

# Aspectos de bioseguridad para el trabajo en el laboratorio con organismos genéticamente manipulados

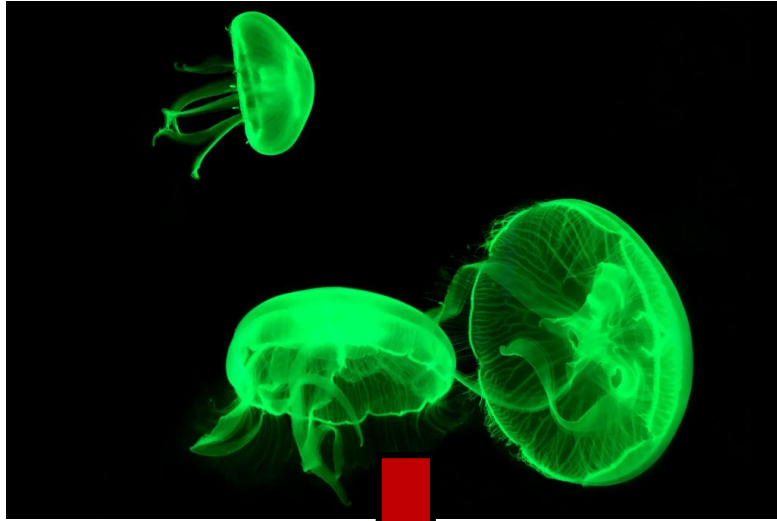


FACULTAD DE  
**CIENCIAS**

UDELAR | [fcien.edu.uy](http://fcien.edu.uy)

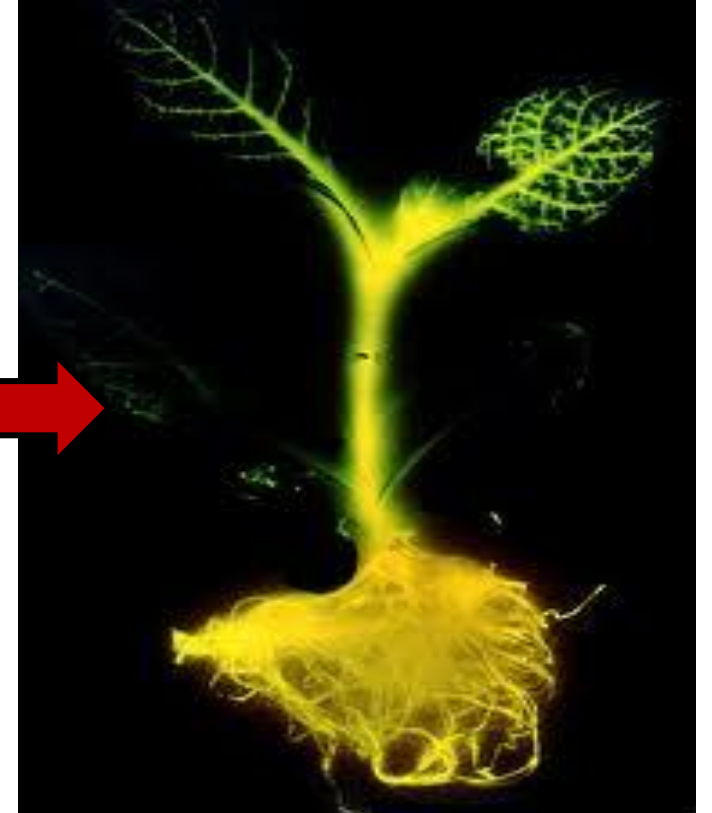
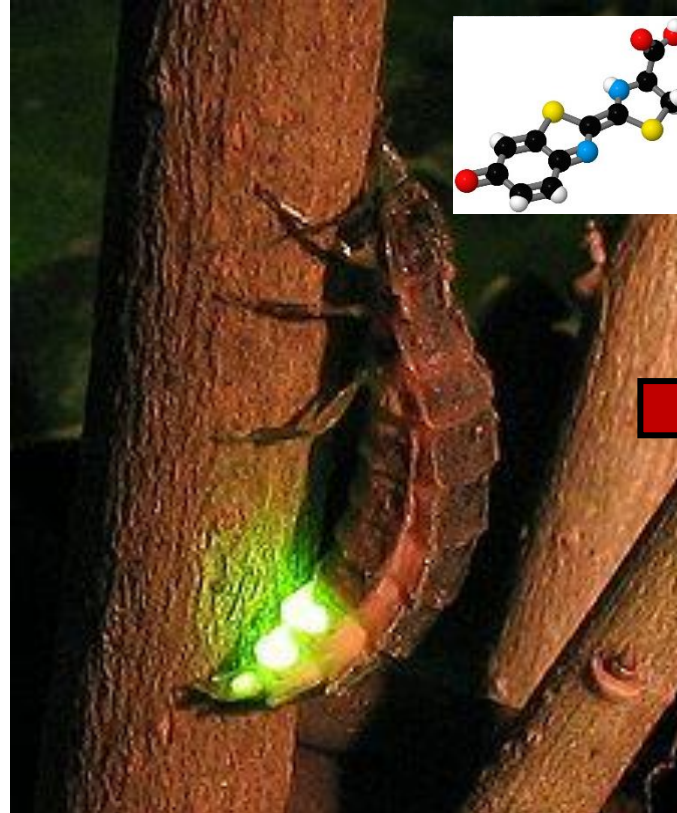
Sabina Vidal  
Laboratorio de Biología Molecular Vegetal  
[svidal@fcien.edu.uy](mailto:svidal@fcien.edu.uy)

