

Biotecnología de OGMs

Dra. Laura Esther Tovar Castillo.
Directora Técnica de Información y Fomento a la
Investigación.
Secretaría Ejecutiva – CIBIOGEM.
CONACYT

Según el **Convenio sobre Diversidad Biológica**:

Biotechnología puede definirse como "toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos".

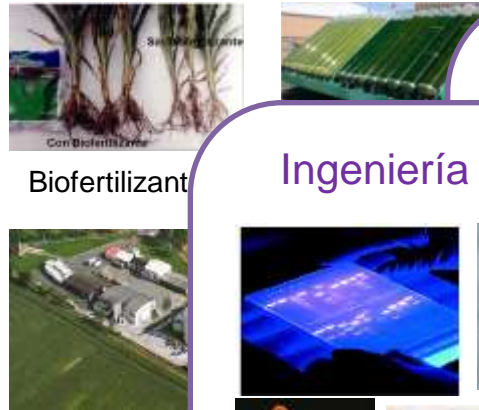
Industria Alimentaria



Medicina y Farm



Biotechnología Ambiental



Tratamiento de

Agrobiotecnología



s y selección de variedades.

Ingeniería Genética



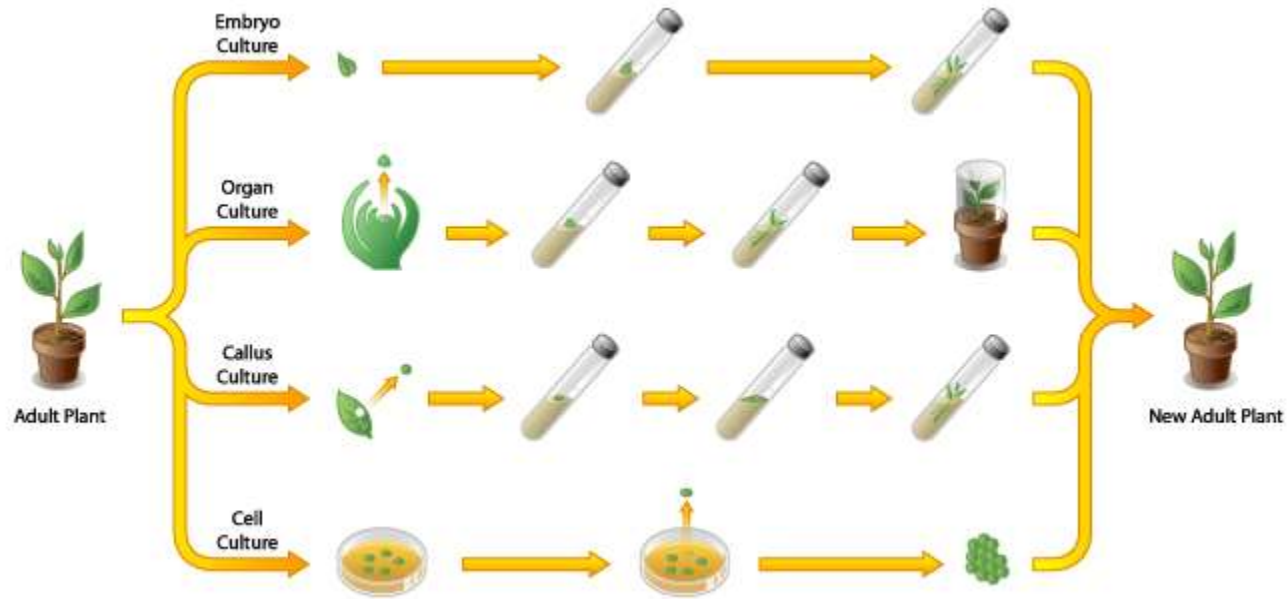
Aprovechando el conocimiento en Biología Molecular.



BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA

(Paréntesis sobre el uso de las biotecnologías en el ámbito agrícola en el contexto amplio)

CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES Y MICROPROPAGACIÓN



- Elección de Planta Madre – Explantes
- Excisión de Tejido Vegetal
- Adaptación Aséptica al sustrato
- Multiplicación *in vitro*
- Enraizamiento *in vitro*
- Adaptación al suelo y siembra



SELECCIÓN DE MEJORES VARIETADES AGRÍCOLAS



Muchas de las variedades agrícolas comestibles más comunes se generaron inicialmente a través de procesos de selección humana favoreciendo las características deseables:



Brassica oleracea

<http://svl.la.asu.edu/plb598/xpigg/Brassica.htm>
http://www.fishing-in-wales.com/_pics/plantpic/seaspica/wildcabb.jpg



Broccoli



Cauliflower



Collard Greens



Brussel Sprouts



Kohlrabi



Cabbage

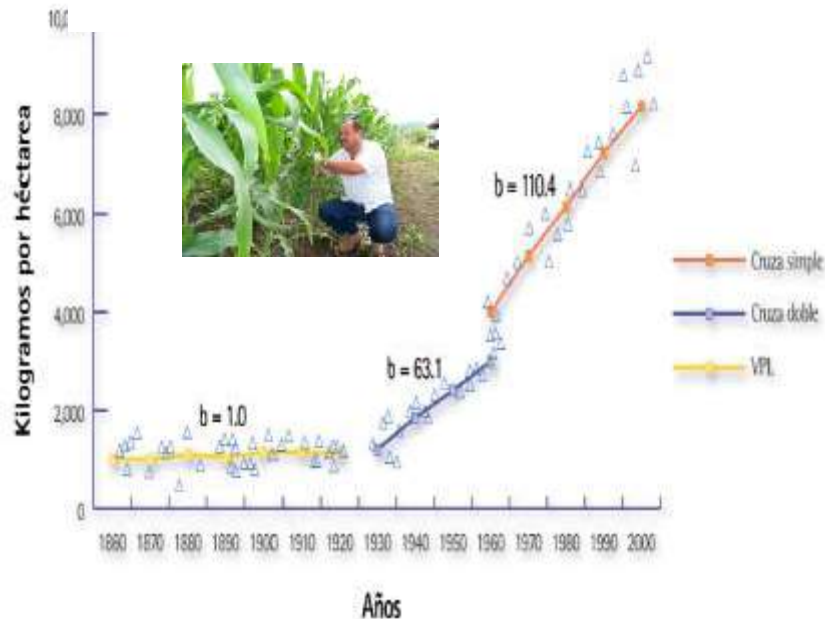


Kale

Artificial
Selection

Algunos resultados de años del trabajo de la humanidad...





Fuente: A. Forrest Troyer (2000), The background of US Hybrid Corn.

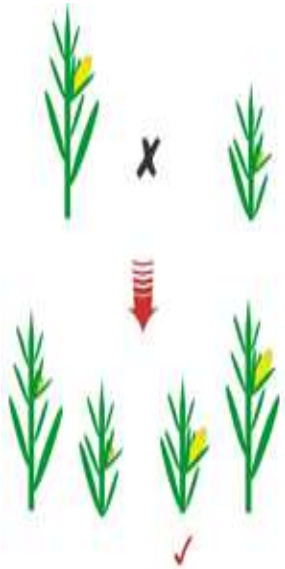
Cuadro 2.1. Tiempo requerido para generar variedades e híbridos según el acceso a germoplasma del sector público (México y Brasil)

Sin Acceso	VPL	Híbridos simples	Híbridos triples	Doble cruza
Colecta y clasificación	1	1	1	1
Mejora y adaptación	2	3	3	3
Autopolinización		2	3	4
Pruebas de:				
Habilidad combinatoria		2	2	2
Habilidad semillera		1	1	1
Adaptación a regiones	2	2	2	2
Total Años	5	11	12	13
Con Acceso				
Clasificación	1	1	1	1
Mejora y adaptación	1	1	1	1
Autopolinización		1	2	3
Pruebas de:				
Habilidad combinatoria		1	1	1
Habilidad semillera		1	1	1
Adaptación a regiones	2	2	2	2
Total Años	4	7	8	9

