invadido el campo industrial, sino que se ha mantenido dentro de las Universidades, limitándose a investigación básica sobre sistemas de regulación genética, tanto en sistemas homólogos como heterólogos. El intento de crear firmas comerciales basadas en técnicas de ingeniería genética se ha concretado en la fundación de Transgene (financiada por capital proveniente de entidades bancarias), Genética (filial de Rhône-Poulenc) y una sección del Instituto Pasteur. Es de esperar que, dado el impulso que Francia quiere dar a la investigación en ingeniería genética, se establezcan otros centros además de los mencionados.

## JAPON

### Política de desarrollo.

A continuación se citan las diversas instituciones estatales que participan en el desarrollo y potenciación de la biotecnología. Hay que resaltar que la participación del Estado en la investigación microbiológica es muy inferior a la que llevan a cabo las compañías industriales japonesas.

- a) Ministerio de Educación Nacional. Aporta la contribución más importante. El presupuesto destinado a la microbiología en 1976 era de 650 millones de yens.
- b) Ministerio de Industria y Comercio Exterior (MITI). Destinó en 1975, 250 millones de yens a investigación en biopolímeros, técnicas enzimática, biofísica y biología celular, efectuada en los laboratorios del Ministerio.

En 1976 se asignó un soporte económico importante al Instituto de Fermentaciones del MITI y a laboratorios privados para realizar investigaciones sobre el aprovechamiento de residuos urbanos. Un comité de reflexión formado por el MITI en el año 1975, para decidir las áreas sobre las cuales debiera volcarse el esfuerzo del MITI en los próximos años, llevó a la elección de la microbiología como una de las cuatro áreas prioritarias importantes. El comité, consecuentemente, propuso que fuera destinado a este efecto un presupuesto de 6.000 millones de yens en 5 años, a repartir en 200 proyectos confiados a laboratorios públicos y privados.

- c) Agencia de la Ciencia y Técnica. Pretende crear un centro de investigación interdisciplinario que combine estrechamente la biofísica, la microbiología, la química y las técnicas de ingeniería.
- d) Ministerio de Agricultura. Llevó a cabo de 1969 a 1974 un gran proyecto sobre nuevas fuentes de proteínas al que se destinaron 450 millones de yens.
- e) Ministerio de Sanidad. Está presente en todos los programas a través de sus tres grandes centros de investigación que controlan la calidad terapéutica de las nuevas moléculas.

### Firmas comerciales.

No se disponen de datos de firmas comerciales que trabajen específicamente en ingeniería genética. El número de grupos de investigación que efectúan manipulaciones genéticas en microorganismos es todavía muy reducido. Es evidente el desfase existente con respecto a Estados Unidos en este área. Sin embargo, el alto nivel alcanzado por los numerosos laboratorios de microbiología les permitirá abordar

este tipo de experiencias en condiciones muy favorables.

Hay que tener en cuenta que todo desarrollo biotecnológico va acompañado de una etapa de producción industrial, donde el conocimiento de la tecnología de las fermentaciones industriales, procesos enzimáticos y cultivos celulares es sumamente importante.

Es en esta tecnología donde Japón tiene una gran experiencia basada en una industria de fermentación que ha sabido desarrollar y potenciar desde hace muchos años. En este aspecto Japón se encuentra en franca superioridad a Estados Unidos.

Así Japón ha sido el primer país en que se han industrializado las enzimas inmovilizadas, esto es, la fijación artificial de enzimas a un soporte insoluble. Esta técnica abre la vía a los reactores de flujo continuo que ofrecen múltiples ventajas rebajando costes de producción y obteniendo productos mucho más puros. Mediante la aplicación de esta técnica la firma comercial TANABE fue la primera en desarrollar un proceso industrial para la síntesis del ácido L-aspártico y L-málico.

Por otra parte, se están desarrollando considerablemente mejoras en los procesos de fermentación tradicionales y varios laboratorios tratan de poner en práctica las técnicas de cultivos de tejidos de células animales y vegetales.

### O.C.D.E.

La O.C.D.E., en enero de 1981, se ha interesado en la ingeniería genética a través de la formación de un comité que estudie la política científica y tecnológica y las directrices gubernamentales respecto a la biotecnología. Este comité está forma-

do por diversos científicos, la mayor parte procedentes de universidades, expertos en diferentes materias (Japón, Francia, USA, RFA, Inglaterra y Holanda).

El comité ha decidido que en su programa de trabajo para 1981 se incluya un estudio sobre "el futuro de los impactos en biotecnología". Este estudio deberá estar terminado para finales de 1981 y ser sometido a más altas instancias en 1982. Tal estudio tratará los siguientes puntos:

A) Hacer una evaluación de las posibles implicaciones económicas y sociales a corto y largo plazo de los desarrollos científicos y tecnológicos en cada área.

B) Llevar a cabo una revisión de la política científica y tecnológica, examinando la naturaleza y calidad de la investigación y enseñanza dada en las universidades, establecer un equilibrio entre las responsabilidades de las universidades, industria y comercio, y determinar mecanismos adecuados que controlen posibles riesgos. Esta previsión formará parte de un estudio sobre la "política de investigación en las universidades" y sobre "impactos sociales de la tecnología".

C) Realizar un estudio de las implicaciones internacionales de la biotecnología con respecto a la cooperación entre países, a legislación sobre patentes y regulaciones y a determinar las consecuencias económicas de las rutas seguidas por la ciencia y la tecnología en el momento presente.

Al mismo tiempo, la O.C.D.E. ha publicado un informe que hace un análisis no pormenorizado de la biotecnología y de la política gubernamental que se ha de establecer con respecto a la misma. El estudio indica que tres facetas fundamentalmente han contribuido al surgir de la biotecnología: el avance de la Biología Molecular, la presión política referente a la escasez de energía, materias primas y alimentos, y el interés ecológico. Por otra parte, el estudio señala algunos

sectores donde la Biología Molecular tendrá aplicaciones a niveles industriales: medicina, industria de productos alimenticios, agricultura, energía, química y ecología.

Igualmente el estudio señala que es necesario realizar un análisis detallado de los impactos biotecnológicos, pero desde un punto de vista multidisciplinar, dadas las características de multiplicidad, rapidez e incertidumbre de muchos de los conocimientos adquiridos. Desde este punto de vista, los gobiernos deben reflexionar sobre sus responsabilidades, anticipándose a descubrir posibles peligros y desarrollos que afecten de una manera drástica la actual estructura industrial.

En su última parte, el estudio de la O.C.D.E. pone de manifiesto que será necesario dar un gran impulso a la enseñanza e investigación científica si no se quiere estrangular el desarrollo biotecnológico, reorganizando las instituciones ya existentes y poniéndolas al día en un diálogo interdisciplinar, destacando que no es posible, en adelante, hacer distinciones entre investigación aplicada y básica. En sus últimas páginas el estudio insiste en la necesidad de valorar las implicaciones sociales, éticas e internacionales de la biotecnología en cuanto a seguridad, interferencia en la herencia humana y ecología y cooperación científica legal y económica.

El 17 y 18 de marzo de 1982 un grupo de expertos en biotecnología, pertenecientes a varios países miembros de la OCDE, discutió un informe sobre biotecnología elaborado por los profesores Alan T. Bull, Geofre Holt y Malcolm D. Lilly titulado "Biotecnología: tendencias y perspectivas internacionales". El documento está dividido en tres capítulos. En el primero, se analiza la contribución potencial de las ciencias básicas y la tecnología a la biotecnología. En el segundo, se pone de manifiesto la existencia de ciertas dificultades científicas, técnicas y de disponibilidad de materias primas para el desarrollo biotecnológico, y en el tercero,

se proponen unas líneas generales a tener en cuenta sobre política educativa, de financiación, de relación Industria-Universidad y de seguridad que afectarán al desarrollo biotecnológico. Es, quizá, ésta la primera vez que la OCDE dedica una sesión tan prolongada y casi monográfica a un tema científico con evidente repercusión tecnológica.

El informe pone de manifiesto que, dado el interés creciente de los gobiernos en un campo de desarrollo tan rápido como la biotecnología, muchas organizaciones han publicado trabajos que incluyen definiciones de esta actividad científica y tecnológica y que, aunque todas ellas tienen un fondo común, al mismo tiempo difieren según los intereses y prejuicios de cada grupo. Desde este punto de vista y sin querer dar la última palabra, proponen la necesidad de elaborar una definición de trabajo aceptada por todos que podría ser la siguiente: "la aplicación de los principios científicos y de ingeniería al procesamiento de materiales por agentes biológicos y al procesamiento de materiales biológicos para la provisión de bienes y de servicios". En esta definición el concepto "principios científicos y de ingeniería" se refiere fundamentalmente a la microbiología, bioquímica, genética e ingeniería química y bioquímica. Con esto se quiere indicar claramente que la biotecnología es una actividad científica multidisciplinar que se extiende más allá de la ingeniería genética, aunque esta actividad científica esté en la base de la mayoría de los procesos biotecnológicos. Además, el concepto "agentes biológicos" se refiere a microorganismos, enzimas y células de plantas y animales. Al hablar de "procesamiento de materiales" la definición propuesta cubre todo tipo de materiales orgánicos o inorgánicos y procesos que utilicen catalizadores biológicos y aquellos en los que materiales biológicos sufran transformaciones químicas. La definición no cubre las áreas de la ingeniería y tecnología médica aunque sí lo que se refiere a

la producción de productos sanitarios, tales como antibióticos, vacunas, anticuerpos, productos de diagnóstico y esteroides. Es cierto que la producción de todos estos materiales será más eficiente cuando se disponga de las técnicas de ingeniería genética capaces de reprogramar y transferir de forma precisa genes específicos a microorganismos apropiados. El proponer una definición común se deriva de la necesidad de elaborar estrategias operativas comunes y de posibilitar el diálogo en contextos internacionales. Solamente se podrán elaborar políticas nacionales en este campo cuando se disponga de datos comparativos sobre programas de investigación y producción.

El documento pone de manifiesto que la importancia de las industrias basadas en procesos biológicos se puede claramente deducir de la gran cantidad, en términos de tonelaje, de productos elaborados y procesados por año, que excede notablemente a la de productos químicos. Excepto en los países de alto desarrollo, el valor, en tanto por ciento del producto nacional bruto, de alimentos producidos es mayor que el de los productos químicos elaborados. En estos países, el valor financiero de los materiales sanitarios, tales como drogas y medicinas, es mucho menor que el de alimentos y bebidas aunque contribuyen de una forma muy significativa a las relaciones de intercambio comercial. Para Dinamarca y el Reino Unido estos productos significan el 2,1 y el 2,5% respectivamente de sus exportaciones totales. Aun para los países de alto desarrollo, la elaboración y procesamiento de alimentos y bebidas puede representar una importante contribución a su comercio exterior.