## Green Fluorescent Protein (GFP)



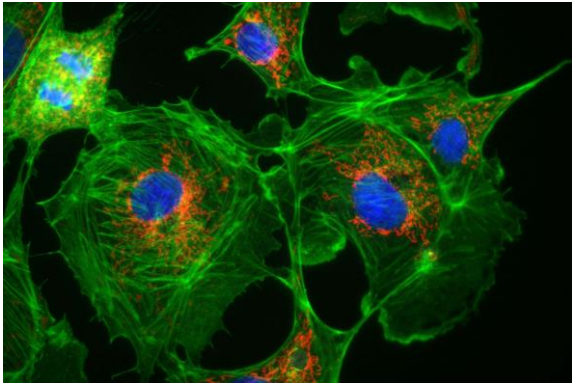
## Organismos transgénicos

### Luciferin (LUC)

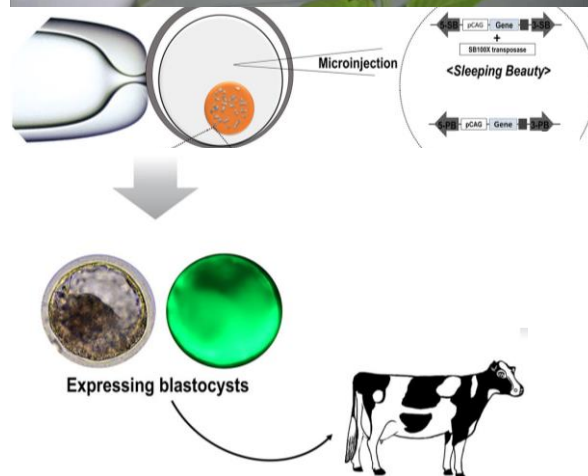


# La modificación genética es una herramienta esencial para la investigación

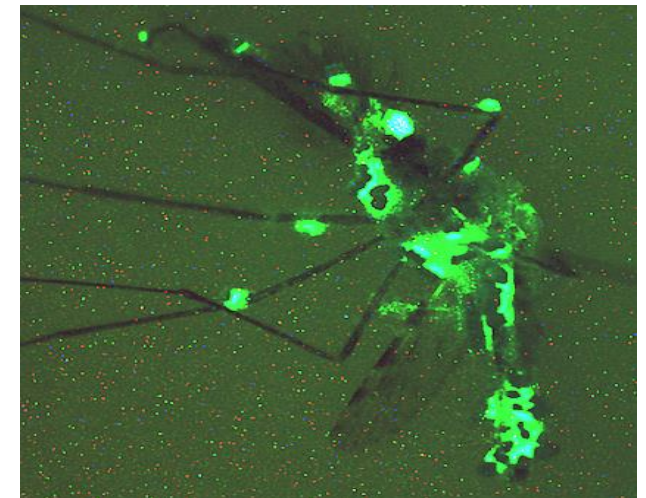
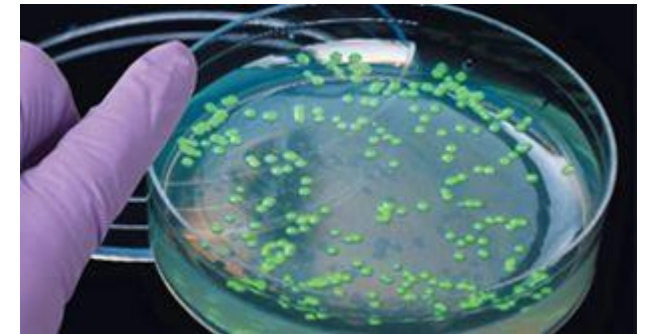
## Transgénicos en investigación biomédica



## Transgénicos en investigación agro-veterinaria



## Transgénicos en investigación biológica en general



# Organismos transgénicos (plantas)



Los organismos vegetales genéticamente modificados (OVGM) se definen como aquellas plantas en las que su material genético ha sido alterado de una manera que no es posible hacerlo mediante un cruzamiento o recombinación natural.

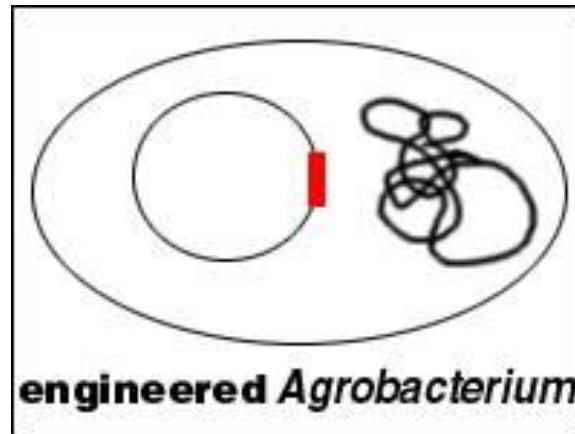


Quedan excluidas las plantas que fueron modificadas mediante técnicas de cruzamiento convencionales, mutagenesis o hibridación.