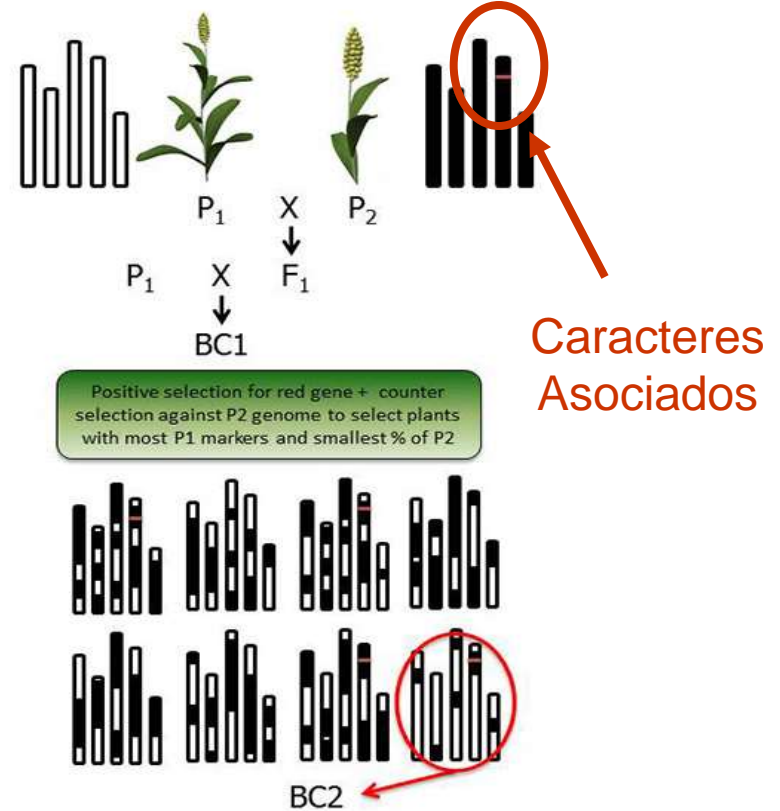
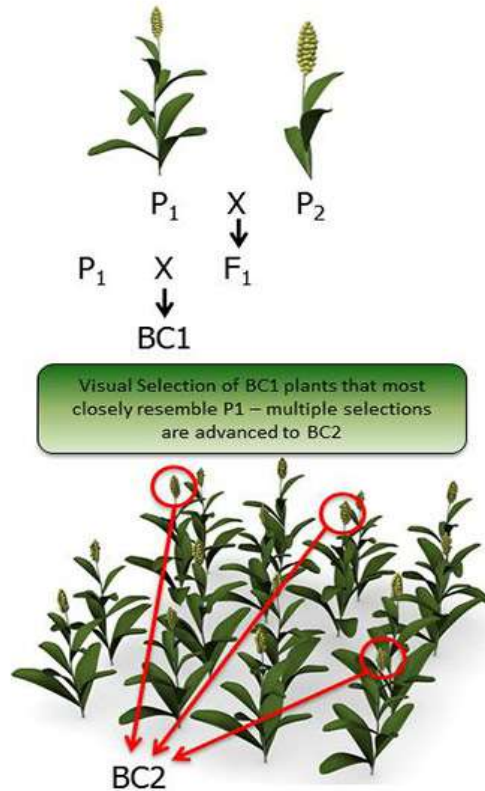
López-Pereira y García (1997).⁷⁸

Desarrollar una variedad mejorada a través de este tipo de estrategia es un proceso que puede llevar de entre 7 a 9 años.

MEJORAMIENTO GENÉTICO ASISTIDO



Selección
Empírica



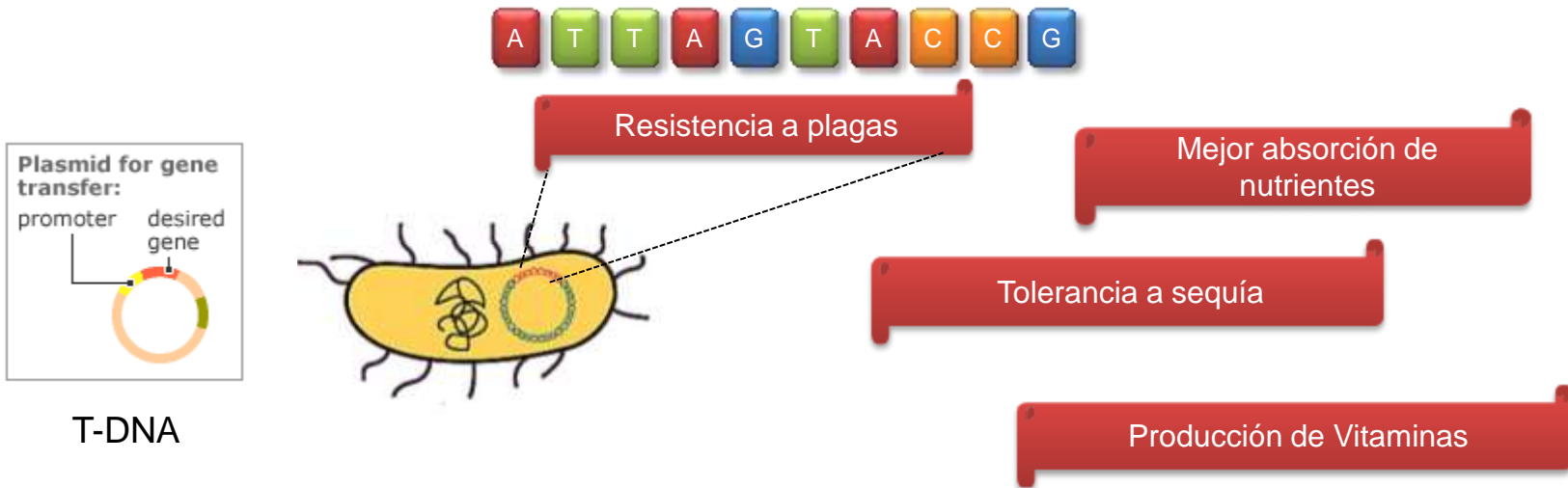
El Análisis de Marcadores Genéticos permite identificar rápidamente la presencia de aquellas características que son deseables a seleccionar, facilitando su búsqueda y acelerando el proceso.

VARIEDADES AGRÍCOLAS DERIVADAS DEL USO DE LA BIOTECNOLOGÍA MODERNA

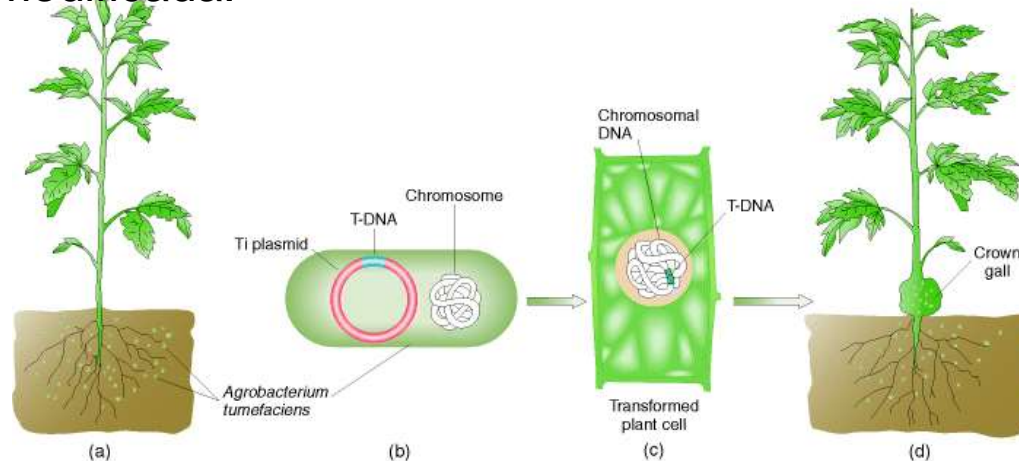


OGM/OVM: Cualquier organismo vivo que posea una combinación nueva de material genético que se haya obtenido mediante la aplicación de la biotecnología moderna.

