

BIOTECNOLOGIA: EXPECTATIVAS Y RIESGOS

LECCION INAUGURAL

**del curso académico 1988-89
en la Universidad de Córdoba**

PRONUNCIADA POR EL

PROF. DR. JACOBO CARDENAS TORRES

Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular

*"Las honestas palabras que dan
indicio de la honestidad del que las
pronuncia o escribe"*

(CERVANTES)

*"Concern for man himself and his
fate must always form the chief
interest of all technical endeavor.
Never forget this in the midst of
your diagrams, and equations"*

(EINSTEIN)

Excmo. y Magfco. Sr. Rector,
Excmas. e Ilmas. Autoridades,
Queridos Compañeros,
Profesores y Alumnos:

En el curso obligado que la edad y cortesía académicas establecen para impartir la lección inaugural de un nuevo año lectivo, me toca hablar con ustedes sobre un tema que, por su importancia y novedad, no necesita de mayor recomendación.

Y como el tema es amplio y requiere entrar pronto en materia, lo inicio apropiándome de un texto cervantino:

"Ahora, que tan sin pensarlo me veo enriquecido deste divino don de la habla, pienso gozarle y aprovecharme dél lo más que pudiese, dándome prisa a decir todo aquello que se me acordare, aunque sea atropellada y confusamente, porque no sé cuando me volverán a pedir este bien, que por prestado lo tengo" (Berganza a Cipiión en el Coloquio de los perros).

Adopto la definición de Biotecnología recomendada por el informe Spinks de 1980:

"La Biotecnología se define como la utilización de organismos vivos o sistemas o procesos biológicos para la producción de bienes y servicios".

1. Naturaleza y variedad de los procesos biotecnológicos

De acuerdo con esta definición debemos considerar a la Biotecnología como una ciencia multidisciplinar de límites imprecisos que penetran en los campos de la Bioquímica, Biología Molecular y Celular,

Genética, Ingeniería Química, Química Orgánica, Microbiología, Ingeniería Biológica. A mí se me representa como una de esas generosas Vírgenes de los Navegantes del Renacimiento español que cubren con su amplio manto a lúcidos almirantes, forzados marineros e ilusionados grumetes surcando mares procelosos en busca de gloria y fortuna.

Los procesos biotecnológicos se remontan bien atrás en la historia de la humanidad. Las fermentaciones microbianas son los más antiguos de estos procesos que se conocen, unos 6.000 años A.C., como atestigua el descubrimiento de una tablilla babilónica en 1981, en la que se describe la preparación de la cerveza. Unos 3.000 años antes de Cristo los sumerios eran capaces de fabricar cerca de veinte tipos diferentes de cerveza.

El perfeccionamiento de los procedimientos de fermentación y el aumento de su eficacia, y el descubrimiento de numerosas bioconversiones bacterianas fueron seguidos del aislamiento de sustancias de origen bacteriano y fúngico que reemplazaron a los compuestos de síntesis en la industria farmacéutica, de alimentación y cosmética.

La pregunta de J.B.S. Haldane en 1929, "¿Quién se molestará en producir compuestos cuando puede hacerlo un microbio?", iba a resultar más profética de lo que pensó su autor en el momento de formularla.

Desde los descubrimientos de Pasteur y de Edward Büchner en el último tercio del pasado siglo y de la acción antibiótica de la penicilina en 1928 por Fleming, el cultivo y manejo de microorganismos, con el advenimiento principalmente de la Biología Molecular a partir de 1953, han sufrido un aumento espectacular a una velocidad vertiginosa.

Los campos de la medicina (nuevos y mejores tratamientos para las enfermedades cardiovasculares, cáncer y diabetes; vacunas contra todo tipo de enfermedades víricas; nuevas técnicas de diagnóstico y detección; nuevos y más eficaces métodos para el transplante de órganos; técnicas para la curación de enfermedades moleculares innatas, etc.), agricultura y, producción de alimentos (cultivos que producen sus propios fertilizantes; plantas resistentes a la sequedad y estrés salino; obtención de hormonas de crecimiento de animales; vacunas contra infecciones del ganado; fuentes más baratas de alimentos, etc.), producción de energía (fuentes renovables de energía —metano, hidrógeno, alcohol, biomasa—; sustancias elaboradas por microorganismos que extraen combustibles del subsuelo; producción de biomasa, etc.) y la industria (nuevas fuentes de productos de interés industrial; microbios que lixivian metales de rocas; nuevos sistemas microbianos de control de la contaminación), han sido afectados por los avances beneficiosos de la biotecnología.