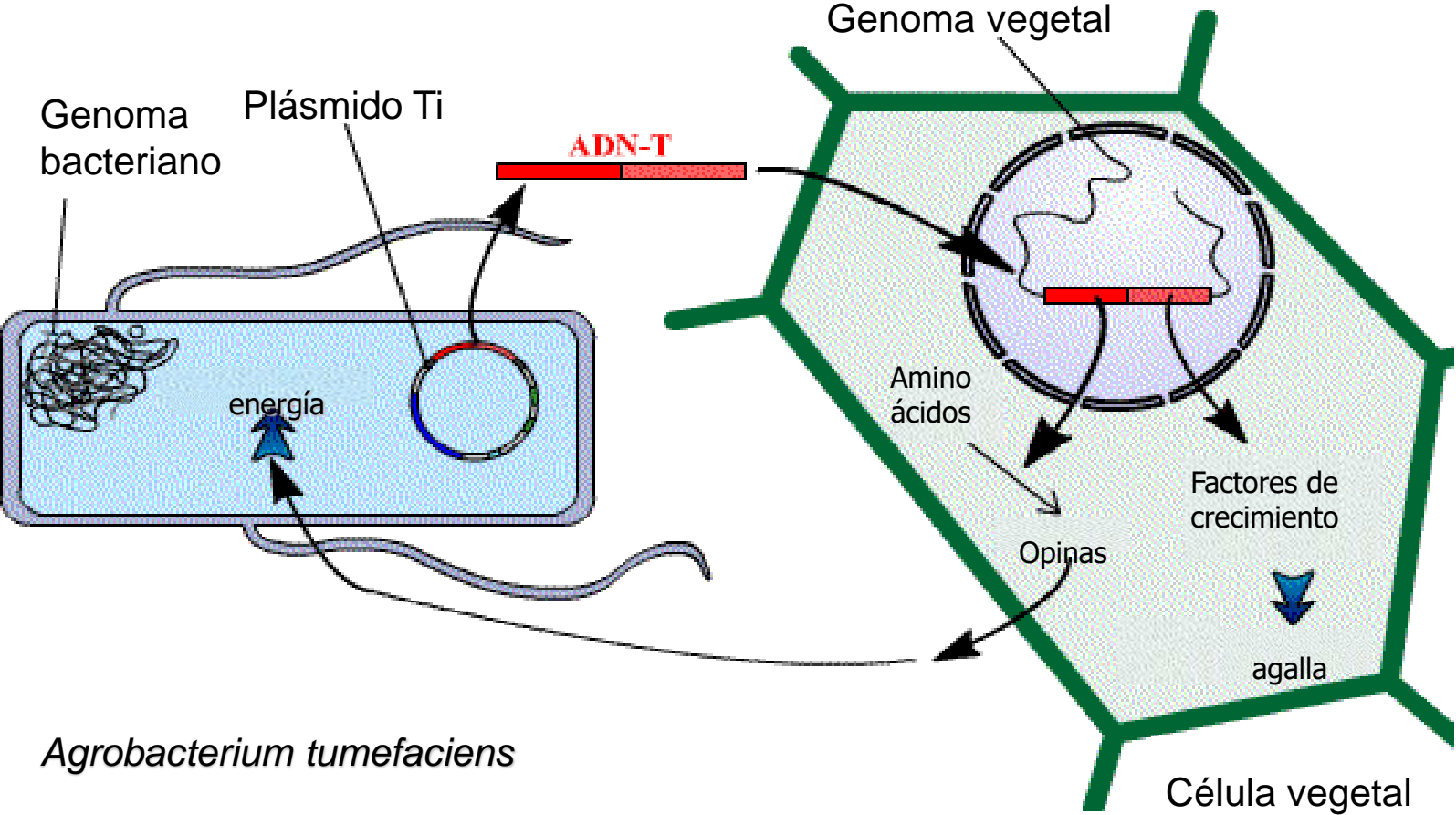
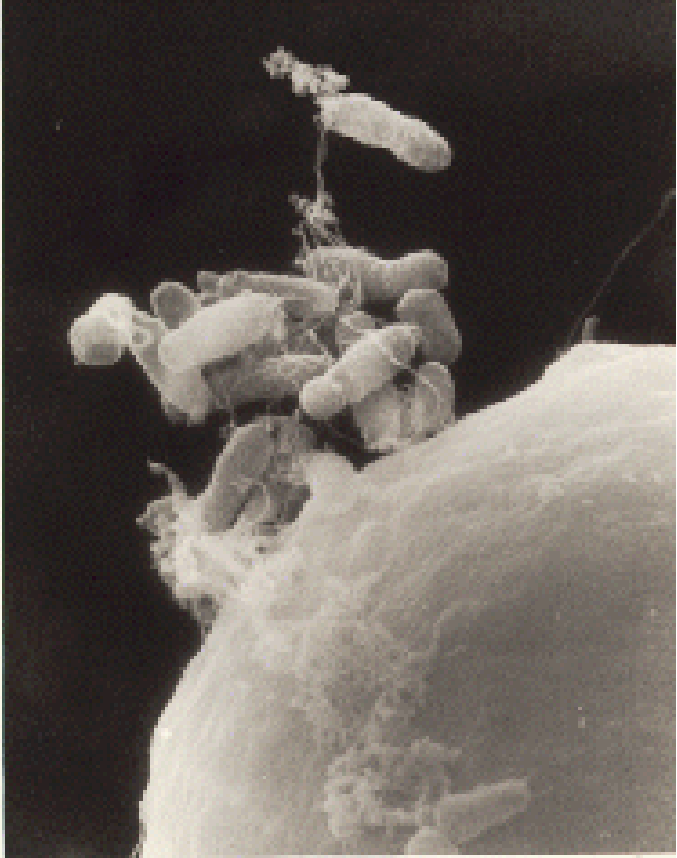
# ¿Cómo se generan las plantas transgénicas?



*Agrobacterium tumefaciens*: una bacteria productora de transgénicos en la naturaleza