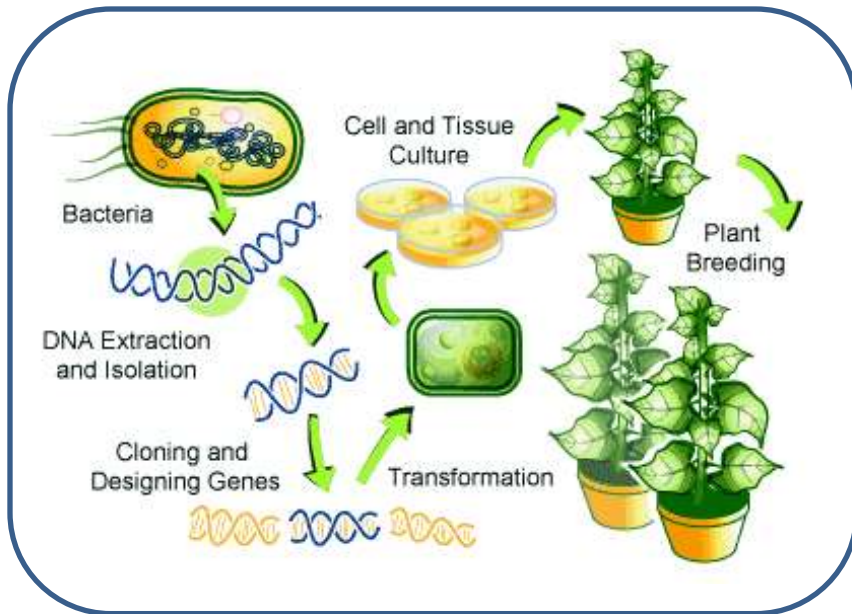
1. Se identifican **genes** que confieran las características deseadas y se integran al DNA en la bacteria, eventualmente éstas características podrán ser transferidas a la planta...



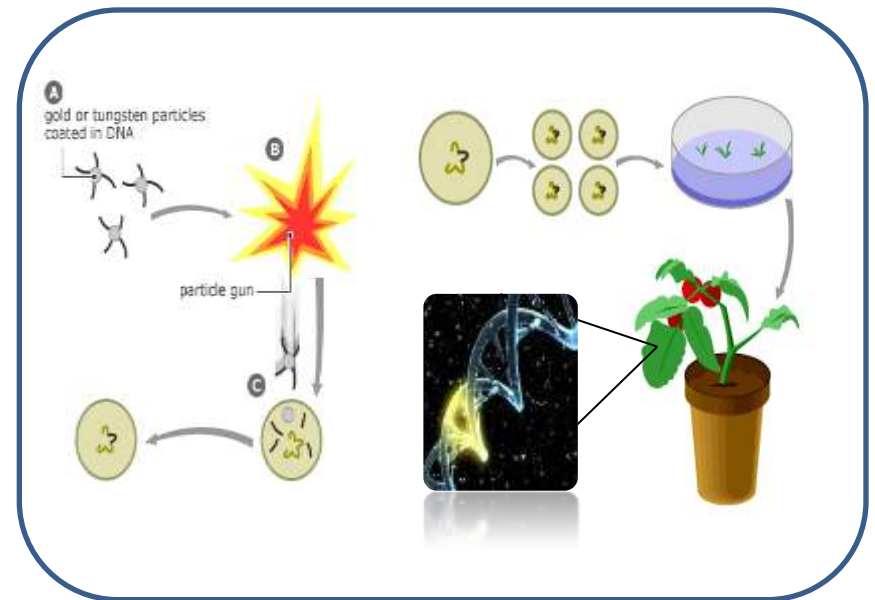
2. Utilizando esta estrategia, el (los) gen(es) deseado(s) se inserta(n) en el Genoma de las células de la planta que han sido infectada con la bacteria modificada.



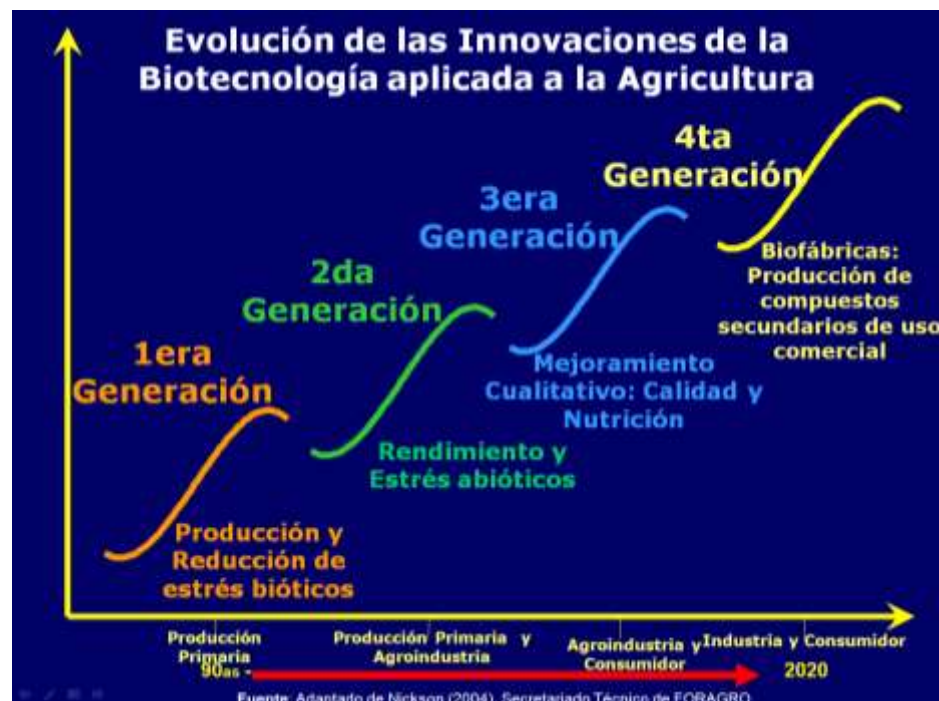
Métodos de Transformación Genética “Convencional”



Transformación mediada por *Agrobacterium sp.*
Schell, Chilton, Van Montagu, Fraley, y Horsch, 1983.



Transformación por Biobalística
Sanford, 1986.



OGMs de 1era Generación

Resistencia a Plagas



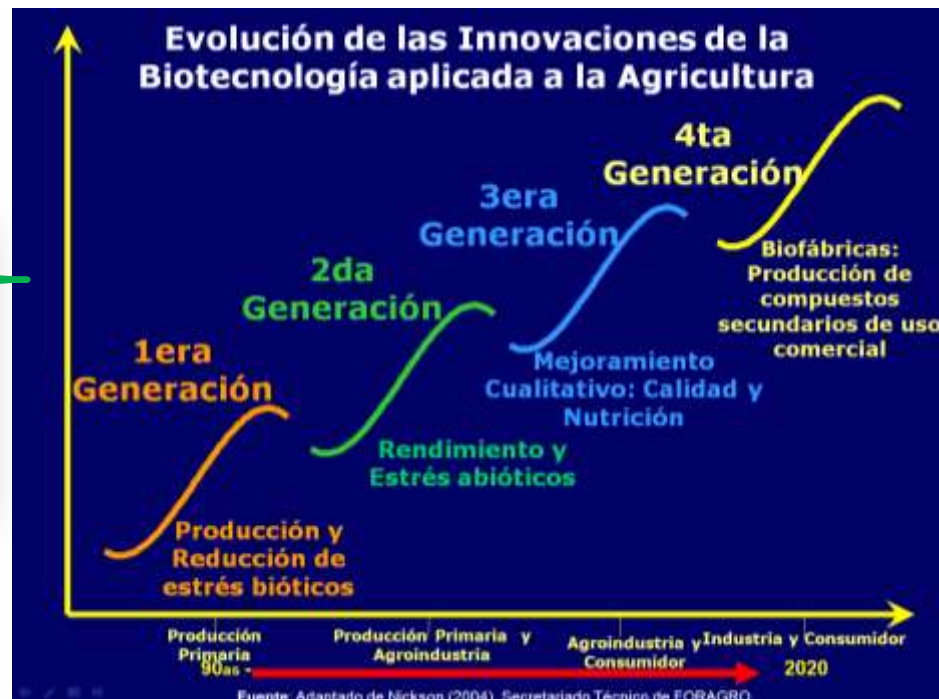
Tolerancia a herbicidas



Incremento de la Productividad debido al mejoramiento de las características agronómicas del cultivo.

