

Introducción

- ⇒ **Enfermedades diagnosticables**
 - ⇒ Infecciosas (virus, bacterias)
 - ⇒ Neoplásicas (tumoraes)
 - ⇒ Congénitas
- ⇒ **Fundamento diagnóstico**
 - ⇒ Usar sondas específicas contra secuencias identificadas de los genes causantes de la enfermedad o de los propios virus o bacterias.
- ⇒ **Ventajas**
 - ⇒ Gran **sensibilidad** sobre todo si previamente se amplifican las secuencias por PCR.
 - ⇒ **Precisión**, posibilidad de error muy mínima
- ⇒ **Procedimiento**
 - ⇒ **Extracción** del ADN y fragmentación
 - ⇒ **Amplificación** de las secuencias por PCR
 - ⇒ **Electroforesis**
 - ⇒ **Hibridación** con sonda específica
 - ⇒ **Autorradiografía**
- ⇒ **Enfermedades congénitas "RFLPs"**
 - ⇒ **Polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción**
 - ⇒ Endonucleasa y sonda determinadas para cada enfermedad.
 - ⇒ Se compara con un patrón de bandas.
 - ⇒ Cambio en la longitud de los fragmentos cortados por la endonucleasa de restricción debido a un cambio de los puntos de corte.
 - ⇒ P. Ej. **Anemia falciforme**.

Tecnología del ADN y terapia convencional

- ⇒ **Palian** la enfermedad, pero **no** la curan
- ⇒ Obtención de **grandes cantidades** de productos terapéuticos.
 - ⇒ No tiene que ser exactamente igual que la humana
 - ⇒ P. Ej. **Insulina**
 - ⇒ **Igual** (natural)
 - ⇒ **Modificada** para mejorar su pauta terapéutica (de diseño)
- ⇒ **Productos obtenibles**
 - ⇒ **Proteínas** cuyo lugar normal sea el **torrente circulatorio**.
- ⇒ **Metodología**
 - ⇒ Se **introduce** el gen de la insulina en un vector (P. Ej. Plásmido).
 - ⇒ Por **transformación bacteriana**, el plásmido penetra en algunas bacterias.
 - ⇒ Se localiza la cepa que produce la insulina, se **aisla** y se **reproduce**.
- ⇒ **Disponer del gen**
 - ⇒ **Genotecas** → gen introducido en el vector
 - ⇒ **ADN**
 - ⇒ **ADN_g** (ADN genómico): generales para el organismo.
 - ⇒ **ADN_c**: específicos de un tejido, obtenido de un ARN_m. Sin intrones, sólo con los exones.
 - ⇒ **Vector**:
 - ⇒ Plásmidos
 - ⇒ Fagos
 - ⇒ Cósmidos (híbridos entre plásmidos y fagos)
 - ⇒ Cromosomas artificiales
 - ⇒ **Todos los vectores son artificiales**
- ⇒ **Amplificamos**
- ⇒ **Introducirlo en un vector** de expresión (con promotor...)
- ⇒ **Expresar** el gen
 - ⇒ **Sistema heterólogo**: célula procarionta (*E. Coli*) para proteína eucariota. Genoteca de ADN_c no donde hay intrones.

- ⇒ Proteínas con pocas o sin modificaciones post-traduccionales (los procariotas carecen de la maquinaria biológica)
- ⇒ **Sistema homólogo**: célula procariota/eucariota para proteína procariota/eucariota
 - ⇒ *Sacharomyces cerevisiae* (modificaciones diferentes a las humanas)
 - ⇒ *C. ovario de hámster chino*
- ⇒ Organismos **transgénicos**: (meten un gen)
- ⇒ Organismos **KNOCK OUT**: destruyen un gen

Terapia génica

- ⇒ **Concepto**: tratamiento de las enfermedades con genes
 - ⇒ **No es fácil**
 - ⇒ Está actualmente en **estado experimental**
 - ⇒ **Numerosos estudios** clínicos
- ⇒ **Características**
 - ⇒ Aplicable a **enfermedades congénitas, víricas, neoplásicas**
 - ⇒ Puede dirigirse a células diferentes de las que originan la enfermedad (posible o no según la enfermedad)
 - ⇒ **TIPOS**: "Ex vivo" e "in vivo"
 - ⇒ **Vectores**: liposomas, virus modificados...
 - ⇒ No se requiere la introducción del gen en todas las células (5-10%)
- ⇒ Sólo utilizable con **células somáticas**