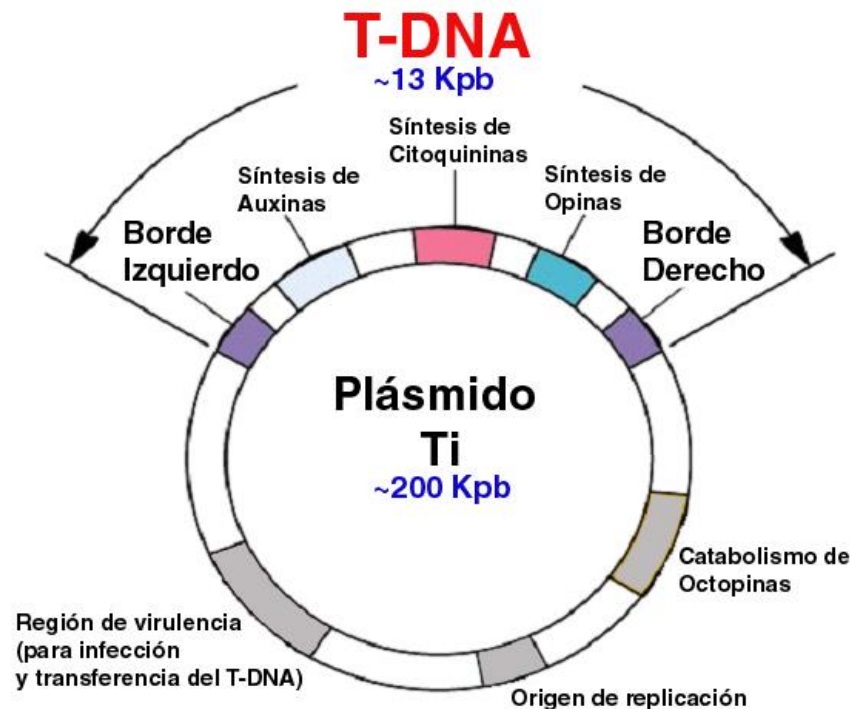


# *Agrobacterium* transfiere una región de ADN a la célula vegetal



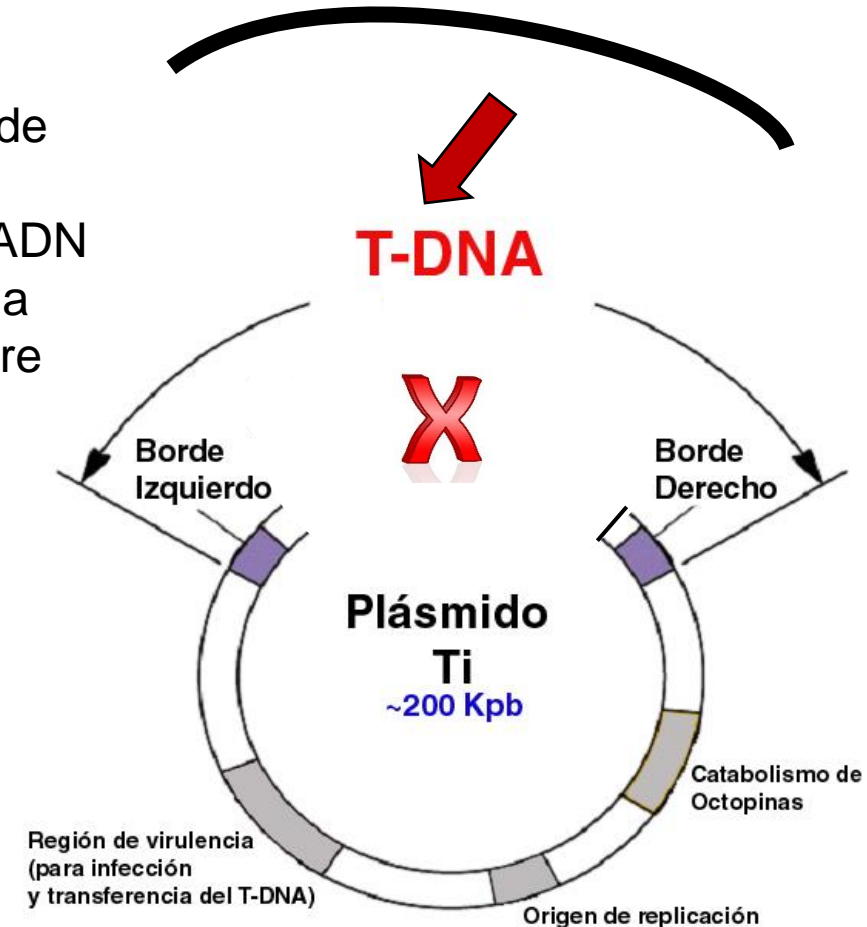
# Es posible utilizar a *A. tumefaciens* como vector para transferir una secuencia de ADN deseada a una célula vegetal.

En la naturaleza

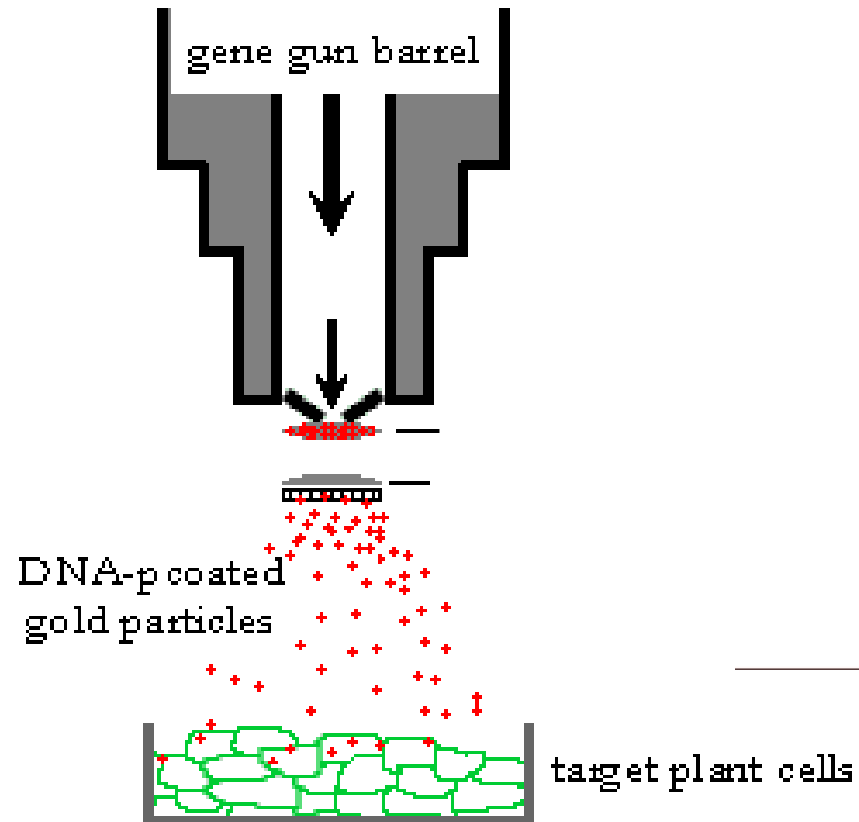


En el laboratorio

Se sustituye la región de ADN que la bacteria transfiere a la planta (ADN de transferencia), por la secuencia que se quiere transferir.