OGMs de 2da Generación

Monitor de Sequía de América del Norte
Abril 30, 2013



Tolerancia a condiciones adversas:

- Sequía
- Heladas
- Suelos salinos

OGMs de 3era Generación

Desarrollados para ofrecer **beneficios directos a los consumidores** y al medio ambiente. Generalmente están relacionados con mejoras nutricionales. Ej. Golden Rice

IRRM, 2009

www.goldenrice.org



Oleaginosas con contenidos grasos de mejor calidad (Omega-3)

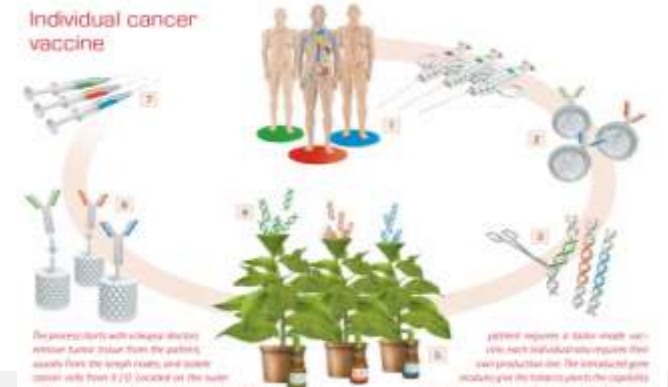


Vegetales (biofortificados) con mayor contenido de aminoácidos esenciales, minerales, vitaminas o modificados para la mejor absorción de nutrientes.



CIAT, 2009

OGMs de 4ta Generación

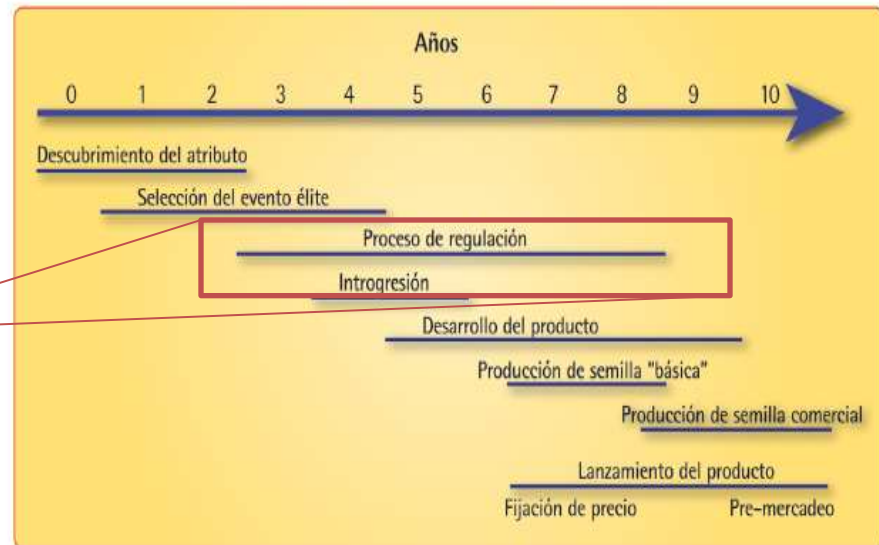


VARIEDADES AGRÍCOLAS DERIVADAS DEL USO DE BIOTECNOLOGÍA MODERNA

Desarrollar una nueva variedad por transformación genética puede tomar de 2 a 4 años.

Las variedades GM están sujetas a estrictos procesos de regulación que tienen por objeto garantizar la seguridad de su uso.

Proceso de descubrimiento y desarrollo de una planta transgénica



Fuente: Covenant (2000) en Trigo, et al (2000).

En México los OGMs se regulan a través de la Ley de Bioseguridad de los Organismos Genéticamente Modificados (LBOGM, 2005), en concordancia con las disposiciones del Protocolo de Cartagena sobre seguridad de la biotecnología.

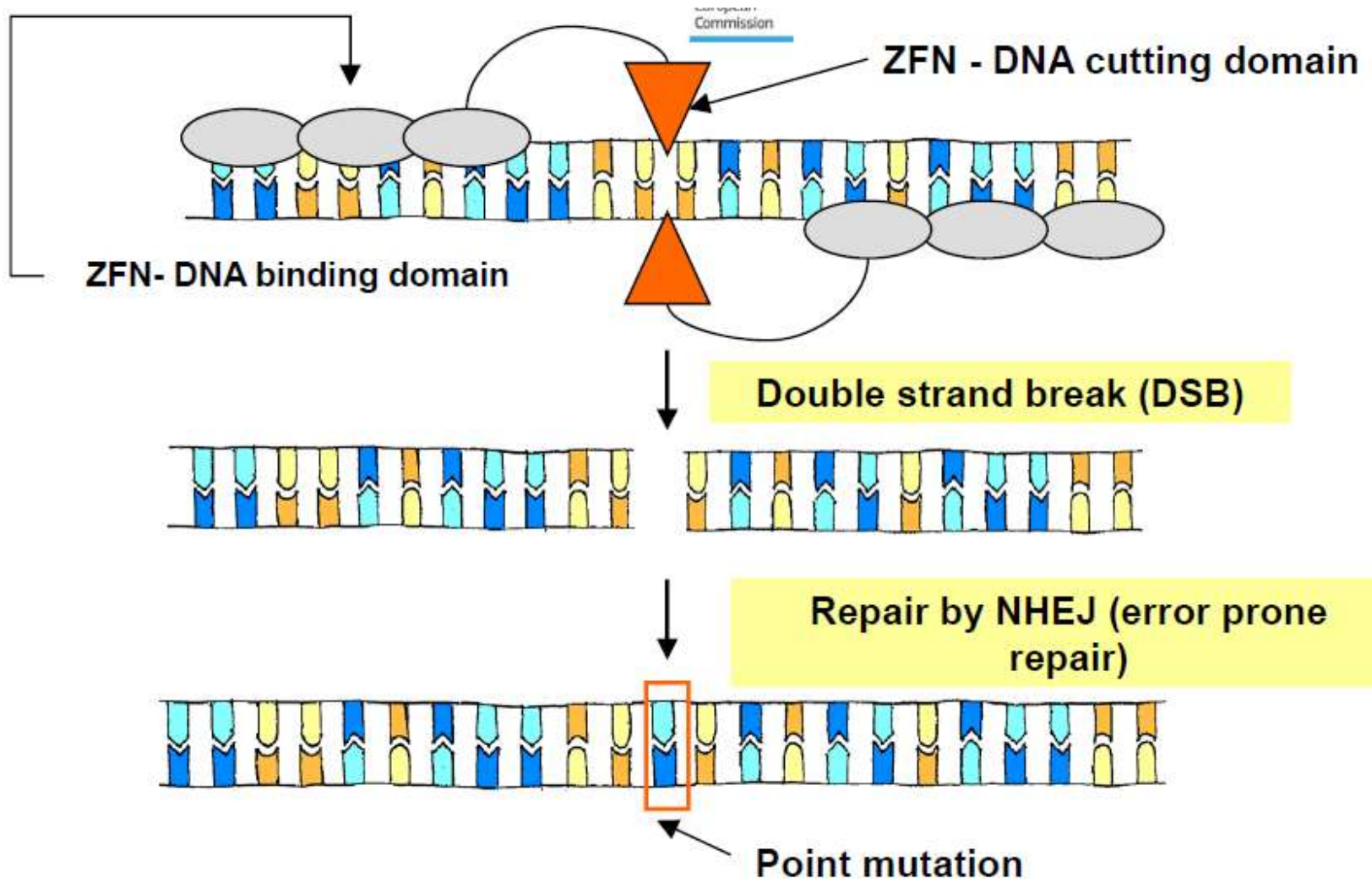
Nuevas técnicas de mejoramiento de Plantas. New Plant Breeding Techniques (NPBT)