La revolución biotecnológica que ha sucedido en la historia de la humanidad a la revolución verde y a las revoluciones industriales constituye hoy la base de grandes industrias productoras de medicamentos, alimentos o bebidas, o energías renovables, o que combaten en los diversos frentes de la contaminación ambiental.

Las previsiones de las cifras que van a mover estas industrias son escalofrantes y elocuentes por sí mismas. En el año 2000 se calcula que se producirán aminoácidos y proteínas por ingeniería genética por valor de 625.000.000 de pesetas; 900.000.000 en anticuerpos monoclonales; 1 billón 375.000.000 en productos farmacéuticos en 1990; otro tanto importarán los productos químicos en el año 2000; la agricultura y la preparación de alimentos supondrán más de un billón de pesetas (1.125.000.000) en el año 2000, mientras que por las mismas fechas lo que se invertirá en energía renovable será 2 billones de pesetas y unos 6 billones importará el control de la contaminación en 1991.

Todo esto explica el interés de los gigantes industriales por este tema, las fuertes inversiones que a toda prisa se están llevando a cabo en sus diversos campos y el enorme rango de problemas y riesgos con los que se enfrentan y se han de enfrentar los que trabajan en este terreno.

Esta es también la justificación de la elección de este tema como materia de lección inaugural en este curso 1988-89.

Como tendremos ocasión de ver, la Universidad de Córdoba no es ajena al latir biotecnológico que se siente en las venas de la investigación de nuestro país. Buena prueba de ello es el papel preeminente que algunos de sus profesores y su Junta de Gobierno han jugado en la gestión del recién creado Instituto Andaluz de Biotecnología Vegetal o las Jornadas sobre Biotecnología aplicada a la producción agraria organizadas recientemente en el Centro de Investigación y Desarrollo Agrario con la participación de relevantes miembros del claustro de profesores de la ETSIA de nuestra Universidad.

Y pues el tema, a más de fascinante, es amplio por la naturaleza y variedad de los procesos biotecnológicos, trataré de ser conciso y ameno, aun a riesgo de sacrificar precisión, con lo cual no hago sino ejercer la facultad de preferir a cuyo uso, como humanos —ya nos recordaba Ortega— estamos inexorablemente condenados.

Y como no quiero tener bien presente el proverbio hebreo: "Aro de oro en jeta de puerco es palabra hermosa falta de seso", con estilo

directo y desnudo de tecnicismos me propongo conversar con ustedes unos minutos sobre las expectativas y los riesgos de la Biotecnología.

Cuenta Borges de un mono de las regiones del norte de China, animal dotado de un instinto curioso: "es muy aficionado a la tinta china, y cuando las personas escriben, se sienta con una mano sobre la otra y las piernas cruzadas esperando que hayan concluido y se bebe el sobrante de la tinta. Después vuelve a sentarse en cuclillas, y se queda tranquilo". Espero y les invito a que hagan lo que este curioso simio. Aguarden a que garrapatee torpemente unos cuantos trazos del panorama de la Biotecnología, y que luego apuren el tintero donde va a quedar lo más interesante.

Esta lección se divide, pues, en los siguientes apartados, sobre los que discurriremos brevemente (Tabla I): Comenzamos por el segundo, Ingeniería Genética, ya que sobre el primero hemos dicho bastante y su contenido queda reflejado en la sucinta enumeración que bajo el epígrafe de bioindustria —biotecnologías aplicadas a escala industrial—, se recoge en la Tabla 2.