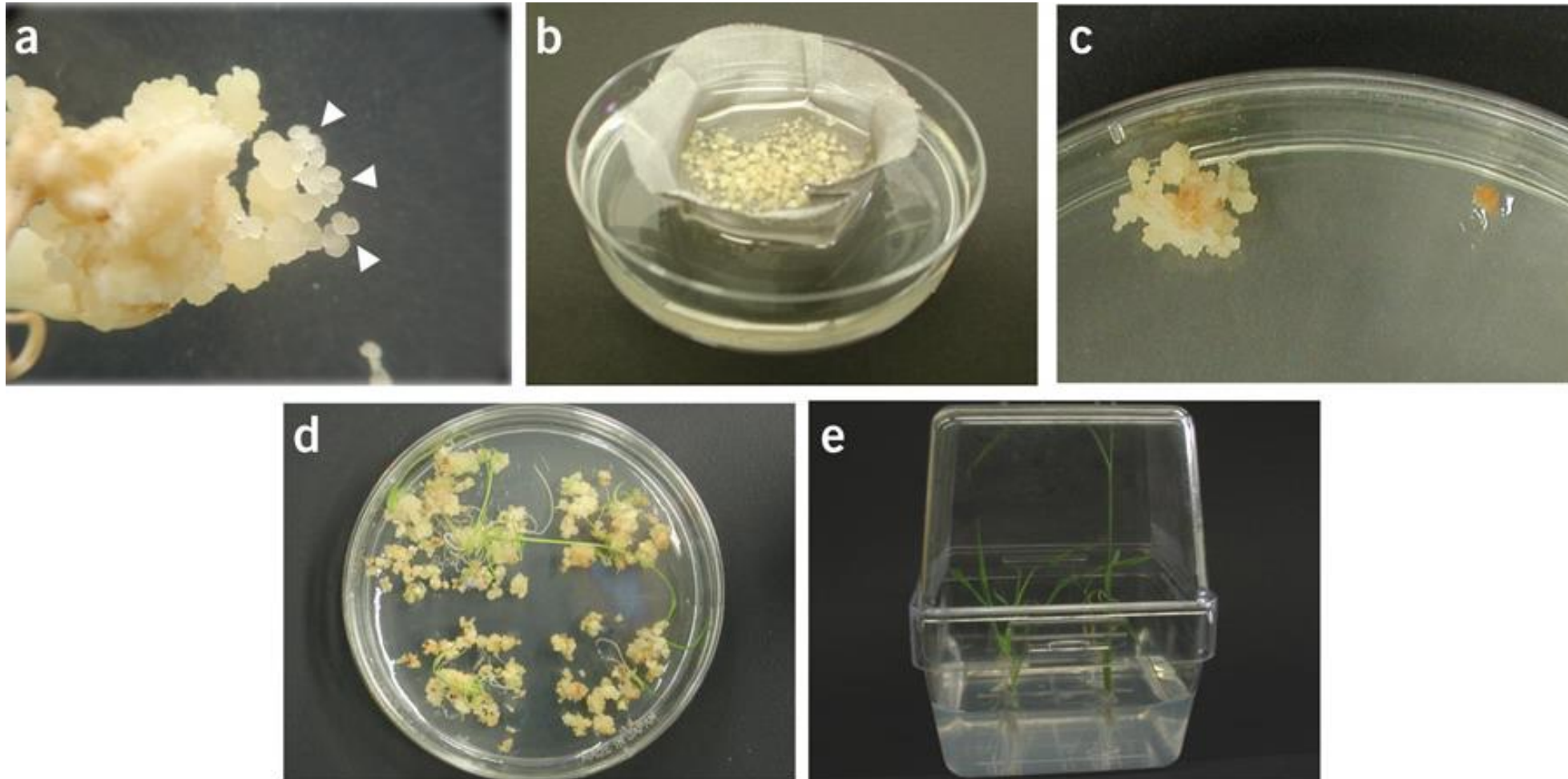


Para introducir ADN en una planta también podemos utilizar la fuerza bruta: biolística, bombardeo de partículas





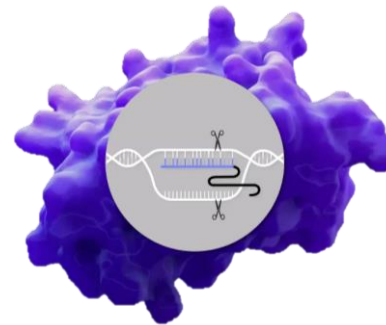
Una vez introducida la secuencia a una célula, hay que regenerar la planta *in vitro*. Eso se logra incubando las células transgénicas con hormonas específicas y varias etapas de cultivo de tejidos.



# Tecnologías modernas de manipulación genética: edición génica

Es la alteración de ácidos nucleicos en forma precisa y específica, a través del uso de biotecnologías modernas de ingeniería genética.

El sistema de edición génica más utilizado es **CRISPR-Cas**, por su simplicidad, versatilidad y enorme potencial.



# Tecnologías modernas de manipulación genética: edición génica (CRISPR/Cas9)

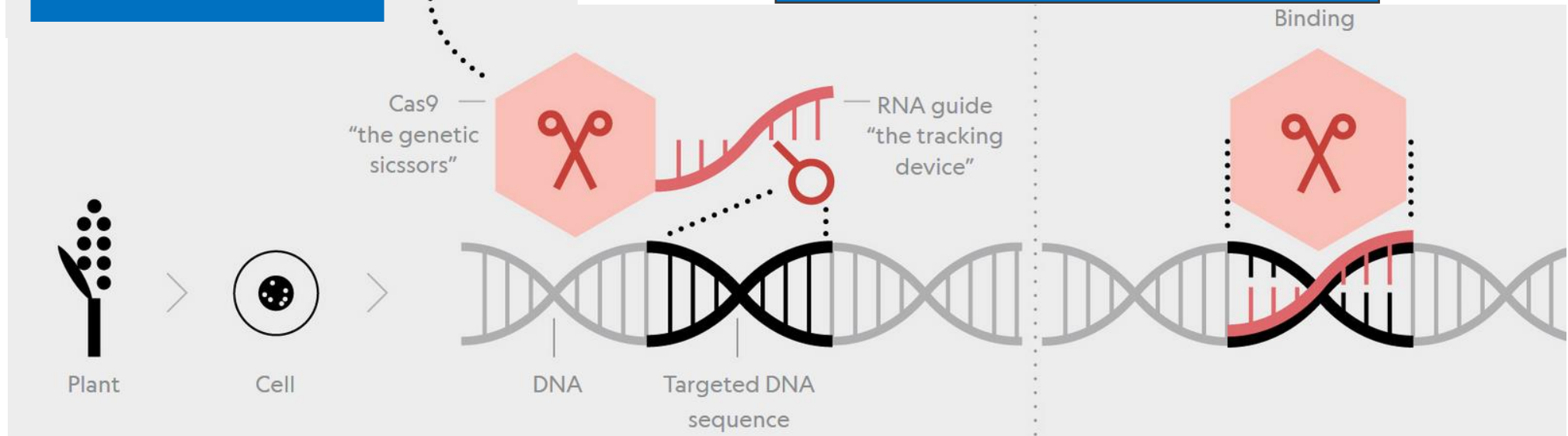
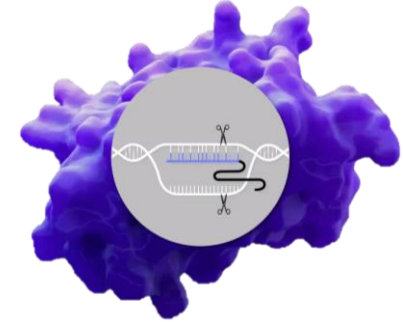
## Tecnología CRISPR/Cas