La razón de que los productos sanitarios tengan una significación importante en la economía nacional radica en que estos productos son representativos de una industria de baja capacidad volumétrica pero con alto valor añadido. En Estados Unidos de América, el mercado de productos

de química fina elaborados biotecnológicamente representa 8.000 millones de dólares, de los cuales más del 50% pertenece a antibióticos. En este campo de industrias de baja capacidad volumétrica pero de alto valor añadido, se ha producido la mayor cantidad de solicitud de patentes en la última década, aunque su reparto es claramente diferente entre naciones. De las 2.400 patentes concedidas entre 1977-1981, el 60% corresponde a Japón, el 10% a Estados Unidos, el 5% a la Unión Soviética, y entre 4 y 2% a naciones tales como Polonia, Checoslovaquia, República Democrática Alemana, República Federal de Alemania, Reino Unido y Francia. El 84% se concedieron a países miembros de la OCDE, y el 16%, a países con economías centralizadas.

El documento pone énfasis en que los gobiernos establezcan sus políticas nacionales bajo las perspectivas de requerimientos tecnológicos, volumétricos y de valor añadido. Señala que, normalmente, las materias producidas por vía de alta tecnología son también de alto valor añadido aunque de bajo volumen, mientras que, por el contrario, los producidos mediante baja tecnología son de bajo valor añadido y de gran volumen. Es muy probable, sin embargo, que desatender este área de producción no sea ni política ni sociológicamente aceptable dado que productos de bajo valor añadido pueden ser tan requeridos como los otros. Baste citar la alimentación y el tratamiento de aguas y residuos.

Es muy probable, destaca el documento, que los más importantes desarrollos en biotecnología estén dominados por productos de alto valor añadido específicamente relacionados con el campo médico, aunque a largo plazo los impactos en agricultura serán aún mayores, dado que el factor que más limita la producción agrícola, en la tierra disponible, es la accesibilidad a fuentes nitrogenadas. La ingeniería genética está en la base de todos estos desarrollos, al poder transferir la ruta metabólica de fija-

ción del nitrógeno de bacterias a plantas.

Puesto que las relaciones comerciales de productos agrícolas y químicos se va a ver afectada significativamente por la biotecnología, la OCDE propugna la necesidad de establecer relaciones claras en estas materias entre los países miembros y entre éstos y los países en vías de desarrollo. Especialmente se ha de poner atención al sector energético que será crucial para el desarrollo del hemisferio norte y aun con más premura para el Tercer Mundo. Los países de este grupo sin reservas fósiles se empobrecen y sufren constantemente por el aumento progresivo de los precios del petróleo y bajada relativa del precio de las materias primas. Es necesario romper el desequilibrio en consumo energético entre Norte y Sur. En este sentido, el informe indica que quizá la biomasa endógena puede contribuir a paliar estas diferencias, aunque hay que tener cuidado para que los programas masivos en biomasa no interfieran con la producción de alimentos. El documento de la OCDE propone que quizá el más eficiente método de promover la cooperación internacional sea por medio de la Unión Regional de Microbiología para el S.E. asiático y el Centro para el Desarrollo de la Microbiología patrocinado por la UNESCO, el UN Environmental Programme (UNEP) y el International Cell Research Organization (ICRO).

Es interesante destacar, por último, que en un documento orientado al orden tecnológico y de producción se ponga tanto énfasis en la importancia de estudios en la investigación fundamental. Se señala que el éxito de la biotecnología dependerá de los avances de las ciencias fundamentales que la sostienen. "Atajos y empirismos y una atención superficial a los principios científicos básicos conducirán, en el mejor de los casos, al desarrollo de procesos pobres de producción y, en el peor, a fracasos demasiado costosos". La mayor parte del estudio está dedicada al análisis del estado actual de los

conocimientos científicos y de los métodos y a la determinación de las ventajas y dificultades que pueden contribuir al avance o estancamiento del progreso biotecnológico.

### C.E.E.

En 1976 los Estados miembros de la Comunidad Económica Europea propusieron formar una Comisión para la elaboración de un programa de investigación europeo en biotecnología. Sin embargo transcurrieron casi tres años, verano de 1979, para que se constituyera la Comisión y el consejo de ministros de la Comunidad aprobara un crédito de 16 millones de libras por un período de 5 años. A pesar del entusiasmo inicial, suscitado por estas acciones, tanto por parte del sector de investigación fundamental como del sector industrial, la puesta en marcha del programa elaborado por la Comisión tropieza con dificultades dado que los integrantes de la misma no han podido llegar a un acuerdo sobre el contenido, magnitud y coste del programa. De todas formas, aunque el acuerdo se lograse, no parece que el programa pueda ser aprobado antes de noviembre, de 1981, fecha en que se reúnen los ministros de investigación de los países miembros de la Comunidad.

El programa contenía originariamente seis proyectos aunque en 1980 se vio reducido a cuatro eliminando algunas áreas de aplicación inmediata. Parece que en la base de todos los desacuerdos está el no querer aceptar el concepto de una industria europea que beneficie a la Comunidad, ni el querer participar en los beneficios de una investigación que tenga repercusión económica. Varias naciones, fundamentalmente Alemania, son reticentes a dejar de financiar proyec-

tos en marcha, para volcar sus fondos de investigación en proyectos realizados fuera de sus fronteras. Sin embargo se va abriendo paso en la Comunidad la idea de que el progreso de la biotecnología a largo plazo no podrá realizarse a menos que haya una intensa comunicación y colaboración a todos los niveles, entre los estados miembros.

## ESPAÑA

### Política de Desarrollo

La Ingeniería Genética en España está a niveles de desarrollo incipientes y se limita a investigación fundamental en un número muy reducido de laboratorios. Este nivel incipiente de desarrollo se debe en parte a la falta de planificación nacional de la investigación en esta rama de la Biología molecular y en parte a la limitación en personal técnicamente cualificado.

Es de esperar que dadas las implicaciones socioeconómicas de la biotecnología y, de la ingeniería genética como instrumento base de casi todos los procesos biotecnológicos, se pueda disponer en breve de unas líneas generales de acción. Parece claro, por las políticas de desarrollo de otros países, que la planificación no podrá hacerse a muy largo plazo dados los cambios e innovaciones que aparecen cada día. Si es posible, sin embargo, tener conocimiento del tema, dar orientaciones e intensificar programas de formación que son paso imprescindible en cualquier desarrollo ulterior.

Recientemente la Dirección General de Política Científica a través de la Comisión Asesora de Investigación ha expresado su voluntad de promocionar un conjunto de nuevas

tecnologías entre las cuales se encuentra la ingeniería genética. De la misma forma la Fundación Juan March proyecta impulsar desde 1981 y por un período de cuatro años un plan de biología molecular y sus aplicaciones.

El C.S.I.C. (25-3-1981), ha incluido la biotecnología en un marco de prioridades (investigaciones básicas en biotecnología y desarrollos de biotecnologías con aplicaciones agrícolas, farmacéuticas, industriales y médicas) teniendo como objetivos programáticos la ingeniería genética, la ingeniería enzimática y nuevos procesos para la obtención de proteínas aptas para la alimentación humana y animal.

A continuación, a partir de los datos que se poseen, se citan los laboratorios pertenecientes a la Universidad o Consejo Superior de Investigaciones Científicas en los que se lleva a cabo investigación en ingeniería genética. La lista no pretende ser exhaustiva y probablemente existirán algunas lagunas. Asimismo parece conveniente reseñar, aunque sea brevemente, los programas de investigación que se llevan a cabo en los diversos Centros.

*Instituto de Virología (C.S.I.C.;  
Universidad Autónoma de Madrid)*

- a) Análisis de la región que codifica una proteína específica (DNA, Cistron 3) en el virus  $\phi$  29 de la bacteria *B. Subtilis*. El objetivo más inmediato de este trabajo es la producción masiva de la proteína propia de ese gen, mediante la inserción del fragmento de DNA en *E. coli* o *B. subtilis* con el fin de estudiar el mecanismo de replicación del virus. La relevancia de estos estudios se centra en el hecho de que es necesario analizar esos mecanismos para poder controlar la propagación de los virus animales con repercusión sani-

taria, tales como los adenovirus, hepatitis B, polio, encefalomiocarditis, exantema vesicular y glosopeda, por citar sólo unos pocos.

b) Clonaje en *E. coli* del DNA de los virus de la fiebre aftosa y de la gripe humana. El clonaje de los genes de estos virus es de gran utilidad para estudiar su variabilidad genética. El clonaje en *E. coli* de los genes responsables de los antígenos virales se puede dirigir a la producción de vacunas anti-fiebre aftosa y anti-gripe humana de menor riesgo y menor costo que las actualmente disponibles.

c) Clonaje del DNA del virus de la peste porcina africana (VPPA) en virus y en plásmidos, con objeto de obtener grandes cantidades de proteínas biológicamente activas para la producción de vacunas eficaces.

d) Con objeto de mejorar la producción de anticuerpos contra el virus de la peste porcina africana (VPPA) se está trabajando en la puesta a punto de la técnica de producción de anticuerpos monoclonales contra estirpes de VPPA recogidos en nuestro país. Estos anticuerpos monoclonales pueden ser la base para el estudio de la posible neutralización del virus. Además, esos anticuerpos son un instrumento básico para el diseño de un inmunoensayo enzimático de diagnóstico del VPPA, la purificación de los componentes virales y estudios de la respuesta inmunológica contra el virus que permitan explicar la patología derivada de la infección.

*Instituto de Bioquímica de Macromoléculas (C.S.I.C.; Universidad Autónoma de Madrid)*

a) Clonaje del gen que lleva la información para la síntesis del interferón. El interferón está for-

mado por una serie de proteínas con propiedades antivirales y antineoplásicas. Dadas las características propias del gen del interferón, éste podrá ser clonado directamente en *E. coli* o levaduras y procesada la información contenida en el gen hasta la formación de la proteína.

b) Preparación de vectores y búsqueda de agentes de selección para el clonaje de genes en células eucariontes. Actualmente no existen ni vectores de clonaje ni antibióticos que se puedan utilizar como agentes de selección de células transformadas en organismos superiores. Las técnicas actuales utilizan mutaciones específicas en las células del huésped. Desde un punto de vista médico e industrial es absolutamente indeseable la necesidad de inducir mutaciones previas al clonaje. Uno de los vectores ya diseñados permite la introducción en levaduras y células animales de DNA exógeno, usando como agente selectivo, el antibiótico G-48 derivado de la gentamicina.

c) Se está estudiando a nivel genético y molecular el sistema *achaete-scute* de *Drosophila melanogaster*. El sistema *achaete-scute* comprende un locus estructural, el locus complejo *achaete-scute*, y dos otros loci (*hairy* y *extramacrochaete*) que parecen corresponder a dos genes *transreguladores* (por represión) del complejo *achaete-scute*. La excepcional longitud del locus, sus efectos específicos sobre el sistema nervioso y la existencia de genes posiblemente trans-reguladores del sistema (sólo se tiene datos de otro sistema en *Drosophila*) hacen de él un modelo para estudiar las bases moleculares de su funcionalidad biológica.

*Instituto de Biología Molecular (C.S.I.C.; Universidad Autónoma de Madrid)*

a) Se lleva a cabo un proyecto de análisis y clonaje de genes inducidos por acción de hormonas esteroides de insectos (*Drosophila melanogaster*). El objetivo más inmediato es el estudio de los modos de expresión de genes que pueden ser modulados en su actividad por controles hormonales y conocer cuáles son los mecanismos que dirigen el metabolismo celular siguiendo determinados programas de desarrollo del organismo total. Aunque las hormonas esteroideas en insectos y mamíferos difieren estructuralmente, es muy probable que su mecanismo de acción sea similar, por lo que el análisis y clonaje de los genes inducibles por hormonas esteroideas, en un sistema biológico apropiado, como *Drosophila*, serían de gran interés médico.