1. ZINC FINGER NUCLEASE (ZFN) TECHNOLOGY & OTHER SITE DIRECTED NUCLEASE (SDN) TECHNIQUES
2. OLIGONUCLEOTIDE DIRECTED MUTAGENESIS (ODM)
3. CISGENESIS/INTRAGENESIS
4. RNA-DEPENDENT DNA METHYLATION (RdDM)
5. REVERSE BREEDING & OTHER "NEGATIVE SEGREGANTS"
6. AGRO-INFILTRATION
7. GRAFTING ON GM ROOTSTOCK

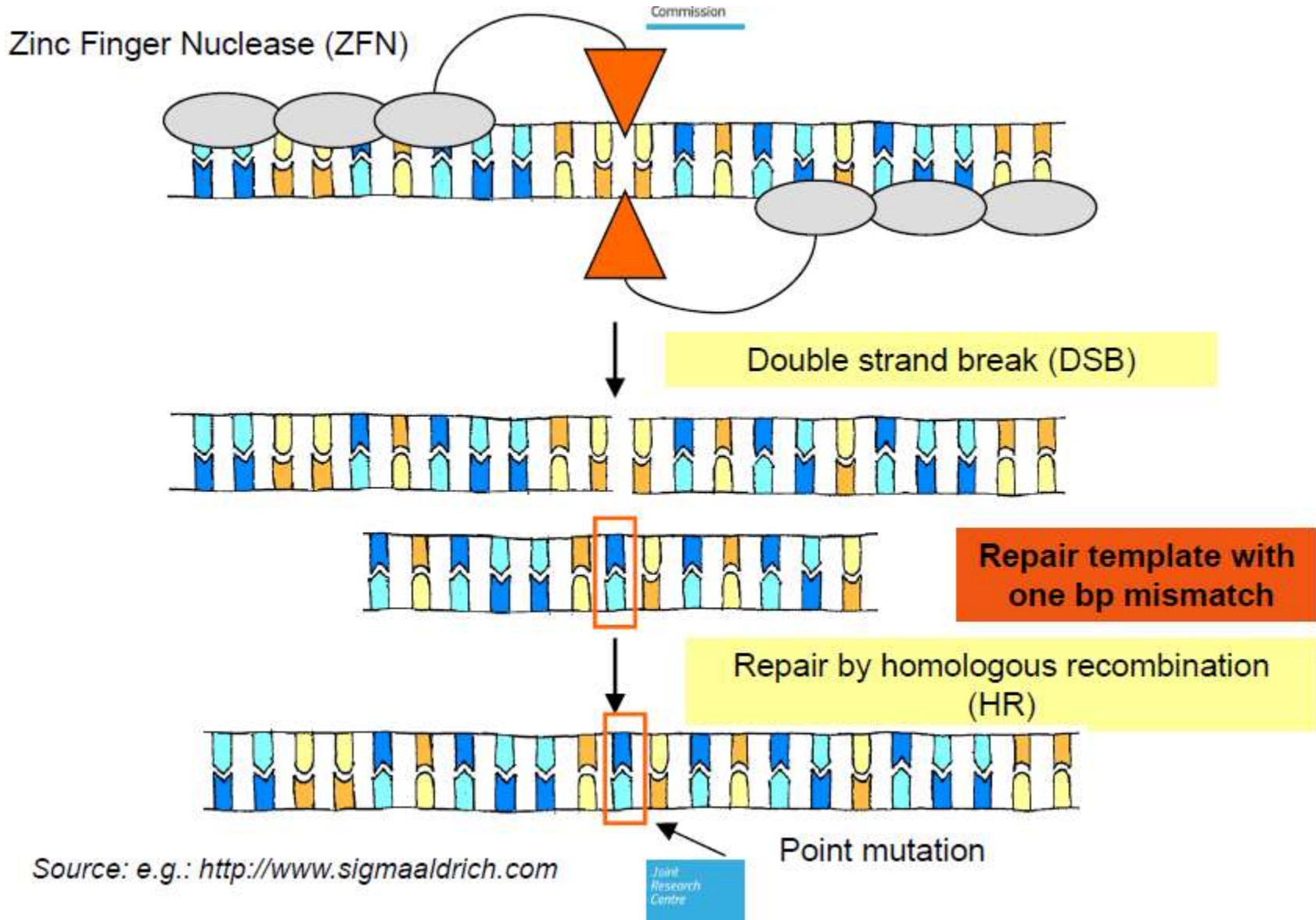
1. ZINC FINGER NUCLEASE TECHNOLOGY

Zinc finger nucleases are chimeric proteins consisting of

- “Zinc finger” domain (recognising specific 3 base pair DNA sequences)
- Nuclease cutting double-stranded DNA



Source: e.g.: <http://www.sigmaaldrich.com>



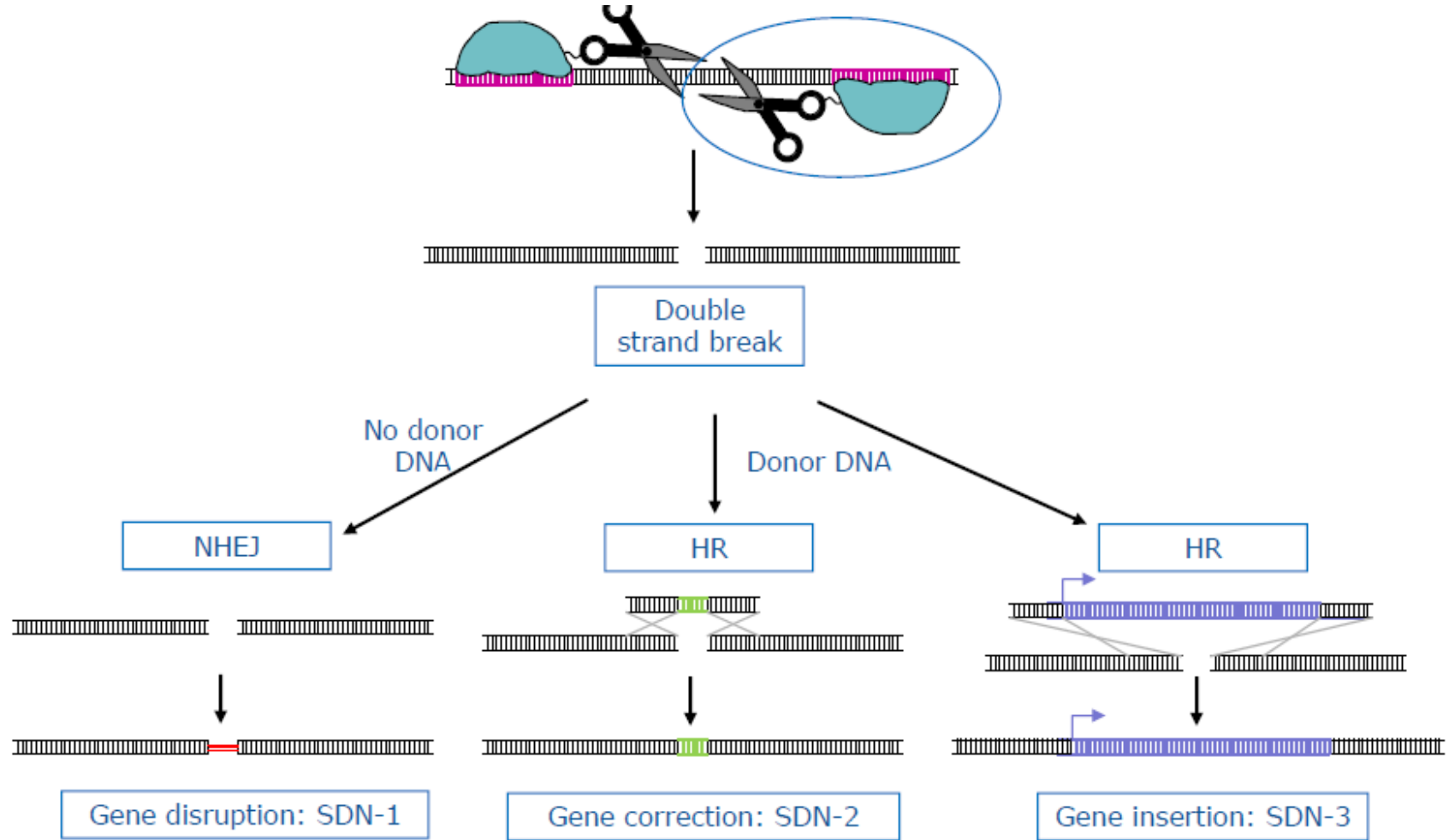
OTHER SITE DIRECTED NUCLEASE (SDN) TECHNIQUES