1. Se identifica un gen responsable de una característica.

2. Se diseña un pequeño ARN complementario a la secuencia a modificar, para editar el gen

3. Se introduce el ARN y la enzima Cas9 a una célula vegetal

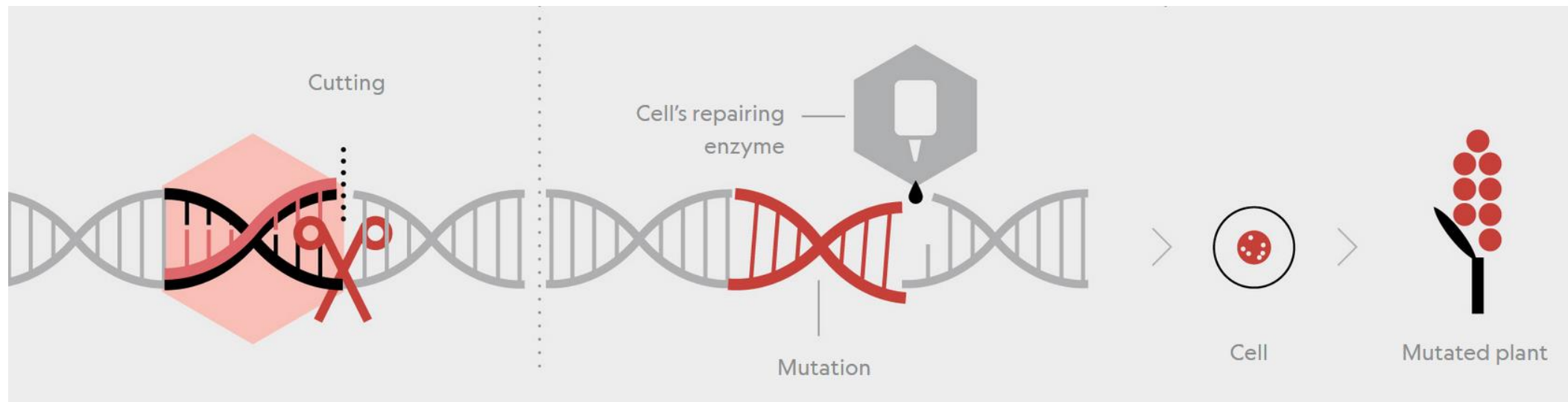


Las mutaciones generadas pueden ser indistinguibles de las que ocurren naturalmente, pero el proceso para generarlas frecuentemente implica el uso de la transgénesis.

Cas9 es guiada por el ARN para reconocer y cortar una secuencia en el ADN

La célula repara el daño en el ADN y en el proceso se producen mutaciones

Se regeneran plantas a partir de las células alteradas



Aplicaciones  
de la  
tecnología  
**CRISPR**



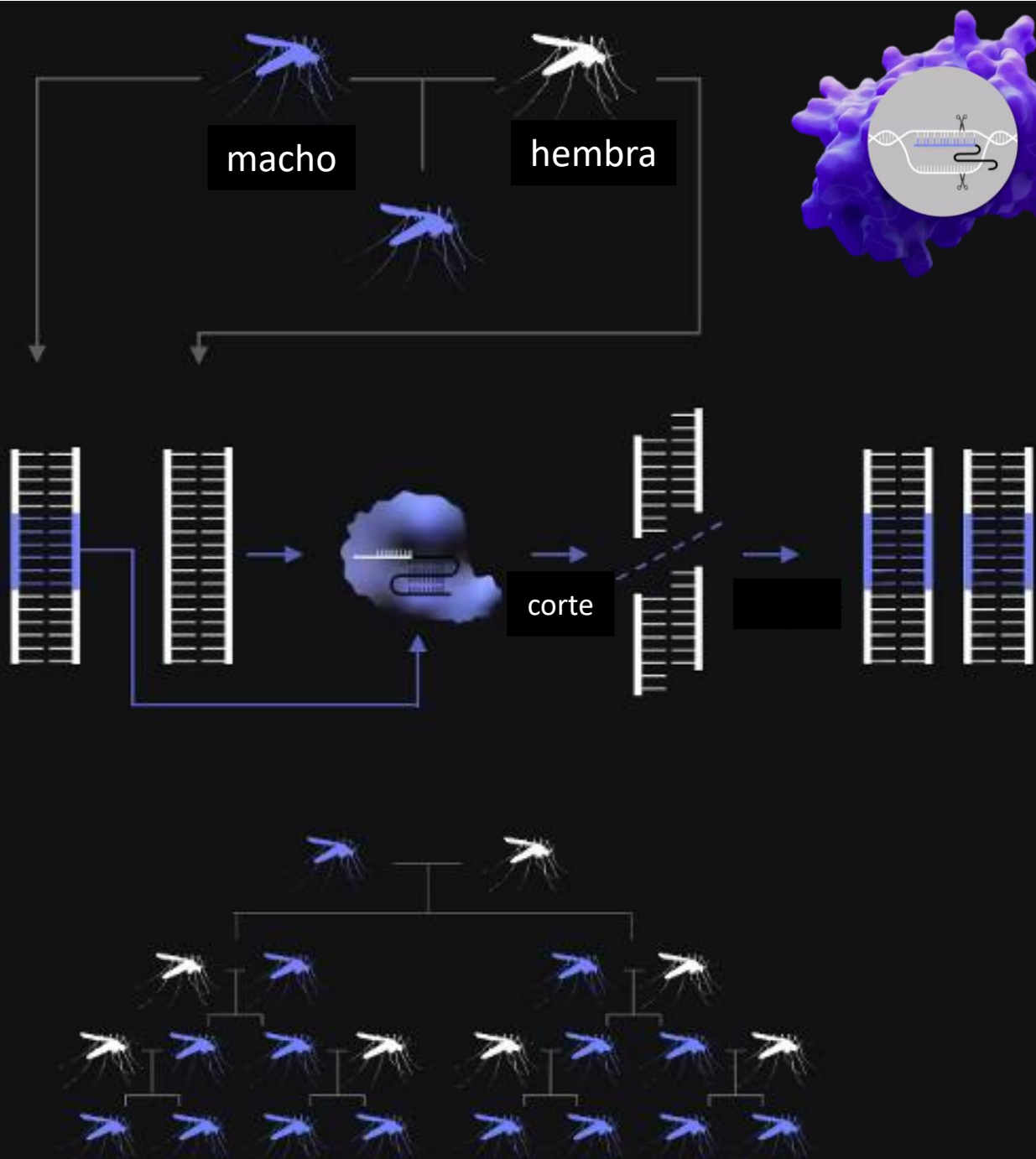
Investigación  
básica



Medicina



Agricultura



Aplicación de la tecnología **CRISPR** para reducir la transmisión de enfermedades infecciosas alterando la población de los vectores mediante *gene drive*.