Además del interés que pueda tener esta investigación por sí misma, conlleva la puesta a punto de técnicas que consigan una mayor eficiencia de los sistemas de clonaje, mejora de vectores y producción de proteínas.

b) Se ha comenzado el estudio del sistema génico que controla la expresión de la catepsina D. Esta enzima es una proteasa ácida lisosomal. Su actividad está relacionada tanto con procesos fisiológicos normales como patológicos. Entre los primeros, interviene en el recambio de aminoácidos, regresión del útero después del parto y remodelación de la mama durante la lactancia. Referente a su repercusión patológica, se ha descrito que su no presencia está relacionada con distrofia muscular, artritis reumatoide, ciertas cardiopatías y con el crecimiento de tumores. La alta actividad de esta enzima se relaciona con

una degradación no controlada de cartilagos y mielina.

La aplicación de técnicas de recombinación de DNA sería el único camino posible que permitiera conocer el sistema génico o multigénico que codifica esta enzima y su regulación. Para el aislamiento de este sistema génico se realizarán los siguientes pasos: 1) síntesis de cDNA a partir del mRNA de la catepsina D; 2) introducción del cDNA en un plásmido de *E. Coli*; 3) amplificación del gen correspondiente y 4) clonaje de estos genes en plásmidos o fagos bacterianos.

*Instituto de Enzimología (C.S.I.C.; Universidad Autónoma de Madrid)*

Se lleva a cabo un proyecto de investigación que utiliza técnicas de ingeniería genética para el estudio de problemas de regulación y expresión de genes durante el desarrollo de organismos. Se realiza el clonaje del DNA de *Artemia* como medio de selección y amplificación de los genes que codifican el RNA Ribosomal y los mRNA de unas proteínas enzimáticas reguladas en cuanto a su producción, durante el desarrollo del crustáceo. Para el clonaje se utiliza el plásmido pBR322.

*Departamento de Bioquímica y Microbiología (Universidad Politécnica de Madrid)*

a) Localización de los genes que codifican para el sistema de oxidación de  $H_2$  en *Rhizobium* y transferencia de estos genes a

cepas de *Rhizobium* agrícola-mente importantes. Seguidamente se hará una evaluación de la capacidad de fijación de  $N_2$  de los transformantes. Esto supone la clonación de estos genes en vectores apropiados.

b) Purificación de los mRNA que llevan la información para la síntesis de proteínas con alto contenido de lisina en endosperma de cebada. Una vez realizada esta purificación se pretende construir DNA con objeto de clonar los genes correspondientes y producir las proteínas de forma industrial.

*Instituto de Biología Celular (C.S.I.C.)*

Desarrolla fundamentalmente un programa de investigación que tiene por objeto la formulación de un modelo del crecimiento y división celular en bacterias y el estudio de la regulación y la coordinación de diferentes procesos fisiológicos celulares. Para el desarrollo de tal programa se utiliza, entre otros procedimientos, la ingeniería genética mediante el:

a) Empleo de técnicas de recombinación *in vitro* con objeto de obtener vectores amplificables (fago  $\lambda$ ) que faciliten la identificación de los productos de genes que intervienen en los procesos de crecimiento y división de bacterias y de técnicas de fusión génica *in vivo* con objeto de estudiar la expresión de genes, cuyos productos intervienen, coordinan y regulan la división de bacterias.

b) Clonaje de orígenes de replicación del cromosoma de *E. coli* y el estudio de la replicación *in vitro* de un plásmido cuyas características son las de poder formar un número elevado de copias en la célula huésped.

*Departamento de Microbiología (Universidad de Granada)*

Establecimiento en microorganismos eucarióticos (*Saccharomyces cerevisiae*) de la capacidad de fijación de nitrógeno atmosférico mediante dos vías: 1) Obtención artificial de endosimbiosis mutualistas entre bacterias fijadoras de nitrógeno y la citada levadura, y 2) implantación en ésta de un operón *nif* operativo.

Las endosimbiosis se están tratando de conseguir por introducción de células —intactas o modificadas— de bacterias fijadoras de nitrógeno (*Azotobacter*, *Klebsiella*, etc.) en esferoplastos de *S. cerevisiae*, posterior regeneración de los mismos, y selección de los clones que muestran capacidad de crecer en medio de cultivo exentos de fuentes nitrogenadas y dan positivas las pruebas de la reducción del acetileno.

La implantación de un operón *nif* operativo en *S. cerevisiae* se está intentando mediante la construcción de un plásmido quimérico portador del operón *nif* de *K. pneumoniae*, el fragmento IR2 —que contiene el replicón— del plásmido de 2  $\mu$  de levadura, marcadores de resistencia de antibióticos y alelos silvestres correspondientes a marcadores auxotróficos y su posterior introducción en esta levadura mediante un proceso de transformación.

*Departamento de Bioquímica (Universidad de Sevilla)*

Estudios conducentes a la producción de amoníaco, hidrógeno molecular, agua oxigenada y biomasa de calidad a partir de algas microscópicas, bacterias fotosintéticas y bacterias fijadoras de nitrógeno, así como la selección genética de los organismos más adecuados.

*Departamento de Microbiología*  
(Facultad Veterinaria de León)

Su trabajo se ha centrado en el desarrollo de nuevas técnicas de recombinación genética y fusión de protoplastos con objeto de producir cepas superproductoras de varios aminoácidos y antibióticos. Al mismo tiempo se están construyendo y analizando vectores endógenos en *Brevibacterium lactofermentum* y en *S. griseus* NRRL 385, con objeto de amplificar en ellos las etapas enzimáticas limitantes y de esta forma incrementar la biosíntesis de antibióticos y aminoácidos. Igualmente se pretenden construir cepas híbridas para la obtención de antibióticos mixtos.

#### **Firmas comerciales**

No se dispone de datos excesivamente específicos acerca de los planes futuros que las empresas españolas pertenecientes a los sectores farmacéutico y químico poseen en el área de la ingeniería genética. Sin embargo, se puede afirmar que existen una serie de empresas, tales como Antibióticos, S. A., Laboratorios Abelló, S. A., Cepsa, Enpetrol, Explosivos Riotinto, S. A., Ferrer Internacional, Ingeniería Química de Tarragona, S. A., Instituto Llorente, S. A., etc., que están vivamente interesados en el tema de la biotecnología. Este interés se ha traducido en la formulación y puesta en marcha de programas de investigación y desarrollo de productos y procesos, en este área, de

próxima aplicación industrial y comercial.

Es de destacar la constitución en febrero de 1981, de la empresa Inmunología y Genética Aplicada, S. A. "INGENASA", a iniciativa del Instituto Nacional de Industria en colaboración con Laboratorios Sobrino, S. A., con capital social suscrito a partes iguales.

Puede asimismo afirmarse que los contactos entre Universidad y Empresa se están produciendo, aunque de forma incipiente. De hecho, algunos de los programas de investigación y desarrollo formulados, lo han sido en base a técnicas puestas a punto por centros oficiales de investigación y departamentos universitarios.



## DEFINICIONES Y TERMINOS UTILIZADOS EN INGENIERIA GENETICA

Las definiciones y términos que se señalan a continuación se proponen como ayuda para entender la tecnología por ellos descrita. Se ha procurado seguir un lenguaje tan llano como ha sido posible, evitando utilizar términos técnicos no definidos con anterioridad y reduciendo al mínimo el número de estos.

### A

#### Anticuerpos

Son proteínas con sitios de combinación que reconocen la forma de las superficies de sustancias extrañas. La combinación del anticuerpo con el antígeno desencadena procesos capaces de neutralizar y eliminar la sustancia extraña. Además de esta función fisiológica, los anticuerpos han sido y son herramientas muy específicas para el diagnóstico clínico y la investigación. Cuando se inyecta un antígeno a un animal, éste responde elaborando anticuerpos dirigidos contra las distintas partes del mismo antígeno. Es prácticamente imposible separar los distintos anticuerpos debido a que son moléculas muy semejantes. El animal produce una mezcla de anticuerpos contra un mismo antígeno y estas mezclas son las que se han venido usando para diagnósticos.

### B

#### Bacterias

Son células simples cuyo DNA no está compartimentalizado en un núcleo. Muchas de ellas están muy estudiadas y se conocen con bastante exactitud sus mecanismos genéticos de transmisión de información, duplicación del DNA, formación de RNA y traducción de la información en proteínas.

### C

#### cDNA (o DNA complementario)

Se denomina así el DNA de una cadena obtenido mediante copia del mRNA por medio de enzimas especiales (transcriptasa inversa). Los genes de muchas proteínas eucariotes consisten en fragmentos de DNA interrumpidos. Por ello es útil tener acceso a estos genes a través del mRNA (en el que las interrupciones se han eliminado) para reconstruir el DNA correspondiente de forma que pueda ser reconocido por las bacterias. El cDNA se ha utilizado para clonar genes de eucariotes en bacterias.

#### Células

Son seres vivos autónomos, rodeados por una membrana. En su interior contienen una o varias cadenas de DNA (cromosomas) y el sistema enzimático necesario para duplicarlo y convertir la información almacenada en proteínas. Hay dos tipos de células: células procariontes o bacterias y células eucariotes. Toda célula no es sólo un organismo de vida autónoma sino que es capaz de dividirse al duplicar su DNA.

#### Células eucariotes

Son células complejas que poseen su información en forma de DNA protegida por una envuelta membranosa denominada núcleo. Son eucariotes las células de las plantas y animales, además de los hongos, protozoos y levaduras. Aunque los mecanismos de expresión del DNA en RNA y proteínas son muy parecidos a los de las bacterias, los detalles no son bien conocidos. Lo que se conoce por ahora, pone de manifiesto que las células eucariotes poseen una gran complejidad

comparada con la de las bacterias. Así la información en el DNA de muchas proteínas eucariontes está interrumpida por fragmentos de DNA que no codifican proteínas. El sistema de formación de mRNA en estas células es mucho más complejo que el de bacterias.

### Clonar

Esta palabra se utilizaba originariamente para definir el proceso por el cual se obtenía un grupo de células a partir de una sola célula. Cada una de las células del grupo celular tiene idéntica información genética (clon). El término se ha extendido al proceso de obtener muchas copias de un gen a partir de una copia. Este proceso de multiplicación comprende a su vez tres subprocesos: a) introducción de una colección de genes en varias células, b) aislamiento de cada célula portadora de un sólo gen incorporado, c) selección del grupo de células que hayan incorporado el gen de interés.

### Código Genético

Se denomina así la equivalencia o código que existe entre el orden de las bases en el DNA y el orden de los aminoácidos en las proteínas. Tres bases en el DNA codifican un aminoácido en la proteína. La información biológica se guarda y transmite a la progenie en DNA. En cada célula de un individuo, la información del DNA se moviliza haciendo varias copias de mRNA. Cada copia o mRNA se traduce en la célula en una proteína.