Meganucleases

- are natural proteins acting as "DNA-scissors"

Transcription activator–like effector (TALE) proteins

- are natural proteins that bind to DNA in a sequence-specific way
- are converted into "DNA-scissors" by binding to a nuclease (catalytic domain of FokI) **SDN**

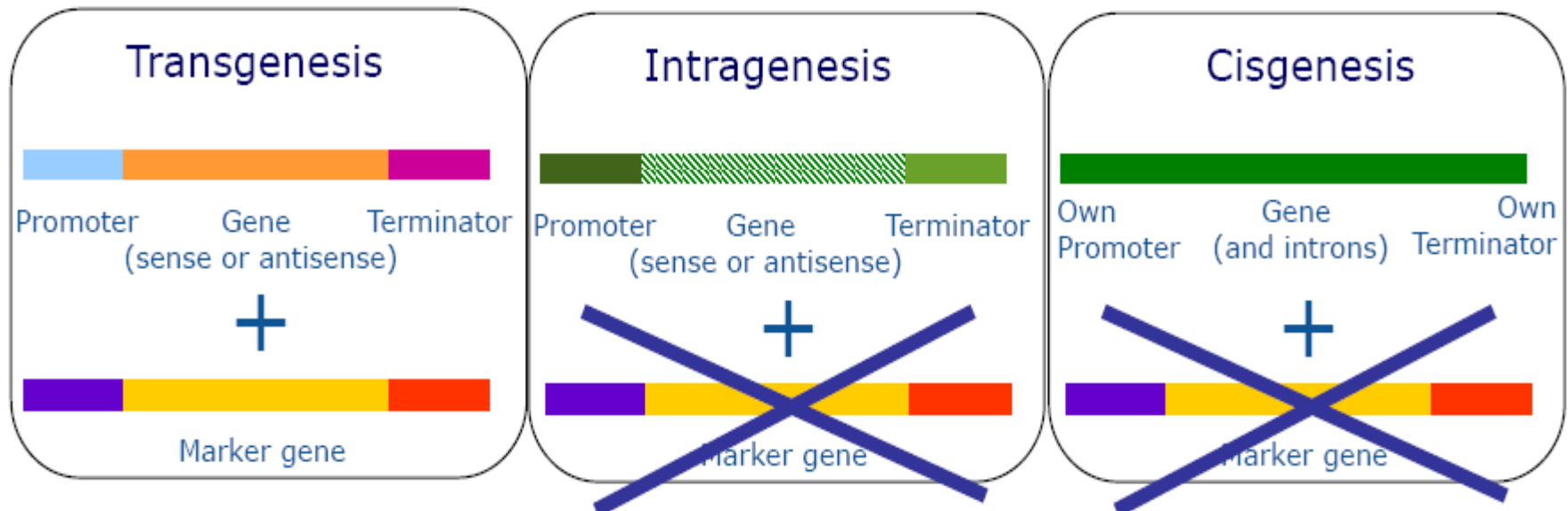


2. OLIGONUCLEOTIDE DIRECTED MUTAGENESIS

- Uses Oligonucleotides which share homology with target sequence with the exception of the nucleotides to be modified
- Oligonucleotides “target” the homologous sequence in the genome
- Create one or more mismatch base pairs corresponding to the non-complementary nucleotides

3.CISGENESIS AND INTRAGENESIS

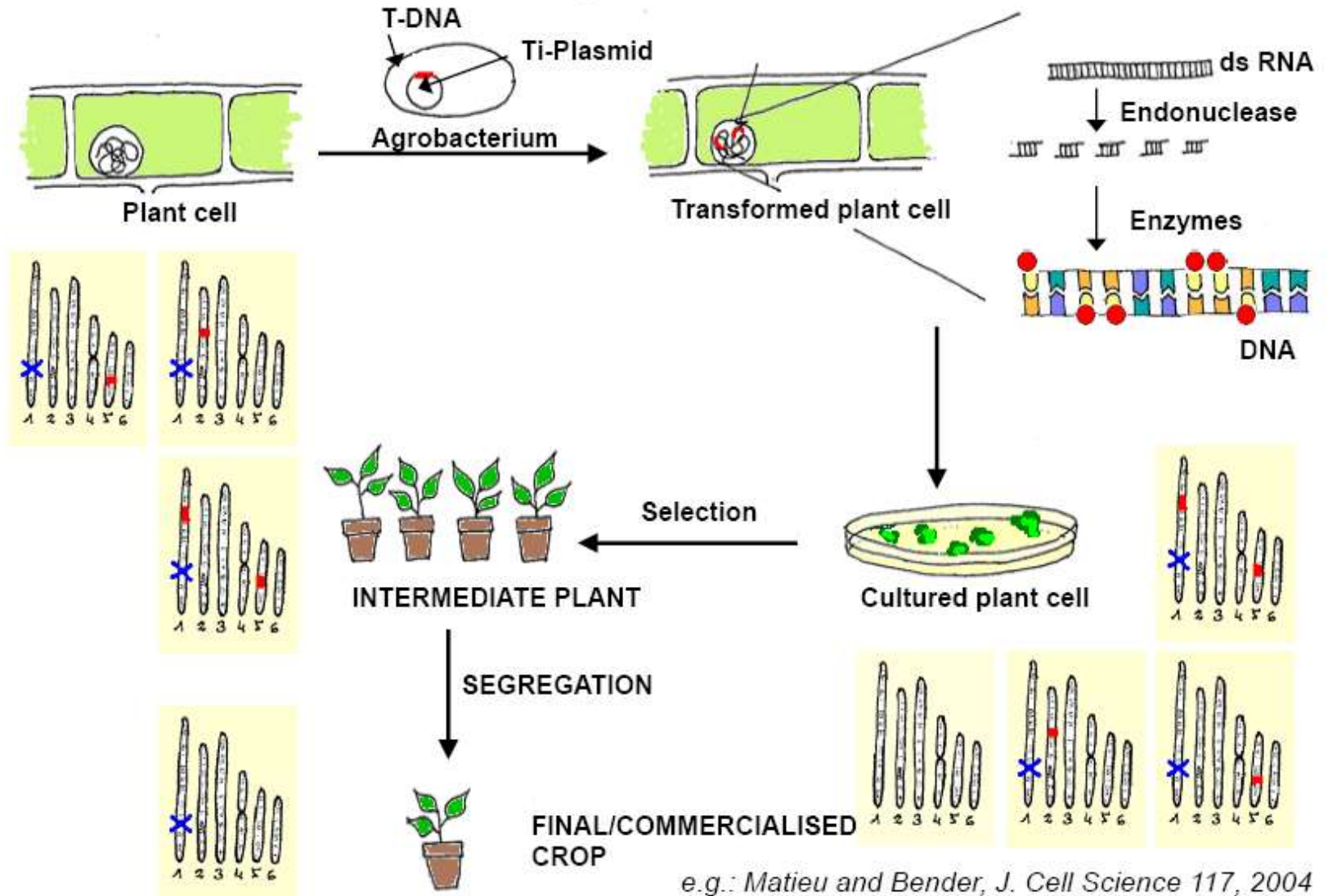
Cisgenesis/Intragenesis deploy the same technology as transgenesis.