Con CRISPR es posible aumentar la herencia de determinados genes en una población mediante *GENE DRIVE* (reacción genética en cadena, o impulsor genético).

Una copia de un gen (mutado) actúa sobre el gen no mutado del otro padre.

Teniendo en cuenta el potencial de las técnicas de ingeniería genética,

¿Qué tipo de medidas de bioseguridad se deberían adoptar para el trabajo en el laboratorio con este tipo de materiales?

# Identificación de riesgos

Patogenicidad



Toxicidad



Alergenicidad



Otros riesgos

**Muy importante**

Ambiental:  
dispersión no deseada.





# Tipos de medidas de bioseguridad

1 Para proteger el ambiente ante la propagación



**IMPORTANTE:**  
Normas de contención

2 Para proteger el experimento



3 Para proteger al operador



# Objetivos principales de las normas de bioseguridad para el trabajo con organismos manipulados genéticamente (ejemplo plantas)

- 1) Prevenir la diseminación de especies modificadas por ingeniería genética fuera del área de cultivo o de trabajo. **MEDIDAS DE CONTENCIÓN**
- 2) Proteger el experimento.



# La evaluación de riesgo se hace caso a caso y en tres etapas:

1. Características del huésped, del vector y de la secuencia de ADN modificada o introducida.
2. Circunstancias en las que los OGVM pueden ser manejados en forma segura:
  - Características del ambiente al que puede ser expuesto el OGVM
  - Tipo y escala de la actividad.
3. Determinación de la clase de riesgo en base a los dos criterios anteriores.

Las **medidas de contención** del material vegetal son fundamentales en los cuartos de cultivo, invernaderos, o laboratorios dedicados a la investigación con biología molecular vegetal.

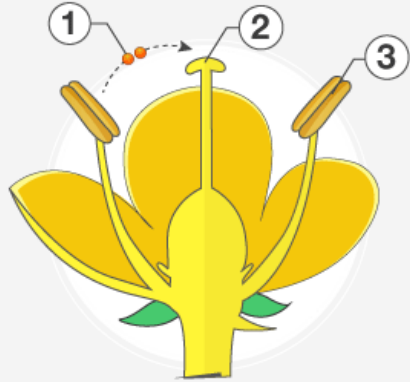


Las normas se deben aplicar tanto al material vegetal (transgénico o editado), como a los vectores que se utilizan para generar ese material. Ej: *Agrobacterium tumefaciens*.

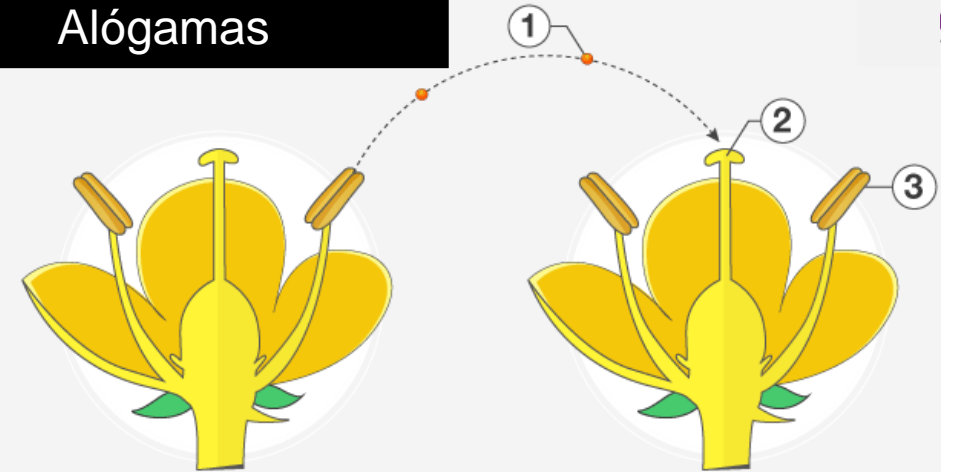
**Todas las partes reproductivas de una planta deben ser destruidas antes de ser descartadas.**