2. Ingeniería genética

1953 marca un hito en la historia del pensamiento general y biológico. Cuando Watson y Crick publican en *Nature* en el número del 25 de abril, su trabajo sobre la doble hélice del DNA se inicia lo que podemos llamar la revolución molecular o cuarta revolución copernicana, tras la segunda de Kant y la tercera de Darwin: podemos ya pensar a escala molecular y, en un corto tiempo, trabajar y manipular las piezas más delicadas de las reservas de información de los seres vivos.

Los hallazgos y aplicaciones en este campo han sustrido un crecimiento explosivo en estos 40 años siguientes, y el resultado, por lo que concierne a nuestro tema, ha sido la especialización molecular de lo que se llama hoy Ingeniería Genética, logro que alcanza los límites de la magia, por una parte, y los riesgos del aprendiz de brujo, por otra.

Resumo brevemente lo que es trabajo de rutina en un laboratorio corriente de Biología Molecular:

La información genética de un organismo vivo reside en el DNA de sus cromosomas, particularmente en la secuencia de las bases púricas y pirimidínicas del esqueleto de la cadena.

Esta información se conserva celosamente y cuando resulta necesario se hacen copias de las instrucciones que son leídas por los ribosomas, orgánulos celulares encargados de traducirlas y convertirlas en proteínas de diversas clases, de acuerdo con un programa conocido como el código genético.

La complejidad del sistema de custodia de la información genética varía paralelamente a la complejidad del organismo. Los organismos más simples que se conocen, las bacterias, no tienen la información confinada en un compartimento especializado, el núcleo, como las células más complejas que por ello se llaman eucarióticas. Tienen un solo cromosoma principal, circular y grande, aunque pueden tener piezas de información más pequeñas, circulares, denominadas plásmidos. Los plásmidos son estructuras enigmáticas de función desconocida, aunque muchos de ellos portan genes que confieren a muchas bacterias resistencia frente a los antibióticos y su aspecto más destacado desde el punto de vista de la ingeniería genética es que pueden pasar con una relativa facilidad de una célula a otra, incluso entre estirpes celulares de especies diferentes. Si se toma un plásmido bacteriano y se "pega" un gen de ADN en su anillo, la facultad natural del plásmido de penetrar en el interior de las bacterias permitirá a dicho gen penetrar en un nuevo emplazamiento acompañado de la correspondiente información genética. El plásmido que se utiliza para esto recibe el nombre de vector. Ciertos tipos de virus pueden actuar también de vectores.

En 1938 Warren Weaver, director a la sazón de la Rockefeller Foundation, acuñó el término Biología Molecular "a new branch of science which is beginning to uncover many of the secrets concerning the ultimate units of the living cell".

Al cumplirse el 50 aniversario de este acontecimiento, el número de octubre de este año de la Revista **Trends in Biotechnology** dedica una historia a los 50 años transcurridos. A este "Molecular Biology's hall of fame" remito al curioso oyente para que complete los puntos débiles de este relato histórico.

En 1971 se descubrieron en bacterias unas de las más curiosas herramientas de la ingeniería genética, las enzimas de restricción. Se trata de endonucleasas, que recorren la doble hélice del DNA hasta que se encuentran con determinadas secuencias específicas de bases a las que reconocen produciendo una precisa incisión entre los dos filamentos de la doble hélice del DNA. En las moléculas circulares de los plásmidos, esto permite la apertura del anillo y posibilita la introducción de un gen humano.

Desde 1971 se han descrito más de 300 tipos diferentes de estas enzimas específicas. En la Fig. 1 se presenta la acción de tres de ellas.

Tras la realización del corte en el plásmido que se produce dando lugar extremos escalonados, se le pone en contacto con el gen que se desea insertar y se someten a la ligadura en presencia de una enzima específica DNA-ligasa.

La molécula así recombinada puede introducirse en una bacteria nodriza que puede actuar como fábrica de la proteína cuya información se contiene en el gen insertado. En la Fig. 2 se esquematizan estos procesos.

Lo característico de los plásmidos es que son capaces de multiplicarse por sí mismos en el interior de la célula hasta producir algunas docenas de copias. Si el plásmido contiene un gen humano, el gen se multiplica de la misma forma que el resto de la molécula. Y como la bacteria que alberga el plásmido también crece y se divide (aproximadamente cada 20 minutos), antes que transcurra mucho tiempo una sola bacteria puede haber originado millones de descendientes. Una población de células procedentes de un antecesor común se denomina clon, y todas las células de un clon tienen idéntica dotación génica, de modo que en 24 horas, una sola bacteria portadora de una molécula recombinante puede originar millones de células idénticas con el gen humano original. Se dice, entonces, que dicho gen ha sido clonado (Fig. 3).