### Colección de genes

Todo el material genético contenido en el DNA de la célula de un organismo puede romperse en fragmentos del tamaño aproximado de

un gen, utilizando diferentes enzimas de restricción. Cada uno de los fragmentos puede incluirse en un vector y multiplicarlo millones de veces en bacterias con lo que se obtendrá una colección completa de genes. El aislamiento de la bacteria que contiene ese gen, se convierte así en una forma de aislar el gen.

### Conjugación

Unión de dos bacterias que permite el paso de material genético de una (la célula donadora) a otra (la célula receptora).

## D

### DNA: Acido Desoxirribonucleico

Es la forma molecular mediante la que se guarda y transmite la información biológica hereditaria. El DNA está constituido por dos cadenas complementarias unidas. Estas están constituidas a su vez por 4 unidades monoméricas dispuestas linealmente una a continuación de otra, denominadas bases: adenina (A), timidina (T), citosina (C), y guanina (G). El orden o secuencia de estas bases en la cadena y su longitud es lo que codifica la información biológica cuya última expresión son los caracteres hereditarios: color del pelo, forma de la nariz, enfermedades hereditarias, etc. El DNA existe en forma de doble cadena aunque es posible obtener DNA de una sola cadena. Las dos cadenas de DNA son complementarias, como si se tratase de una cremallera, en cuanto que A siempre está enfrente de T, y G de C.

### Duplicación

Mecanismo por el cual se producen copias exactas de un DNA que se toma como modelo. Este mecanismo implica la separación de las dos cadenas del DNA y la construcción, a partir de cada una de ellas, de una nueva cadena complementaria mediante el sistema de apareamiento de bases.

## E

### Enzimas

Son proteínas, biocatalizadores, capaces de poner en marcha reacciones bioquímicas dando como resultado la transformación de unas moléculas en otras. Las moléculas sujeto de la acción enzimática se denominan precursores. Los precursores se transforman en productos complejos.

### Enzimas de restricción

Son enzimas capaces de reconocer y cortar moléculas de DNA de doble cadena en sitios específicos. La longitud de los fragmentos resultantes depende del número de sitios específicos de reconocimiento por la enzima concreta que tenga la molécula de DNA. En el sitio de rotura, los fragmentos de DNA resultantes tienen terminales de cadena sencilla, capaces de formar doble cadena con un fragmento complementario.

### Esferoblasto

Célula bacteriana o levadura cuya pared celular ha sido parcialmente

digerida (destruida) de tal manera que la célula toma una forma esférica.

## G

### Gen

Se denomina así cada fragmento de la cadena lineal de DNA que codifica una proteína. Se puede decir que un gen tiene 1.000-10.000 bases, aproximadamente. Los genes se encuentran en el DNA uno a continuación de otro. Su conjunto constituye un cromosoma.

## H

### Hemoglobinopatía

Enfermedad en la que algunas de las proteínas específicas llamadas hemoglobinas sufren alguna alteración. Hay varias clases de hemoglobinas:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\epsilon$ .

### Hibridomas (Anticuerpos monoclonales)

Las células secretoras de los anticuerpos pueden hacerse inmortales fusionándolas con mielomas y clonando las células fusionadas resultantes (hibridomas). Cada clon produce de forma persistente grandes cantidades del mismo anticuerpo, que resulta por lo tanto un anticuerpo monoclonal. La ventaja de este método consiste en que los mielomas pueden fusionarse con células

secretoras de anticuerpos procedentes de animales inmunizados con un antígeno determinado. Algunas de las células híbridas expresan por lo tanto la propiedad de crecimiento continuo de los mielomas y la secreción del anticuerpo específico de las células secretoras normales. Los anticuerpos altamente específicos producidos por este método han resultado ser herramientas de gran versatilidad en muchas áreas de diagnóstico clínico e investigaciones médicas.

### Huésped o receptor

El huésped o receptor es el organismo al que se transplantan los genes de otro, generalmente una bacteria. Los genes se transfieren al huésped mediante un vector.

## M

### Mielomas

Son células tumorales que segregan anticuerpos. Estas células, al contrario de las células normales productoras de anticuerpos, poseen gran capacidad de proliferación *in vivo* o *in vitro*. El mieloma es un clon *inmortal* de células descendientes de una sola célula progenitora.

### mRNA: Acido ribonucleico mensajero

Es la forma molecular mediante la que se moviliza la información contenida en el DNA. El RNA es un polímero constituido por una cadena molecular formada a su vez por 4 unidades monoméricas distintas,

dispuestas linealmente una a continuación de otra, denominadas bases: adenina (A), uracilo (U), citosina (C), y guanina (G). Así pues el RNA es una molécula semejante al DNA pero difiere, entre otras cosas, en que es una cadena sencilla y el lugar de T tiene U.

## P

### Plásmido

Es una molécula de DNA circular que se encuentra en las bacterias además del DNA cromosomal. Algunos plásmidos se transfieren con facilidad entre bacterias de la misma especie al colocar un gen en un plásmido éste se convierte en transportador de la información o vector. Al introducir el vector en la bacteria, se inserta en ella el gen deseado. Para que el plásmido pueda multiplicarse en la bacteria, ha de poseer un origen de replicación. Para que la información del plásmido pueda expresarse en forma de proteínas ha de poseer un promotor. También los virus pueden actuar como vectores para el transporte de información a células eucariotes.

### Promotor

Secuencia de DNA a la que se une la proteína que lee la información contenida en el DNA o gen.

### Proteína

Es la forma molecular que expresa la información contenida en el mRNA. Las proteínas son polímeros constituidos por unas 20 unidades

monoméricas distintas, dispuestas linealmente una a continuación de otra, denominadas aminoácidos. El orden de los aminoácidos en la cadena y la longitud de ésta determinan las propiedades de las proteínas. Estas propiedades determinan las características y forma de los organismos. Una cadena de proteína tiene de 100-1.000 aminoácidos, aproximadamente. A las proteínas cortas con menos de 20-30 aminoácidos se les denomina péptidos. Algunas proteínas están formadas por varias cadenas de aminoácidos unidas.

#### **Proteína híbrida**

Debido a que las bacterias no fabrican, generalmente, proteínas cortas o péptidos y a que sus genes responden a controles diferentes que los eucarióticos, el aparato genético de las bacterias no está totalmente preparado para leer y producir el gen insertado. Una de las maneras utilizadas para resolver este problema consiste en unir un gen de eucariotes con un gen bacteriano. La bacteria utiliza así sus propios controles para expresar esta información. Esta estrategia produce una proteína híbrida en la que la porción deseada de proteína o péptido eucariótico está contigua a una proteína bacteriana. Una vez producida esta proteína híbrida se deberá romper con las enzimas apropiadas para obtener la proteína deseada.

## **R**

#### **Recombinación**

Mecanismo por el cual en un cromosoma de la descendencia hay

una combinación de genes que no había en ninguno de los cromosomas de los padres.

## **S**

#### **Sistema informativo**

Al conjunto de mecanismos y estructuras encargados de la conservación y transmisión de los caracteres se le ha dado el nombre de sistema informativo o hereditario. El conjunto de DNA, organizado en genes, constituye el sistema informativo.

#### **Sistema inmune-antígenos**

Cuando una sustancia extraña penetra o se inyecta en el cuerpo de un vertebrado, una de sus respuestas es la elaboración de proteínas capaces de neutralizar la sustancia extraña. Toda sustancia capaz de inducir respuestas de este tipo se han denominado antígenos. El conjunto de células y moléculas que reaccionan ante la presencia de una sustancia extraña se denomina sistema inmune.

#### **Sistema operativo**

Al conjunto de mecanismos y estructuras encargados de llevar a la práctica o de expresar la información biológica (caracteres) contenida en los genes, se le ha denominado sistema operativo. Principalmente, el sistema operativo de los seres vivos se compone de RNA y proteínas-enzimas.

## **T**

#### **Talasemia**

Hemoglobinopatía que se caracteriza por deficiencias de la hemoglobina  $\beta$ .

#### **Traducción**

Mecanismo por el cual se sintetiza una proteína tomando como modelo un mRNA. Este mecanismo utiliza el código genético para descifrar la información contenida en el mRNA.

#### **Transcripción**

Mecanismo por el cual se sintetiza RNA tomando un DNA como modelo.

#### **Transducción**

Mecanismo de transferencia de material genético de una bacteria a otra por medio de un virus bacteriano. El gen de la bacteria huésped es incorporado en el virus, el cual sirve como vector para el transporte del gen a otra bacteria.

#### **Transformación**

Mecanismo por el cual se introduce un fragmento de DNA del exterior a una célula o de una célula a otra. Mediante este nuevo fragmento de DNA la célula huésped adquiere nuevas potencialidades o funciones.

## RESULTADOS OBTENIDOS DE LA APLICACION DEL METODO DELPHI AL CAMPO DE LA INGENIERIA GENETICA.

### V

#### Virus

Los virus son partículas compuestas de una cadena informativa que puede ser DNA o RNA y de una cápsula de proteínas que los rodea. Los virus son capaces de dividirse y formar otros virus semejantes a ellos sólo cuando se encuentran en el interior de una célula. Durante los procesos de infección, algunos virus inyectan su DNA al interior de la célula mientras que su envuelta proteica permanece en el exterior. Algunos virus bacterianos o fagos están muy estudiados, mientras que se conocen mucho menos los virus de plantas y animales.

El estudio, cuyos resultados se exponen a continuación, fue elaborado por E. Cowden, C. H. Gunn, y S. Wilcox, de la School of Urban and Public Affairs, y por L. Ritter del Department of Engineering and Public Policy, ambas instituciones pertenecientes a la Universidad Carnegie-Mellon en Pittsburg, USA.

El estudio trata de identificar algunos de los adelantos o innovaciones tecnológicas que se pueden esperar de las ciencias biológicas, mediante la aplicación de las técnicas de recombinación de DNA, así como una estimación del periodo de tiempo necesario para su realización en la práctica.

La aplicación del método Delphi se desarrolló del siguiente modo:

Se seleccionó un panel de 22 expertos estadounidenses, todos ellos con experiencia en el campo de la ingeniería genética y relacionados con la agricultura, la industria, la medicina, la investigación básica, la administración y el medio ambiente. El método Delphi constó de tres fases, desarrolladas desde el otoño de 1978 hasta la primavera de 1979.

La primera fase tuvo por objeto la identificación, por parte de los expertos consultados, de las innovaciones concretas y conocimientos científicos que se podían esperar en el campo de la recombinación de DNA, tanto en investigación básica como en tres áreas de aplicación: agricultura, medicina e industria.

En la segunda fase se presentó a los expertos la lista de innovaciones generadas en la primera fase, pidiéndose a los mismos la estimación, con una probabilidad del 50% en un caso, y del 90% en otro, del periodo necesario para la materialización de cada una de las innovaciones y supuestos previstos.

En la tercera fase se presentó a los miembros del panel la distribución de las estimaciones obtenidas, permitiéndoseles, a la vista de las mismas, la posibilidad de reevaluarlas y modificarlas.

Los resultados del estudio se muestran en las Tablas que aparecen a continuación.