# El riesgo de dispersión del transgén varía según el tipo de reproducción vegetal

Autógamas



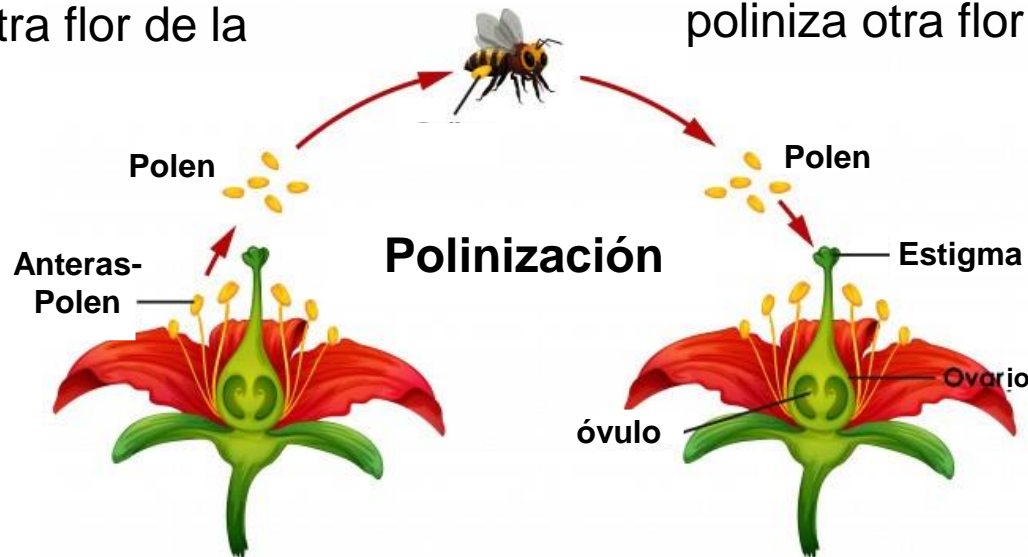
Alógamas



**Autopolinización:** la flor es polinizada por el polen de la misma flor o de otra flor de la misma planta

**Polinización cruzada:** el polen de una flor poliniza otra flor de una planta diferente.

**Vectores de polinización:** insectos, viento, etc



# MEDIDAS DE CONTENCIÓN

➔ Para las plantas de polinización abierta se deben tomar medidas para reducir el flujo génico a través del polen. Ejemplo: flores cubiertas con bolsas, barreras físicas. A su vez, se deben incorporar mallas antiáfidos u otros vectores biológicos.



Acceso restringido

Ropa para impedir dispersión



Cobertura de órganos reproductivos



Mallas anti-vectores



# MEDIDAS DE CONTENCIÓN

## Traslado y almacenamiento de material transgénico

- ➔ Las plantas transgénicas deben ser transportadas en contenedores cerrados para prevenir el escape de semillas, polen o material vegetal de cualquier índole. Esto incluye a semillas, tubérculos, cultivo de tejidos, plántulas y hojas.
- ➔ Los residuos provenientes de plantas transgénicas, o materiales descartables utilizados para la transformación, deben ser almacenados en contenedores previo a ser descartados.



# MEDIDAS DE CONTENCIÓN

- ➔ El material vegetal capaz de propagarse tiene que ser inactivado previo a su eliminación (autoclave, temperatura, incineración).



Autoclavado



Temperatura 200 °C



Incineración



# Otros aspectos a tomar en cuenta:

## Protección del experimento

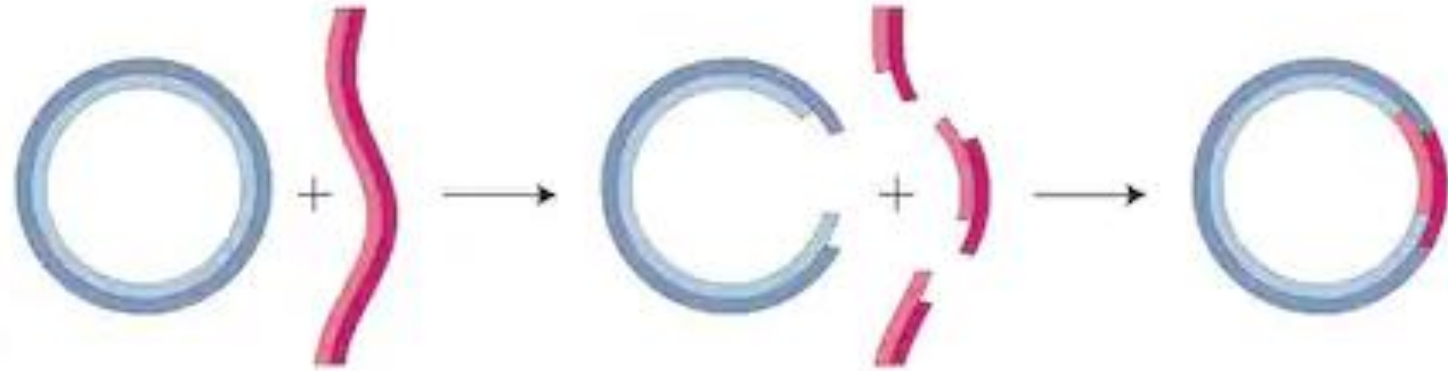
Es fundamental mantener condiciones de asepsia o esterilidad porque los materiales biológicos suelen estar sometidos a largos períodos de incubación con hormonas u otros compuestos y cualquier microorganismo presente podrá multiplicarse con el tiempo y generar una contaminación.



## Protección del operador

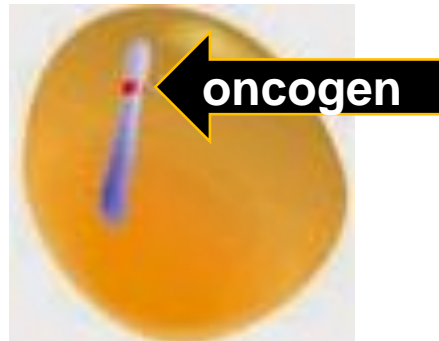


En la biotecnología moderna se trabaja con grandes cantidades de ADN



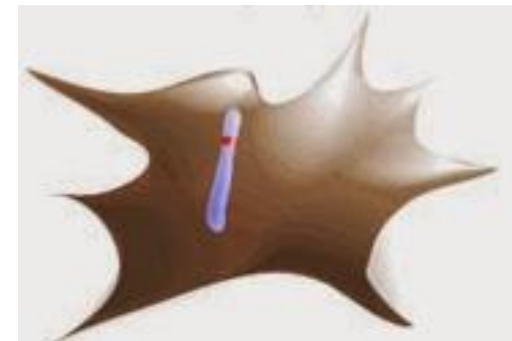
El ADN es una molécula intrínsecamente inocua pero algunas secuencias pueden acarrear riesgos de diversa índole

Célula normal



Transformación

Célula tumoral



# Organismo regulador:



---

*COMISIÓN PARA LA GESTIÓN DEL RIESGO (CGR)  
DEL GABINETE NACIONAL DE BIOSEGURIDAD (GNBio)*

**PROTOCOLO DE BIOSEGURIDAD PARA USO DE VEGETALES  
GENÉTICAMENTE MODIFICADOS EN LABORATORIO**



## Consulta Pública Noviembre 2019

La Comisión para la Gestión del Riesgo (CGR) del Gabinete Nacional de Bioseguridad (GNBio), informa que se abre un período de consulta pública para el evento en soja: HB4-PATXRR (para ensayos a campo y de INASE) y para...

## Canal MGAP



¿Qué es y cómo funciona el Sistema Nacional Bioseguridad?