Esto es parte de la historia que tiene perfiles y detalles muy interesantes que deliberadamente omito. Baste continuar diciendo que las proteínas humanas permanecen, por lo general, en el interior de la célula bacteriana, de la que se extrae mediante procedimientos mecánicos o biológicos diversos.

Combinando la acción de estas enzimas y la manipulación del DNA recombinante con poderosas técnicas de análisis del material genético, ha sido posible identificar los genes responsables de la síntesis de enzimas y proteínas claves en los procesos celulares, y especificar molécula a molécula la composición y orden de los aminoácidos que los integran.

En este punto, y a pesar de lo sumario del relato, más de uno habrá sucumbido a la tentación de pensar que estos hechos sólo son posibles en laboratorios extranjeros, donde suelen ocurrir estos descubrimientos. Algo así como el oro olímpico de la ciencia en la que, con un poco de suerte, sólo podemos aspirar a medallas de metales aleados. La abertura del Canto III del Infierno de Dante: "Lasciate ogni speranza voi

ch'entrate" suena desagradable e inapelablemente.

Quizás el estado de ánimo quede mejor reflejado en los versos de otro florentino:

"Tan lleno estaba el corazón de asombro que quedé como aquel que nada dice, esperando que alguno le aconseje" (Petrarca, **Triunfos**).

El consejo nos viene de los hechos. En la Fig. 4 se presentan las secuencias de aminoácidos (deducidas de la secuencia de nucleótidos del gen estructural) de la nitrato reductasa del alga verde **Chlamydomonas reinhardtii**, primera enzima responsable de la asimilación de nitrato en las plantas, descifrada con las técnicas modernas de ingeniería genética por el Profesor Emilio Fernández, del Departamento de Bioquímica, Biología Molecular y Fisiología de esta Universidad, así como las secuencias coincidentes, secuencias-consenso, con otras enzimas similares de otros orígenes. Se trata de la primera nitrato reductasa de algas clonada, lo que supone un paso de trascendental importancia para el estudio de la regulación, a nivel molecular, de la asimilación de nutrientes nitrogenados en el reino vegetal.

Quiero, en este punto, poner otro ejemplo de posible aplicación de la Biotecnología para hacer frente a uno de los azotes modernos que estamos padeciendo actualmente: la posibilidad de fabricación de una vacuna contra el SIDA. El SIDA está producido por un retrovirus cuya estructura a nivel molecular ha podido ser establecida en un tiempo récord. Su blanco de acción son unas células especializadas del sistema inmunitario, los linfocitos T4 auxiliares que juegan un papel crucial en el desencadenamiento de la respuesta inmunitaria. Suprimiendo la actuación de los T4 el sistema inmune se desmorona y es inexistente a todos los efectos, con lo que el enfermo de SIDA, aparte de otros síntomas, puede sucumbir ante cualquier infección oportunista.

Interfiere la acción de los T4 mediante la glicoproteína gp120, que sobresale de la envuelta vírica y que, desgraciadamente, como en el caso de otros retrovirus y adenovirus, consta de regiones de proteínas altamente variables y de unas porciones más fijas, que son las únicas que pueden utilizarse para la fabricación de vacunas. En la actualidad se intenta, por las técnicas de ingeniería genética, obtener suficiente cantidad de estas regiones para producir anticuerpos que puedan ser utilizados como vacunas por parte de estos enfermos.

Esto nos da pie a tratar el siguiente punto de esta lección, **Híbridos y enfermedad**, que nos permite hablar de una de las técnicas más prometedoras actualmente de la Biotecnología: la fabricación de los anticuerpos monoclonales.