Se presentan los datos obtenidos

para cada uno de los supuestos previstos, en los dos niveles de probabilidad de ocurrencia: 50% y 90%. Se hacen constar las fechas previsible más próxima y lejana,

así como las correspondientes al 25, 50 y 75% de la distribución de respuestas obtenidas, equivalentes al primer, segundo (mediana) y tercer cuartil.

SUPUESTOS PREVISIBLES	NIVEL DE PROBABILIDAD 50 %					NIVEL DE PROBABILIDAD 90 %				
	Fecha más próxima	25 %	50 % mediana	75 %	Fecha más lejana	Fecha más próxima	25 %	50 % mediana	75 %	Fecha más lejana
<b>Conocimientos científicos</b>										
1. Comprensión de la estructura y expresión de los genes que codifican para:										
a) proteínas . . . . .	1979	1980	1982	1987	2000	1980	1982	1989	1995	2010
b) hormonas . . . . .	1979	1980	1983	1985	2000	1980	1982	1989	1995	2010
c) factores de la sangre . . . . .	1979	1981	1984	1985	2000	1980	1982	1988	1995	2000
2. Comprensión de la síntesis de proteínas . . . . .										
	1979	1980	1983	1987	1995	1980	1983	1985	2045	2050
3. Construcción de mapas del código genético humano . . . . .										
	1979	1981	1984	2005	2025	1980	1983	1986	2000	2050
4. Comprensión de la organización de los cromosomas en humanos . . . . .										
	1979	1981	1984	1988	2005	1980	1983	1986	2000	2050
5. Conocimiento de los procesos reproductivos de las células . . . . .										
	1979	1982	1985	1985	1994	1980	1983	1986	2000	2060
6. Mejora del conocimiento de los procesos de:										
a) desarrollo del organismo humano . . . . .	1983	1985	1989	1993	2100	1989	1991	2000	2018	2200
b) envejecimiento . . . . .	1983	1988	1990	1995	2122	1990	1991	2000	2005	2222
7. Comprensión de los procesos inmunológicos . . . . .										
	1979	1981	1984	1988	2022	1982	1985	1991	1995	2065
8. Desarrollo de cepas bacterianas con la deseada actividad antigénica . . . . .										
	1979	1980	1982	1985	1990	1979	1981	1987	1995	1998
9. Inducción de células efectivas y del sistema de reparación de DNA . . . . .										
	1985	1986	1990	1990	2000	1980	1991	1997	2000	2000
<b>Innovaciones Tecnológicas</b>										
<b>Agricultura</b>										
1. Desarrollo de plantas fijadoras de nitrógeno . . . . .										
	1982	1984	1985	1990	2037	1984	1989	1995	2027	2137
2. Desarrollo de plantas híbridas . . . . .										
	1980	1981	1985	1987	2465	1984	1985	1990	1998	2565
3. Desarrollo de proteínas unicelulares . . . . .										
	1979	1980	1982	1985	2823	1980	1984	1987	1995	2923
4. Desarrollo de plantas resistentes a las enfermedades y sequía:										
a) gramíneas . . . . .	1980	1985	1985	1985	2746	1985	1990	1995	2000	2846
b) árboles frutales . . . . .	1983	1985	1989	1992	2010	1985	1990	2000	2020	2847

SUPUESTOS PREVISIBLES	NIVEL DE PROBABILIDAD 50 %					NIVEL DE PROBABILIDAD 90 %				
	Fecha más próxima	25 %	50 % mediana	75 %	Fecha más lejana	Fecha más próxima	25 %	50 % mediana	75 %	Fecha más lejana
	5. Desarrollo de animales resistentes a las enfermedades y sequía . . . . .	1985	1990	1999	2000	Nunca	1989	2000	2014	2020
6. Desarrollo de plantas resistentes a depredadores . . . . .	1982	1985	1990	2000	2871	1986	1990	2000	2010	2971
7. Mejora en el valor nutricional de:										
a) frutas . . . . .	1985	1986	1990	2000	2412	1990	1993	2010	2035	2612
b) gramíneas . . . . .	1984	1985	1986	1995	2412	1990	1993	2000	2033	2512
c) ganado . . . . .	1985	1992	1998	2000	2812	1990	2005	2020	2050	2912
8. Disponibilidad de proteína de pescado usando técnicas de recombinación de DNA . . . . .	1980	1983	1987	1992	2812	1983	1986	1995	2000	2912
<b>Medicina</b>										
9. Síntesis de productos terapéuticos en bacterias:										
a) insulina . . . . .	1979	1980	1983	1986	2000	1981	1982	1984	1999	2000
b) hormona del crecimiento . . . . .	1979	1980	1981	1985	1995	1980	1982	1984	2000	2010
c) factores de la sangre . . . . .	1980	1982	1984	1988	2000	1980	1983	1988	1995	2100
d) constituyentes de la membrana celular . . . . .	1980	1983	1984	1990	2100	1981	1984	1989	2000	2200
10. Transplante de los genes responsables de producir estreptomycin en E coli . . . . .	1979	1980	1981	1982	2112	1981	1982	1984	1985	2197
11. Utilización de la terapia genética para la corrección de ciertas enfermedades:										
a) enfermedades monogénicas . . . . .	1985	1986	1993	2003	Nunca	1990	1995	2010	2039	Nunca
b) fenilcetonuria (PKU) . . . . .	1985	1986	1993	2003	2573	1990	1995	2005	2032	2673
12. Utilización de chequeo genético para el aislamiento de los genes responsables de deformaciones congénitas . . . . .	1980	1982	1985	1990	1995	1980	1985	1990	2005	2020
13. Mejora de la detección amniocentética de lesiones genéticas . . . . .	1980	1981	1983	1988	1995	1980	1985	1990	2000	2005
14. Manipulación genética de mamíferos . . . . .	1982	1986	1990	1997	2327	1986	1990	2000	2020	2447
15. Inducción de enzimas que faltan en células . . . . .	1980	1982	1985	1990	2311	1985	1987	1992	2000	2411
<b>Industria</b>										
16. Desarrollo de bacterias para su uso en tratamiento de desechos y control de la contaminación . . . . .	1980	1982	1984	1985	2471	1982	1988	1989	1990	2571
17. Desarrollo de sustitutos de productos petroquímicos:										
a) pesticidas . . . . .	1980	1985	1988	1989	2331	1985	1990	1995	2000	2341
b) aceites o lubricantes . . . . .	1980	1984	1987	1989	2989	1985	1990	1995	1999	2431
18. Extracción de metales . . . . .	1982	1984	1989	1990	2532	1985	1995	2000	2000	2632
19. Determinación de la naturaleza del cáncer . . . . .	1980	1984	1985	1995	2112	1982	1988	2002	2002	2212

# INGENIERIA GENETICA EN PRINCIPALES INDUSTRIAS

	POSIBILIDADES TECNICAS	INVESTIGACION FARMACOLOGICA	PRODUCCION VITAMINAS/HORMONAS	PRODUCCION ANALGESICOS/NARCOTICOS	PRODUCCION PROTEINAS HUMANAS	PRODUCCION ENZIMAS	PRODUCCION HORMONAS PEPTIDICAS	PRODUCCION INSULINA	PRODUCCION INTERFERON	PRODUCCION ANTIBIOTICOS	PRODUCCION VACUNAS/ANTIVIRALES	INVESTIGACION QUIMICA APLICADA	PRODUCCION POLIMEROS/PLASTICOS	PRODUCCION QUIMICA INTERMEDIA	PRODUCCION ENZIMAS USO INDUSTRIAL	FERMENTACION ALCOHOLICA	CONVERSION DE CELULOSA	LIXIVIACION	CONTROL DE CONTAMINACION	PRODUCCION ENERGIA/ACEITES	INVESTIGACION AGRO-ALIMENTARIA	PRODUCCION PROTEINAS
<b>INVESTIGACION INTENSIVA</b>																						
BIOGEN	⊙	⊙			⊙			⊙	⊙			⊙		⊙							⊙	
CETUS CORP	⊙	⊙							⊙	⊙		⊙		⊙	⊙	⊙	⊙			⊙		⊙
GENENTECH	⊙	⊙	⊙					⊙	⊙	⊙		⊙		⊙	⊙	⊙	⊙				⊙	⊙
GENEX	⊙	⊙	⊙	⊙					⊙	⊙		⊙		⊙							⊙	⊙
BETHESDA RESEARCH LABS.	⊙	⊙	⊙	⊙			⊙		⊙	⊙		⊙		⊙							⊙	
COLLABORATIVE RESEARCH	⊙											⊙			⊙	⊙						
NEW ENGLAND BIOLABS.	⊙	⊙					⊙															
<b>INVESTIGACION NO INTENSIVA</b>																						
ABBOTT LABS	⊙	⊙				⊙			⊙													
A. B. KABI	⊙	⊙						⊙	⊙													⊙
DUPONT	⊙	⊙			⊙	⊙	⊙	⊙	⊙			⊙	⊙									⊙
ELI LILLY	⊙	⊙						⊙	⊙													
EXXON	⊙	⊙							⊙			⊙	⊙									
G. D. SEARLE	⊙	⊙							⊙													⊙
GENERAL ELECTRIC	⊙	⊙							⊙							⊙	⊙		⊙	⊙		
HOECHST	⊙	⊙			⊙			⊙	⊙													⊙
HOFF MANN-LA ROCHE	⊙	⊙							⊙													⊙
IMPERIAL CHEMICAL IND.	⊙	⊙							⊙													⊙
INTERNATIONAL NICKEL CO.																		⊙	⊙			
LUBRIZOL												⊙	⊙	⊙								
MERCK	⊙	⊙							⊙			⊙	⊙	⊙								
MONSANTO	⊙	⊙			⊙				⊙													
NATIONAL DISTILLERS															⊙	⊙			⊙		⊙	
PFIZER	⊙	⊙							⊙													
RHÔNE-POULENC	⊙	⊙	⊙					⊙	⊙			⊙										
SCHERING-PLOUGH	⊙	⊙							⊙													
STANDARD BRANDS	⊙														⊙	⊙	⊙					
STANDARD OIL OF CALIF.												⊙	⊙	⊙	⊙							
TATE AND LYLE																						⊙
UPJOHN	⊙				⊙	⊙		⊙	⊙							⊙						