4. RNA-DEPENDENT DNA METHYLATION (RdDM)

- Insertion of genes encoding RNAs which are homologous to the promoter regions of the target gene
- Transcription of the gene leads to double stranded RNAs which are cut into small RNAs
- sRNAs induce methylation of the promoter region of the target gene leading to transcriptional gene silencing (TGS)
- Change of the methylation pattern will be inherited even in the absence of the inserted transgene

RdDM

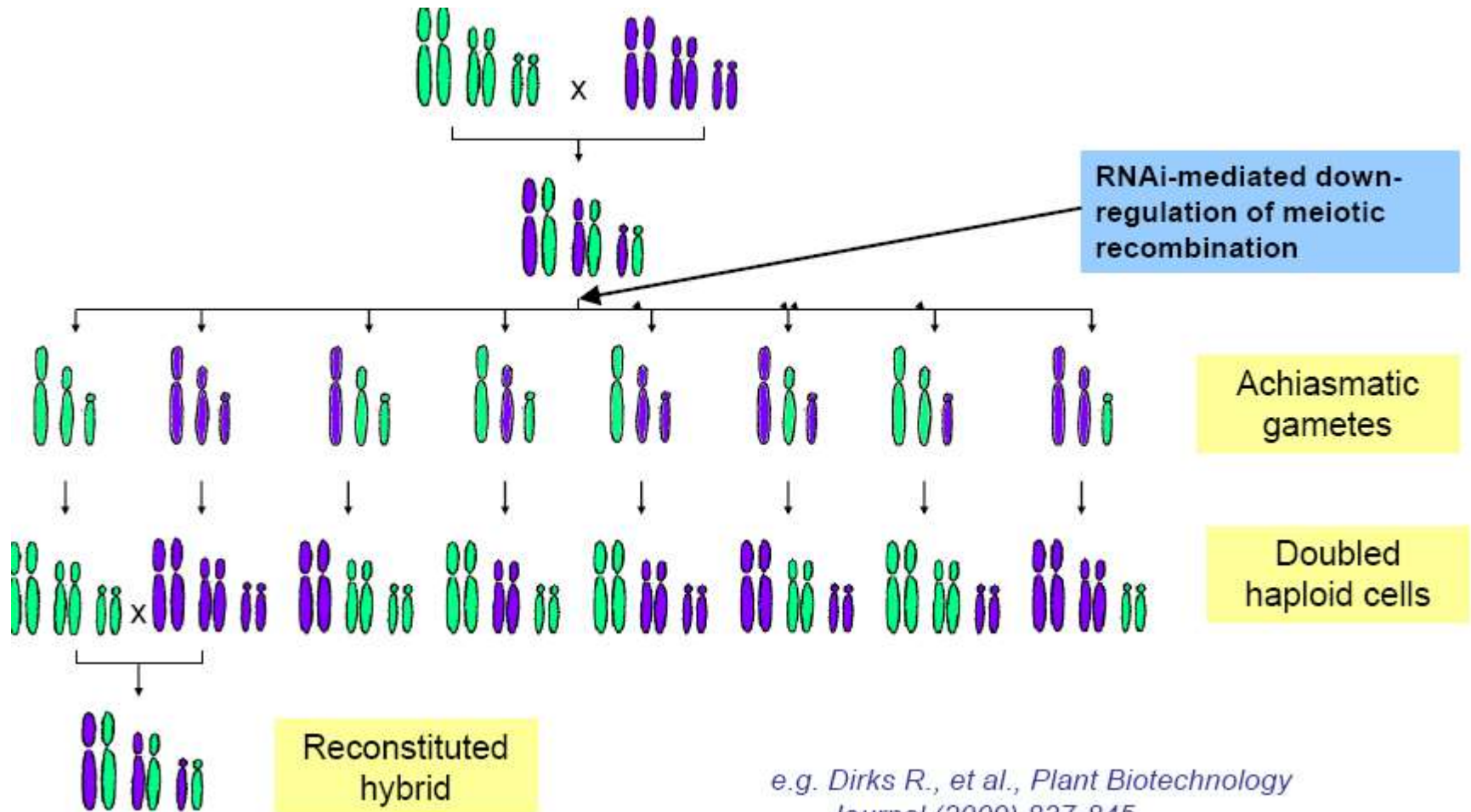


e.g.: Matieu and Bender, J. Cell Science 117, 2004

5. REVERSE BREEDING

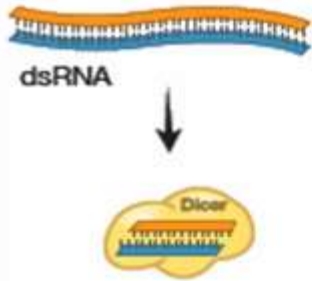
- Transgene encoding RNAi sequence is delivered to explant material
- Transgenic plant regenerated in tissue culture
- Silencing of genes (e.g. *dmc1* and *spo11*) leads to suppression of meiotic recombination
- Haploid microspores produced from flowers of the transgenic plant
- Microspores developed into homozygous diploid plants (doubled haploid technology)

REVERSE BREEDING



e.g. Dirks R., et al., *Plant Biotechnology Journal* (2009) 837-845

Mecanismo de RNAi

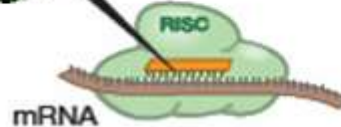
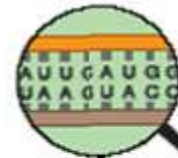


Double-stranded RNA (dsRNA) binds to the protein Dicer ...

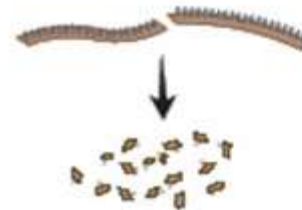
... which cleaves dsRNA into smaller fragments.



One of the RNA strands is loaded into a RISC complex...



...and links the complex to the mRNA strand by basepairing.

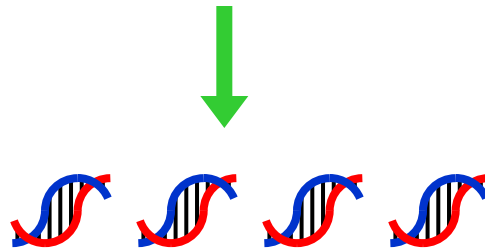


mRNA is cleaved and destroyed. No protein can be synthesized.

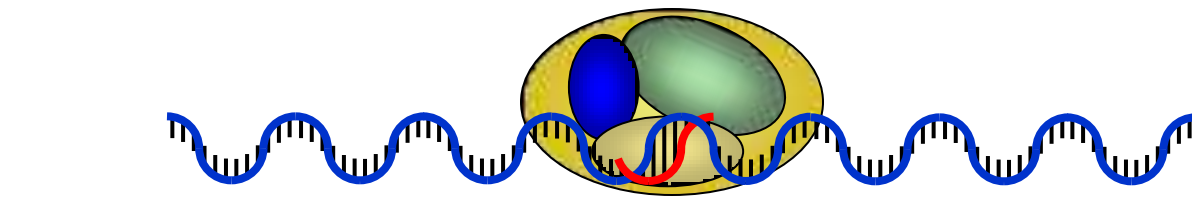
RNAi es un importante mecanismo biologico en la regulaci3n de la expresi3n g3nica.