3. Hibridomas y enfermedad

El descubrimiento y desarrollo de las cuatro clases principales de antibióticos —penicilinas, tetracilinas, cefalosporinas y eritromicinas— han surgido al hilo de la lucha del hombre contra la enfermedad y contra el alarmante incremento de la resistencia a los antibióticos que han ido presentando los diversos microorganismos patógenos. El descubrimiento en 1945 por Giuseppe Brotzu del hongo **Cephalosporium**, productor de la penicilina N y de la cefalosporina C, antibióticos de amplio espectro, ejemplifica esta lucha, así como el papel de la Biotecnología en su relación con la enfermedad.

La biotecnología ha aportado dos técnicas fundamentales para conseguir microorganismos productores más eficaces de distintos antibióticos: la fusión celular y la producción de anticuerpos monoclonales.

Mediante fusión celular se generan combinaciones químicas innovadoras entre dos células a las que se les han eliminado sus paredes externas por digestión enzimática. El contenido celular queda rodeado únicamente por la membrana mucho más fina. Estas formas celulares frágiles, denominadas protoplastos, se combinan mediante la adición de determinados virus o sustancias químicas.

La fusión celular produce células híbridas o recombinantes que contienen material genético procedente de dos o más células de cepas distintas de la misma especie microbiana o de especies diferentes por completo. La gran ventaja de este proceso estriba en que se pueden obtener mezclas nuevas de material genético, combinaciones que no se producen en absoluto, o sólo raramente, en la naturaleza, con la consiguiente utilidad para la producción de antibióticos modificados o de otros muchos productos de interés industrial o alimentario.

La fusión celular se utiliza como principio de la técnica de producción de los anticuerpos monoclonales, probablemente la de mayor y más rápida repercusión en medicina hoy en día.

Los anticuerpos se producen en células especializadas del bazo, sangre y ganglios linfáticos. Las llamadas células B circulan por el organismo en busca de microbios u otros materiales extraños a los que interceptar. Esta acción de bloqueo y neutralización la ejercen los anticuerpos de una forma muy específica: encajando los brazos de su estructura molecular en forma de Y, mediante un ajuste muy preciso, en la estructura molecular del antígeno a la que se adhiere. En el cuerpo humano existen, así, millones de tipos distintos de anticuerpos que presentan, en cada caso, cavidades de forma característica. Un anticuerpo sólo se adhiere a un antígeno que tenga exactamente la forma

idónea. El término anticuerpos monoclonales se aplica al grupo de anticuerpos idénticos que poseen el mismo tipo de cavidad, que reconocen por tanto al mismo antígeno.

¿Cómo obtener por separado los distintos tipos de anticuerpos? Para ello la Biología ha recurrido a un truco ingenioso y osado.

En 1975 Köhler y Milstein publican un artículo trascendental en la revista *Nature* (vol. 256, 495-497): "Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity".

Las células B de bazo de ratón producen anticuerpos, cada una de ellas un tipo solamente de ellos. Si se cultiva *in vitro* una de estas células, puede crecer y dividirse y elaborar el anticuerpo deseado. El problema es que las células B mueren tras ser aisladas, sin dar tiempo a que generen un clon con la suficiente cantidad de anticuerpo. Pero estas células pueden fusionarse con otras células cancerosas prácticamente inmortales que, en condiciones adecuadas, pueden crecer y dividirse virtualmente de modo indefinido.

Así, combinando la habilidad de las células B para producir anticuerpos con la casi inmortalidad de las células cancerosas, se pueden obtener grandes cantidades de anticuerpos monoclonales.

En la Fig. 5 se muestra en esquema el procedimiento para la obtención de anticuerpos monoclonales contra el interferón, proteínas de defensa secretadas por las células en respuesta a infecciones víricas, una de las nuevas esperanzas para combatir el cáncer y ciertamente un medicamento de extraordinario interés para prevenir o curar diversas enfermedades víricas (rabia, hepatitis, herpes diversos e infecciones por citomegalovirus).