FUENTE: ARTHUR D. LITTLE DECISION RESOURCES, 80's SERIES REPORT: GENETIC ENGINEERING

# GENES DE POSIBLE INTERES COMERCIAL CLONADOS EN LA ACTUALIDAD

PROTEINA	REFERENCIA	ORIGEN DEL GEN	PROMOTOR	EXPRESION EN PROT.	ACTIVIDAD EQUIVALENTE	RENDIMIENTO MOLEC./AL.	PATROCINIO
PROINSULINA DE RATA	LYDA VILLA-KOMAROFF PNAS 75, 3727 (1978)	cDNA	P <sub>Ang<sup>R</sup></sub> /spst <sub>1</sub>	HIBRIDA	INMUNOLOGICA BIOLÓGICA	1x10 <sup>2</sup>	U. HARVARD
DHFR (DIHIDRO FOLATO REDUCTASA MAMIFERO)	ANNIE C.Y. CHANG NATURE 275, 617 (1978)	cDNA	P <sub>Ang<sup>R</sup></sub> /spst <sub>1</sub>	NO HIBRIDA	ENZIMATICA	—	U. STANFORD
hGH <sub>1</sub> (H. DEL CRECIMIENTO HUMANO)	DAVID V. GOEDEL NATURE 288, 544 (1979)	MIXTO	P <sub>Lac (uvr)</sub> & Ab <sub>1</sub> I	NO HIBRIDA	INMUNOLOGICA	1,86 x 10 <sup>5</sup>	KABIEM AB
hGH <sub>2</sub>	JOSEPH A. MARTIAL SCIENCE, 205, 602 (1978)	cDNA	P <sub>Tpa Hind III</sub>	HIBRIDA	INMUNOLOGICA	1,33 x 10 <sup>5</sup>	U. CALIFORNIA
HBV (VIRUS HEPATITIS B)	C. J. BURRELL NATURE 272, 43 (1978)	vDNA	P <sub>Ang<sup>R</sup></sub> /P <sub>TET<sup>R</sup></sub>	HIBRIDA	INMUNOLOGICA	—	SH / HO BIOGEN SA.
AG T SV 40	THOMAS M. ROBERTS PNAS 76, 760 (1979)	cDNA	P <sub>Lac (uvr)</sub> & Ab <sub>1</sub> I	NO HIBRIDA	INMUNOLOGICA	1—5x10 <sup>5</sup>	U. HARVARD
PROT. A CRD	THOMAS M. ROBERTS PNAS 76, 5595 (1979)	cDNA	P <sub>Lac (uvr)</sub> & Ab <sub>1</sub> I	NO HIBRIDA	BIOLÓGICA	1,9 x 10 <sup>5</sup>	U. HARVARD
β-GLOBINA DE CONEJO	LEONARD SUARENTE CE II, 22, 543 (1980)	cDNA	P <sub>Lac (uvr)</sub> & Ab <sub>1</sub> I	NO HIBRIDA	INMUNOLOGICA	5—8x10 <sup>3</sup>	U. HARVARD
LEU-ENCEFALINA	SHEMYAKIN ET AL. NUCL. ACID. RESCH. 85, 5170 (1980)	SYNTEICO	P <sub>Lac/sEOR<sub>1</sub></sub>	HIBRIDA	INMUNOLOGICA	1—2x10 <sup>5</sup>	ACAD. OF SCIENCE MOSCOW, URSS
INSULINA HUMANA	GOEDEL ET AL. PNAS 76, 110 (1979)	SYNTEICO	P <sub>Lac/sEOR<sub>1</sub></sub>	HIBRIDA	INMUNOLOGICA COMP. AMINO ACIDICA EQUIV.	1x10 <sup>5</sup>	GENETECH
SOMATOSTATINA	ITAKURA ET AL. SCIENCE, 198, 462 (1977)	SYNTEICO	P <sub>Lac/sEOR<sub>1</sub></sub>	HIBRIDA	INMUNOLOGICA BIOLÓGICA in vitro TAMARCO EQUIV.	1x10 <sup>3</sup> —2x10 <sup>4</sup>	HNMC DUARTE CALIFORNIA
β-ENDORFINA DE RATA	SHINE ET AL. NATURE 285, 459 (1985)	cDNA	P <sub>Lac/sEOR<sub>1</sub></sub>	HIBRIDA	INMUNOLOGICA BIOLÓGICA in vitro	8x10 <sup>5</sup>	AUSTRALIAN NATIONAL Y CITRAS
OVALBUMINA DE POLLO	T.H. FRASER AND BRUCE PNAS 75, 5936 (1978)	cDNA	P <sub>Lac (uvr)</sub> / s <sub>Hae III</sub>	HIBRIDA	INMUNOLOGICA TAMARCO EQUIV.	4x10 <sup>4</sup>	UPJOHN Co. MICHIGAN
OVALBUMINA DE POLLO	D. MERCEAU-PUJALON ET AL. NATURE 278, 505 (1978)	cDNA	P <sub>Lac (uvr)</sub> / s <sub>Hae III</sub>	HIBRIDA	INMUNOLOGICA TAMARCO EQUIV.	3x10 <sup>4</sup>	INS. PASTEUR PARIS
hSH (HORMONA CRECIM. DE RATA)	P.H. DEEBURG ET AL. NATURE 283, 316 (1978)	cDNA	P <sub>Ang<sup>R</sup></sub> /spst <sub>1</sub>	HIBRIDA	INMUNOLOGICA TAMARCO EQUIV.	2x10 <sup>4</sup>	HHMI CALIFORNIA
LE-IF HUMANO	S. NAGATA ET AL. NATURE 284, 316 (1980)	cDNA	P <sub>Ang<sup>R</sup></sub> /spst <sub>1</sub>	NO HIBRIDA	BIOLÓGICA in vitro	2	BIOGEN SA.
HA DEL FPV	J.S. EYTHASE ET AL. NATURE, 283, 174 (1980)	cDNA	P <sub>Tpa/s Hind I</sub>	HIBRIDA	INMUNOLOGICA TAMARCO EQUIV.	2x10 <sup>4</sup>	SEARLE REACH LAB. U.K.
V <sub>H</sub> DEL PMOV	H. KLIPPER ET AL. NATURE, 282, 559 (1981)	cDNA	P <sub>L (λ)</sub>	HIBRIDA	INMUNOLOGICA	1x10 <sup>3</sup>	BIOGEN SA.
F-IF HUMANO	R. DERVACK ET AL. NATURE, 287, 193 (1980)	cDNA	P <sub>L (λ)</sub>	HIBRIDA	BIOLÓGICA in vitro	—	BIOGEN SA.

# PROGRAMAS COMUNITARIOS EN BIOLOGIA MOLECULAR E INGENIERIA GENETICA

## PROGRAMA "CREST"

El Comité de Investigación Médica y Salud Pública (CRM), creado dentro del Comité de Investigación Científica y Técnica (CREST), presenta un programa plurianual de investigación y desarrollo en este área, compuesto por seis proyectos. El programa, cuya duración es de cinco años (1981-1985), está aún sometido a discusión en el seno del Comité de representantes permanentes (COREPER). Se prevé una acción indirecta, materializada a través de contratos, a costos compartidos, con organismos públicos o privados de los países miembros.

### Títulos de proyectos:

- Desarrollo y evaluación de nuevos reactores que utilicen sistemas multi-enzimáticos inmovilizados, comprendiendo sistemas que exijan un medio multi-fase y la regeneración del cofactor.
- Desarrollo de biorreactores para eliminación de la toxicidad industrial y humana.
- Transferencia de genes de diferentes orígenes a *E. coli*, *Saccharomyces cerevisiae* y otros microorganismos apropiados.
- Desarrollo de vehículos de clonaje.
- Transferencia de nuevas informaciones genéticas a especies importantes para las industrias biológicas.
- Estudios de estabilidad de estirpes y mejora de métodos que permitan detectar la contaminación.

## PROGRAMA "FAST"

Sobre la base de las perspectivas a largo plazo de las decisiones que sobre I + D se adoptan y en función del impacto de estas decisiones sobre las generaciones futuras, la Comunidad articula en 1979 el proyecto "FAST" (Forecasting and Assessment in the field of Science and Technology) para contribuir a la

definición de objetivos y prioridades y desarrollar así una política coherente a largo plazo en esta materia.

Los resultados obtenidos al final del período de cinco años, para el que se crea el programa "FAST", serán evaluados y a la luz de la experiencia adquirida en esta primera fase piloto se articularán los proyectos y acciones futuras.

Dentro del Programa FAST, existe un subprograma "Bio-sociedad", en el que participan grupos y centros de investigación de diferentes países y la Federación Europea de Biotecnología, siendo financiados sus trabajos aproximadamente en un 60 % por la CEE.

Los objetivos generales que persigue el subprograma son:

- a) reunir sistemáticamente todas las informaciones que describen las capacidades europeas actuales en materia de biotecnología;
- b) determinar las posibilidades de desarrollo de la biotecnología en los países de la Comunidad;
- c) definir las actividades importantes en I + D que pudieran tener un efecto favorable sobre la evolución deseada a largo plazo;
- d) elaborar recomendaciones sobre esta base para un programa a largo plazo que contribuya a reforzar la posición estratégica de Europa en este campo.

La finalidad del subprograma va más allá de las cuestiones puramente científicas e industriales, para incidir en aspectos sociales y políticos, a fin de suministrar datos que permitan hacer el mejor uso de la biotecnología.

### Títulos de los proyectos:

(Para cada uno de ellos, figura el país respectivo del equipo o institución ejecutor y el plazo de ejecución y/o la fecha de finalización.)

- Hacia una estrategia comunitaria para una biotecnología europea (seminario).

Dinamarca.  
Septiembre-81

- Las biotecnologías en la producción de materias primas químicas y productos derivados.

Gran Bretaña.  
19 meses. Marzo-82

- Las proteínas: impactos probables y estrategias de desarrollo para la biotecnología en los sistemas agroalimentarios europeos.

Francia.  
18 meses. Febrero-82

- Estrategia comunitaria para la biotecnología: análisis de las disciplinas ligadas a la biotecnología.

Holanda y Gran Bretaña.  
18 meses. Marzo-82

- Las tecnologías de apoyo en el desarrollo de la biotecnología. (en negociación)

- Las implicaciones de la expansión de las industrias basadas en la biotecnología, sobre el empleo.

Francia.  
12 meses. Diciembre-81

- La aceptabilidad social de la biotecnología. Alternativas sociales y políticas en el desarrollo de la biotecnología.

(en negociación)

- Las proteínas: consecuencias para los países en vías de desarrollo y el comercio internacional.

Bélgica.  
12 meses. Octubre-81

- El impacto de la biotecnología para el tercer mundo: alimentación y energía.

Francia.  
12 meses. Septiembre-81

- Precisiones tecnológicas de los procesos utilizados en biotecnología.

Gran Bretaña.  
8 meses. Mayo-81

- Problemas y perspectivas de la

eliminación de la toxicidad como técnica terapéutica.

Italia.

8 meses. Mayo-81

- Las perspectivas de la biotecnología aplicada al medio ambiente (seminario).

Irlanda.

Abril-82

Bélgica

Alemania

Países Bajos

Grecia

Suiza

Septiembre-83

- Cultivos in vitro para la depuración y multiplicación de las plantas hortícolas. (en negociación).

## PROGRAMA "COST"

Dentro del marco de la cooperación internacional, la CEE desarrolla la cooperación en materia de ciencia y tecnología a través del programa "COST" (Coopération Européenne dans le domaine de la recherche scientifique et technique) con 1) países de Europa occidental que no forman parte de la CEE; 2) países en vías de desarrollo; 3) grandes países industriales no europeos; y 4) organizaciones internacionales, especialmente Naciones Unidas (UNESCO, UNIDO, FAO, OMS, etc...), OCDE y FES (Fondation Européenne de la Science).

### Títulos de proyectos :

(Para cada uno de ellos figuran los países ejecutores y la fecha de finalización prevista.)

- Producción de proteínas monocelulares y su utilización para alimentación animal.

Bélgica

Dinamarca

R. F. Alemana

Francia

Irlanda

Países Bajos

Suiza

España

Suecia

Turquía

Marzo-83

Enriquecimiento de los cultivos de base en materias minerales.