Inhibición producción de RNA antisentido

El fragmento de genoma de maíz introducido produce y forma micro RNAs

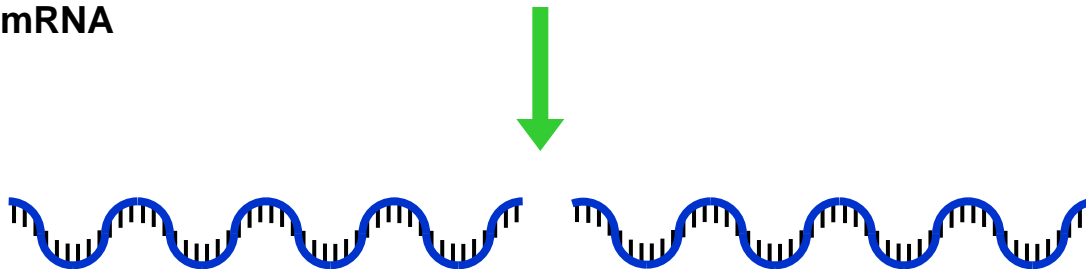


Micro RNA antisentido



Target mRNA

El micro RNA complementa (bloquea) a la secuencia de la enzima



La secuencia se rompe y ya no funciona

5. REVERSE BREEDING

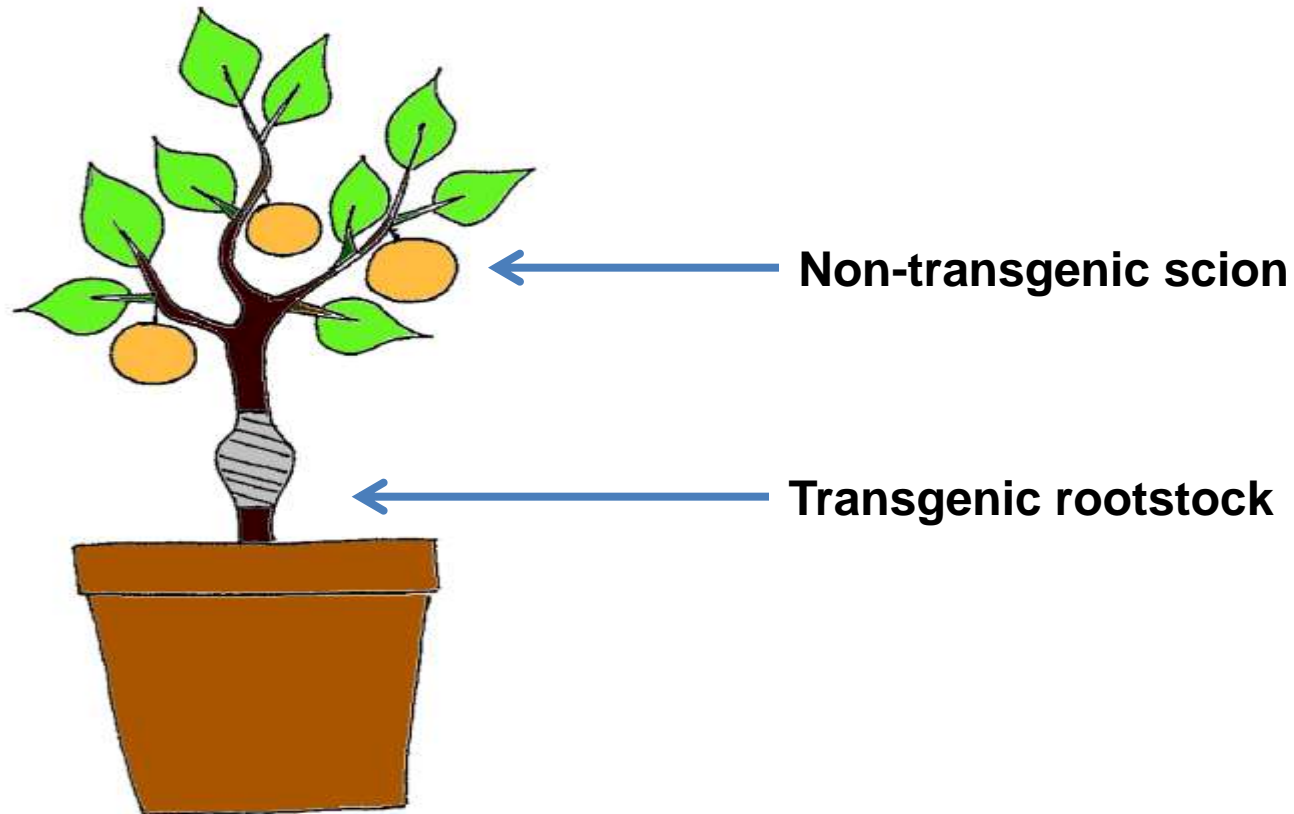
Breeding with transgenic inducer line ("negative segregants")

- Transgene encoding an RNAi construct or dominant-negative protein inserted in genome of inducer line
- Expression of transgene leads to the inhibition of gene expression or protein function
- Effect of transgene is used during one or several breeding cycles
- Inducer transgenes finally segregated out

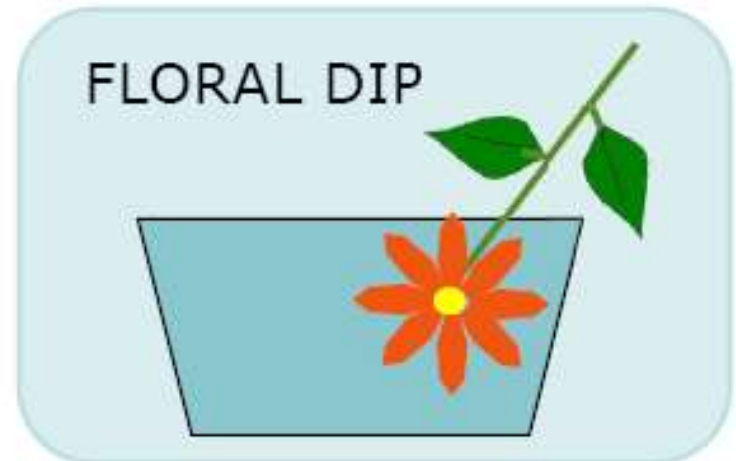
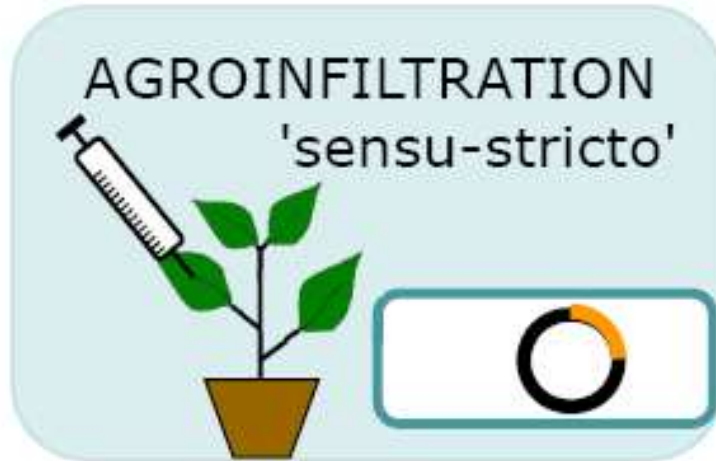
6. GRAFTING ON GM ROOTSTOCK

- Improved characteristics of rootstock (e.g. rooting capacity, resistance to soil-borne diseases)
- Change of the gene expression in the scion due to movement of specific proteins and/or RNA from the rootstock leading to new trait
- Tool for studying the movement of macromolecules in the plant and the silencing and expression of genes

6. GRAFTING ON GM ROOTSTOCK



7. AGROINFILTRATION



7. AGROINFILTRATION

Agroinfiltration 'sensu strictu'

- Local, transient gene expression at high levels
- Screening (selection) for plants with valuable traits, e.g. pathogen resistance
- Use in research context, e.g. to study plant-pathogene interaction
- Production platform for high value recombinant proteins

7. AGROINFILTRATION

Agroinfection

- Infiltration with suspension of *Agrobacterium* sp. containing the gene of interest inserted into a full-length virus vector
- Facilitates the spreading and expression of the target gene in the plant

Floral dip

- Transformation of the female gametocyte
- GM seeds are obtained



Modelos de investigación

Peces de crecimiento rápido



Enviro-pig



Ganado para la Producción de leche maternizada



Vacunas recombinantes



Productos lácteos biofortificados



Peces de Ornato



Mosquitos modificados para controlar enfermedades de relevancia epidemiológica



REQUISITOS PARA EVALUAR EL RIESGO DE UN OGM DESTINADO A CONSUMO HUMANO O ANIMAL





@CIBIOGEM



CIBIOGEM Mexico



- www.cibiogem.gob.mx
- <http://www.conacyt.gob.mx/cibiogem/>

¿Preguntas?

Gracias!!

ltovar@conacyt.mx