## PROGRAMA ESPECIAL DE I + D EN BIOTECNOLOGIA E INGENIERIA GENETICA (EXTRACTO)

El principal objetivo de este Programa Especial de Investigación y Desarrollo, sobre biotecnología e ingeniería genética, es la coordinación de los medios financieros y los esfuerzos de investigación y desarrollo del Estado y de las empresas, a través de una serie de proyectos y subproyectos que han de incidir en diferentes campos desde el punto de vista de la formación de personal, el desarrollo de nuevas tecnologías y de sus posibles aplicaciones industriales.

Todo ello para conseguir que los resultados prácticos del Programa sean utilizados en beneficio de la economía española a través de las empresas de cada sector identificado como destinatario de los resultados logrados y, muy especialmente, el sector industrial farmacéutico, alcanzándose los objetivos sanitarios previsible, que puedan ser desarrollados por las empresas interesadas. De esta forma, se podrá conseguir el protagonismo internacional de nuestra ciencia y tecnología en un área tan importante, como es la de la biotecnología, y perpetuar el esfuerzo que realiza la sociedad española a través de sus organismos científicos y empresariales.

Por otra parte, es necesario conseguir que en los Centros Oficiales cuya estructura está financiada por el presupuesto del Estado, se sustituyan los contratos de servicios de investigación que realizan actualmente con empresas transnacionales a un coste marginal, por acuerdos o contactos con empresas de capital español en programas especiales debidamente financiados y coordinados por la Administración.

El objetivo global del Programa se concreta en apoyar la investigación y desarrollo, para conseguir una autonomía de medios tecnológicos, personal experimentado y productos, provenientes de los conocimientos de las técnicas que se utilizan en la biotecnología e ingeniería genética.

Los medios y sistemas dirigidos a la exploración, prospección y explota-

ción de productos originados por estas tecnologías, suponen una posibilidad para nuestro país, ya que se dan las condiciones adecuadas para ello, como son disponer de equipos básicos de investigadores, en número mínimo pero suficiente para una tecnología de punta, y conocer que a partir de esta tecnología pueden abordarse numerosos proyectos para la consecución, con independencia tecnológica, de productos del más elevado interés científico y estratégico.

Contribuye a todo ello tanto el interés despertado en la opinión pública española e internacional, como la disposición de la Comunidad científica y las empresas para emprender la realización de proyectos en estas áreas de la ciencia.

Por vez primera, puede abordarse una tecnología de punta en España, al disponerse de recursos humanos adecuados y haberse logrado el interés básico de todos los estamentos interesados.

El objetivo global se orienta específicamente hacia las siguientes grandes áreas:

- Conseguir unos conocimientos científicos y técnicos que sitúen a nuestra comunidad científica a niveles internacionales, prestando la debida atención a la formación de personal y su reciclaje, creación de estructuras, etc., que permitan a la industria nacional operar en base a esos conocimientos para alcanzar resultados comercializables.
- Desarrollar conocimientos y tecnologías en las áreas de biología molecular, biología celular, inmunología, ingeniería genética y bioquímica, entre otras, que permitan tanto a escala de ensayo de laboratorio, como posteriormente a otros niveles, planta semipiloto, piloto y producción industrial, poder disponer en el mercado español de sustancias de interés químico, farmacéutico o sanitario, que se puedan considerar como

estratégicas para nuestro país y de muchas de las cuales se depende del exterior.

- Establecer las bases de una I + D en biotecnología e ingeniería genética que permita abordar nuevas investigaciones en el futuro.

En consecuencia, el Programa se estructura con objetivos orientados específicamente hacia el desarrollo de actividades de investigación fundamental y aplicada, desarrollo tecnológico y transferencia de la tecnología adquirida en los centros públicos y privados de investigación hacia la industria y, para ello, es imprescindible:

- *A corto plazo:* Crear la infraestructura científica y técnica, que pueda permitir una decidida participación nacional en la exploración y explotación de los recursos que proporcionen la biotecnología y la ingeniería genética.
- *A medio plazo:* Una autosuficiencia de medios de investigación y de trabajos que proporcionen la máxima participación a la industria nacional en la utilización y explotación de los recursos provenientes de los desarrollos logrados mediante el empleo de estas tecnologías.
- *A largo plazo:* Una presencia activa en el mercado internacional en los sectores abordados, para competir con métodos, tecnologías y compañías de servicios. Paralelamente, el desarrollo alcanzado deberá permitir a nuestro país mantenerse en cabeza en este tipo de actividades.

Las investigaciones a escala mundial en el área de la biotecnología han creado en todos los países una serie de expectativas, dado lo avanzado de las tecnologías, amplitud de su posible aplicación y el interés de los resultados que pueden lograrse.

La comunidad científica nacional relacionada con estos temas tiene un nivel suficiente, en muchísimos casos a la misma altura que en cual-

quier otro país de similar estructura y ello permite pensar en acometer estas actividades con un cierto grado de confianza y en resultados, en muchos casos, incluso a corto plazo.

El Programa Especial se estructura en seis subprogramas que abordarán las siguientes áreas de actuación:

- I. Formación de personal.
- II. Creación de infraestructura.
- III. Nuevos desarrollos en biotecnología.
- IV. Productos procedentes de procesos de ingeniería genética (ADN recombinante, manipulaciones "in vitro").
- V. Desarrollo de tecnología para líneas celulares B y T productoras de anticuerpos monoclonales o moléculas inmunorreguladoras.
- VI. Incorporación a organizaciones supranacionales.

Para crear este Programa Especial de I + D se ha acudido al estudio de una amplísima documentación proveniente de los países más avanzados, así como de Organismos Internacionales (OCDE, UNIDO, UNCTAD, WIPO, O.M.S., CEE, CONSEJO DE EUROPA, etc.). Pero, fundamentalmente, se ha discutido el proyecto con representantes de la Administración, Ministerios implicados, de los Centros de Investigación Pública y Privada, especialmente el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), a nivel de Vicepresidentes y Directores e investigadores de Institutos y Departamentos y profesores universitarios de las más variadas áreas, así como se han mantenido entrevistas con un numeroso grupo de empresarios dispuestos a intervenir directamente en el proyecto.

Conviene mencionar que la idea de este Programa Especial de I + D se dio a conocer a la comunidad científica y a los empresarios a finales del mes de julio de 1981 y que, desde entonces, han sido numerosísimas las aportaciones realizadas al mismo, por los diferentes grupos de trabajo creados al efecto.

A través de la convocatoria que sobre Programas Especiales hizo en su día la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica (CAICYT), se ha logrado ya interrelacionar Centros de Investigación pública y/o privada y Empresas cuyas líneas de investigación, medios humanos y materiales y experiencia científica, tecnológica y comercial, pudieran englobarse posteriormente en un Programa Especial, tanto a nivel de Investigación básica como aplicada y de desarrollo.

Los centros públicos y las empresas que, puestos en contacto con la Administración y motivados por el aliciente económico del Estado, estén interesados en participar en el Programa Especial, elaborarán programas y subprogramas coherentes y coordinados. El análisis de los diferentes supuestos será el que defina las características del Programa Especial y las aportaciones que puedan hacerse a través de los Presupuestos Generales del Estado y de las Empresas, permitiendo establecer la factibilidad del Programa Especial.

La naturaleza del Programa Especial que se propone, permite considerar favorablemente posibles aportaciones del Estado, que deben canalizarse fundamentalmente por el Fondo de la CAICYT, por el Centro para el Desarrollo Tecnológico Industrial (CDTI) y, eventualmente, por el Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS), lo que en cada caso requeriría un acuerdo de la propiedad de la investigación, de las obligaciones de los participantes en el Programa y/o subprograma y de los derechos de explotación.

A este respecto, debe reconocerse, como principio fundamental, que la tecnología, que pueda surgir del Programa, sea utilizada directamente por las empresas participantes, evitando la cesión de licencias y "know-how" a otros posibles interesados. También debe quedar asegurado que la tecnología no pase a multinacionales por adquisición de la propiedad de las empresas participan-

tes, teniendo un primer derecho, en este caso, el propio Estado.

Este Programa Especial requiere para alcanzar los resultados previstos, la conjunción de:

- Tecnología de punta debidamente dominada.
- Transferencia entre los investigadores y las empresas, de los conocimientos.
- Financiación adecuada.
- Existencia de un mercado para los productos.
- Existencia de un apoyo especial del Gobierno para las empresas innovadoras de elevada tecnología.

## SUBPROGRAMA I

### Formación de personal

#### LINEAS PRIORITARIAS

##### 1. Tipo de Personal

- a) Post-Doctoral.
- b) Pre-Doctoral.
- c) Técnico (auxiliares).

##### 2. Materias

2.1. Generales: bioquímica; biología molecular; biología celular; inmunología, ingeniería genética y genética de microorganismos.

2.2. Específicas: clonaje; vectores; cultivo de tejidos; fusión celular; purificación de macromoléculas; enzimas; microbiología industrial; fermentaciones, etc.

## SUBPROGRAMA II

### Creación de infraestructura

Los elevados costes y riesgos de las actividades a realizar en este Programa especial y en general de las actividades científicas e industriales que permitan el desarrollo del mismo,

hacen imprescindible que deban tomarse medidas "a priori" y establecer la posibilidad de una intervención muy directa del Programa Especial en la creación de infraestructura tanto en los Centros de Investigación Pública y/o Privada como al servicio de las industrias interesadas.

La experiencia existente en todo el mundo, en estos momentos, tanto a nivel de países como de organismos nacionales y supranacionales, hace que se esté dirigiendo de forma específica la atención a la creación de la infraestructura, imprescindible y necesaria, para el desarrollo de estos programas. Existen numerosos documentos al respecto.

El uso de equipos y sistemas de trabajo sofisticados puede hacer aconsejable, en algún momento, la creación de una única estructura de investigación a nivel de Centros de Investigación públicos y privados, así como también la creación de una estructura industrial de apoyo a las empresas en áreas comunes (fermentación, extracción, purificación, etc.).

#### **LINEAS PRIORITARIAS**

##### **1. Creación de infraestructura**

- Construcción y creación de nuevos Centros de Investigación.
- Potenciación y ampliación de la infraestructura investigadora existente.
- Creación de estructuras industriales (plantas semipiloto; piloto industrial) en apoyo de las empresas.

##### **2. Incorporación de personal. Tipo de personal**

- Personal formado sin posición "administrativa" al que se le ofrece un contrato laboral. Esto se refiere a personal contratado a todos los niveles, en las bases siguientes:  
"Los centros financiados a través del Programa, tanto públicos como privados, podrán contratar to-

do tipo de personal formado (licenciado, doctor, auxiliar técnico) hasta el máximo de la duración de aquél".

"El Programa preverá la existencia de cantidades para abonar los correspondientes despidos de acuerdo con la ley vigente al término de los contratos si no hay planes sustituyentes".

- Se contempla contratación temporal de:

a) Extranjeros de cierto nivel como monitores de técnicas (cortos periodos de 2-30 días).

b) Extranjeros de alto nivel a los que se invita para seminarios y discusiones o de los que se solicita asesoramiento.

- Favorecer la contratación de personal especializado por las empresas interesadas en el Programa.

#### **SUBPROGRAMA III**

##### **Nuevos desarrollos en biotecnología**

#### **LINEAS PRIORITARIAS**

A la vista del planteamiento y dado el interés que existe tanto dentro de la comunidad científica como del sector industrial, parece aconsejable predeterminar unas acciones y/o objetivos dentro del área de la biotecnología entre las que se podría citar, a modo de ejemplo y sin pretender ser exhaustivos, dos tipos de actuaciones:

##### **1. Investigación fundamental**

- Selección de microorganismos productores.
- Técnicas de purificación de moléculas activas.
- Desarrollo de técnicas de análisis fino.
- Técnicas de producción y purificación.

2. *Investigación aplicada y de desarrollo para la preparación de sustancias de interés industrial* (enzimas, proteínas, péptidos, hormonas, interferones, antibióticos, antígenos, anticuerpos, vacunas, etc.).

#### **SUBPROGRAMA IV**

**Productos procedentes de procesos de ingeniería genética**  
(Recombinación de DNA. Manipulaciones "in vitro")

#### **LINEAS PRIORITARIAS**

##### **1. Investigación fundamental**

- 1.1. Construcción de vectores procarióticos y eucarióticos.
- 1.2. Organización génica.
- 1.3. Expresión génica.
- 1.4. Transformación celular (transfección-transducción).
- 1.5. Crecimiento celular.
- 1.6. Enzimas que afectan o modifican A.N.
- 1.7. Mutagénesis dirigida.
- 1.8. Aplicación de la ingeniería genética a investigaciones básicas modelo.
- 1.9. Estudio de la expresión de genes en sistemas amplificadas.
- 1.10. Aplicación de la informática a la ingeniería genética.

##### **2. Investigación aplicada**

- 2.1. Área química fina
- 2.2. Área alimentación
- 2.3. Farmacia, medicamentos y área sanitaria
  - 2.3.1. Desarrollo y mejora de procesos para la obtención de productos terapéuticos, mediante técnicas de clonaje, expresión y purificación (aminoácidos, vitaminas y cofactores, hormonas, antibióticos, etc.).
  - 2.3.2. Control de enfermedades hereditarias.

— Síntesis de genes (terapéutica celular).

### 2.3.3. Otros productos.

Se considera oportuno fijar la atención en algunos productos que en estos momentos es posible que estén ya en fase avanzada de experimentación y ensayo y que son de indudable interés estratégico y económico. Es probable que, gracias a este Programa, sea posible producir en España sustancias de interés tales como insulina humana, antibióticos, hormona del crecimiento humano, interferón, vacunas contra enfermedades virales, péptidos de cadena corta, etc.

## SUBPROGRAMA V

### Desarrollo de la tecnología para líneas celulares B y T productoras de anticuerpos monoclonales o moléculas inmunorreguladoras

#### LINEAS PRIORITARIAS

##### 1. Investigación fundamental

###### 1.1. Desarrollo de líneas celulares

a) Tipo B: Mielomas de diversas especies (humana, porcina y otras especies de animales domésticos de interés económico) confines de hibridación celular.

b) Tipo T: Linfomas de diversas especies con el fin de obtener híbridos celulares T funcionalmente activos o secretores de sustancias inmunorreguladoras.

c) Tipo macrófago: Células secretoras de sustancias inmunorreguladoras.

d) Líneas celulares productoras de virus con el objeto de producir suficiente cantidad de éstos para la obtención de vacunas o para purificar antígenos virales utilizables en diagnóstico (ELISA, RIA, etc.). Asimismo, desarrollo de líneas celulares libres de virus endógenos.

1.2. Desarrollo de técnicas de cultivo de células en gran escala para la producción de virus u otros parásitos y sustancias inmunorreguladoras.

1.3. Técnicas de producción de híbridos celulares B y T.

1.4. Estudios sobre diferenciación celular a nivel de genética molecular, que permitan analizar y definir los diferentes estados de diferenciación y de identificación de los productos génicos sintetizados por células específicas.

1.5. Aislamiento de los genes que codifican sustancias inmunorreguladoras (ver la sección de Ingeniería Genética).

1.6. Inmunogenética humana y de especies animales de interés veterinario y económico (ganado ovino, bovino, porcino, etc.). Reactivos para la tipificación de diversos componentes celulares.

1.7. Membranas celulares. Expresión de antígenos virales y de receptores para inmunomoduladores en poblaciones celulares.

1.8. Inmunquímica. Caracterización bioquímica de sustancias inmunomoduladoras, modificación de inmunoglobulinas, acoplamiento de toxinas a las inmunoglobulinas, etc.

1.9. Inmunomodulación. Estudios del modo de acción de sustancias biológicas y drogas inmunomoduladoras.

##### 2. Investigación aplicada

2.1. Generación de reactivos serológicos para el diagnóstico de distintas sustancias incluyendo hormonas, drogas, componentes de suero, organismos microbianos, antígenos (carcinoembrionarios, antígenos específicos de tumores y leucemias), antígenos de histocompatibilidad humanos o de otras especies, sustancias inmunomoduladoras.

2.2. Inmunoseros terapéuticos contra virus, parásitos, bacterias (brucelosis, gonococos, etc.) y sustancias inmunomoduladoras.

2.3. Inmunofarmacología

2.4. Tipificación de patógenos (virus, parásitos, etc.) de la calle para la selección de nuevas cepas para la producción de vacunas.

## SUBPROGRAMA VI

### Incorporación del programa especial de I + D a proyectos de organizaciones supranacionales y/o mundiales

Se están realizando planteamientos de este tipo ya desde hace algún tiempo y no sería de desear que, una vez creado este Programa Especial de I + D, España quedase fuera de las actividades que se están llevando a cabo en todo el mundo en el área de la biotecnología.

Tal como se ha señalado con anterioridad existen programas de muy diversos tipos a los que sería posible acceder una vez que el Gobierno Español aprobara la puesta en marcha de este Programa Especial.

Es conocido que están estudiando el tema y haciendo propuestas organizaciones tales como:

— OCDE (Organización de Cooperación y Desarrollo Económicos).

— Biotecnología y Políticas Gubernamentales.  
(DSTI/SPR/82.10) (SPT/82.4-SPT/82.5)

— CEE (Comunidad Económica Europea)

— Programa "Crest" (Crest 1216/80)

— Programa "Fast" (Fast 1979)

— Programa "Cost" (Cost 1979)

— Directiva, de 7 de diciembre de 1981, adoptando un programa europeo en el campo de la Ingeniería Biomolecular (abril 1982 hasta marzo 1983)

— CONSEJO DE EUROPA

- Recomendaciones relativas a Ingeniería Genética (934/1982).

— UNIDO

- Consulta sobre los avances en Ingeniería Genética en los países en vías de desarrollo. (Viena, febrero 1981 - Ref. 453.23).
- La creación de un Centro Internacional para Ingeniería Genética y Biotecnología (ICGEB)-(UNIDO/IS.254, nov. 1981).
- Algunas consideraciones sobre la comercialización de productos de la Ingeniería Genética (UNIDO/IS.272).

*LINEAS PRIORITARIAS*

1. Conocer a fondo las actividades de las diferentes organizaciones (relaciones internacionales).
2. Participar en las mismas.
3. Integrar a España en las acciones y objetivos que sean de interés para el país y para el Programa Especial.

## BIBLIOGRAFIA

- Beers, R. F., Bassett, E. G.: "Recombinant Molecules: Impact on Science and Society" Raven Press, 1977.
- Burris, R. H., Day, P. R., Hardy, R. W. F., Melinski, F. R., et al.: "Genetic Engineering for nitrogen fixation", Plenum Press, vol. 9, *Basic Life Sciences*, 1977.
- Demain, A. L.: "The astonishing Synthetic Versatility of Microorganisms", *Industrial Liason Program. M. I. T.* (1980).
- Ferrándiz, F.: "Manipulaciones Genéticas. ADN recombinante". Discurso de ingreso en la Real Academia de Farmacia, 13 de enero de 1981.\*
- National Academy of Sciences: "Microbial Processes: Promising Technologies for developing countries", 1979.
- Pal, S. B.: "Enzyme Labelled Immunoassay of Hormones and Drugs", Walter de Gruyter, N. Y., 1978.
- Rains, D. W., y Valentine, R. C.: "Genetic Engineering of Osmoregulation Impact on Plant Productivity for Food, Chemicals and Energy", Plenum Press, vol. 14, *Basic Life Sciences*, 1979.
- Wetzel, R.: "Applications of Recombinant DNA Technology". *American Scientist*, 68, 1980.
- Yelton, D. E. y Scharff, M. D.: "Monoclonal Antibodies". *American Scientist*, 68, 1980.
- Zimmer, S. J.; King, S. R., Emmitt, R. B. y Giles, E. M.: "Biotechnology: Status and Prospects". *Conference Summary. M. I. T.*, 1980.
- *Science*, Sept. 1980. Vol. 209, n.º 4463.
- "Frontier Biotechnology". Cambridge Seminar. Boston, Massachusetts, oct. 1980. Arthur D. Little. \*
- "Le Génie Génétique". *Science et Vie*, Dec. 1980. \*
- "Le Progrès Technique". Association Nationale de la Recherche Technique, n.º 15. Paris, 1979. \*
- "Le Progrès Scientifique". Délégation Générale à la Recherche Scientifique, n.º 206-207. Mai-Août, Paris, 1980. \*
- "Construire l'avenir", Livre Blanc sur la Recherche présenté au Président de la République. *La Documentation Française*. Paris, 1980. \*
- Gros, F.; Jacob, F.; Royer, P.: "Sciences de la vie et société". Rapport présenté à M. le Président de la République. *La Documentation Scientifique*. Paris, 1979. \*
- "The Molecular Basis of Life: an introduction to molecular biology". *Scientific American*. W. M. Freeman and Company. San Francisco and London, 1969.
- Stewman, Sh.; Lincolni, D., et al.: "Recombinant DNA breakthroughs in agriculture, industry and medicine: A Delphi Study" *Futures*, April, 1981. \*

\* Disponible en la Biblioteca del CDTI.

## AGRADECIMIENTO

### **Han elaborado el presente documento:**

Carlos Alonso Bedate (Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad Autónoma de Madrid).

Julio Coll Morales (Instituto Tecnológico para Postgraduados).

Eugenio Herranz López (Instituto Tecnológico para Postgraduados).

### **Han colaborado como expertos con sus críticas y sugerencias:**

Jesús M. Caínzos  
Francisco Durán  
Francisco Ferrándiz.

A todos ellos, el agradecimiento del CDTI.



La Innovación Industrial y las relaciones Industria-Universidad



La Innovación Industrial y su Tratamiento Fiscal



La conversión fotovoltaica de la energía solar



La ingeniería genética en la biotecnología



Innovación industrial y sistema educativo



¿Qué es la innovación tecnológica?



La telemática



Innovación Industrial y Empleo



Robótica Industrial



La financiación de la innovación industrial.

CDTI

Centro para el  
Desarrollo Tecnológico  
Industrial

Ministerio  
de Industria y Energía

Edificio Gan  
Ramírez de Arellano s/n  
Madrid 27  
España

Apto. de Correos: 29136  
Teléf. (31) 416 2016  
Telex: 23121 CDTI E