Esta nueva tecnología está revolucionando la práctica médica desde el tratamiento del cáncer y la insuficiencia renal hasta las infecciones bacterianas o víricas. Entre las diversas aplicaciones de los anticuerpos monoclonales hay que citar: la potencia de las defensas naturales de los pacientes, la mejora de las expectativas de éxito en el transplante de órganos, la mayor precisión en la aplicación de medicamentos en partes concretas del cuerpo y la purificación y abaratamiento de los costes de producción de fármacos escasos y caros. El caso del interferón es un ejemplo de estas últimas aplicaciones que ha permitido un abaratamiento espectacular de estas proteínas de defensa (existen una docena de tipos de interferón).

En su relación con la enfermedad, la Biotecnología combate en primera línea fabricando vacunas antivíricas, por ingeniería genética,

contra la hepatitis B y contra la rabia; mediante la obtención de proteínas antihemofilia por clonación de los genes de los factores de coagulación VIII y IX; trabajando intensamente por desarrollar vacunas contra el SIDA; mediante la puesta en marcha de programas de inmunización pasiva contra el plasmodio de la malaria (denominada así porque la protección depende de anticuerpos externos inyectados al cuerpo y no de anticuerpos producidos por el propio sistema inmunitario del organismo); mediante la fabricación por ingeniería genética de insulina, de hormona de crecimiento, somatostatina, calcitonina, colecistoquinina, bombesina, vasopresina, hormona paratiroidea, factor de crecimiento nervioso, hormona adrenocorticotrópica y eritropoyetina; fabricando mediante microorganismos hormonas esteroideas; por medio del empleo de la terapéutica enzimática; utilizando anticuerpos monoclonales y enzimas bacterianas para combatir el cáncer y tratamiento de enfermedades cardiovasculares, etc., etc.

No quiero terminar esta parte de mi exposición sobre el interés y aplicabilidad de la Biotecnología en la obtención de nuevos fármacos sin mencionar la droga que bloquea la acción de los corticoides y de la progesterona (la RU 38486) y un fragmento activo compuesto por 29 aminoácidos (la molécula "endógena" tiene 44) de la molécula hipotalámica (GRF) que estimula la secreción de hormona de crecimiento (GH). El primer compuesto mencionado fue sintetizado por E.E. Baulieu (Bioquímico de Roussel-Uclaf, Francia). El segundo compuesto fue obtenido por LANCE en 1984, y SERONO (Suiza) adquirió sus derechos para el uso clínico. Sobre ambas drogas se trabaja en la Sección de Fisiología del Departamento de Bioquímica, Biología Molecular y Fisiología bajo la dirección del Profesor Sánchez Criado. Las expectativas iniciales y el optimismo que se creó tras la identificación del GRF-29 se encuentran actualmente frenadas, debido a que en el momento presente su utilidad es exclusivamente diagnóstica, y aún no se ha encontrado el mecanismo de administración para conseguir que sea efectiva. La Fig. 6 muestra cómo ratas tratadas con GRF o vehículo en el período de máxima aceleración del crecimiento, presentan un idéntico patrón de desarrollo corporal.

En el caso del GRF-29, es la primera vez que una multinacional encarga el estudio del fármaco a laboratorios y hospitales españoles (Córdoba, León y Ramón y Cajal de Madrid).

4. La nueva revolución verde

En tres frentes principales ha contribuido la biotecnología vegetal al incremento de la producción agrícola de una manera característica e insustituible.

El primero es el del autoequipamiento a plantas de interés agroalimentario por ingeniería genética de la maquinaria necesaria para la fabricación del propio fertilizante.

La segunda contribución ha tenido lugar en el campo de la defensa de cultivos frente a las plagas; y en tercer lugar, en la selección por ingeniería genética de cultivos alimentarios resistentes a la sequedad, sales y otras fuentes de estrés ambiental.

En el primer frente, el ejemplo más avanzado y de mayor expectativa a corto plazo, a pesar de sus indudables dificultades, es el de la transferencia de los genes que codifican el aparato enzimático responsable de la fijación de dinitrógeno de bacterias fijadoras a plantas de interés económico.

El nitrógeno es uno de los nutrientes fundamentales de los suelos y son muchos los miles de millones de dólares que la agricultura de los países desarrollados y en vías de desarrollo gastan en abonos minerales nitrogenados para suplir el déficit anual que originan los cultivos. Sólo unas cuantas especies bacterianas de vida libre y otras que viven en simbiosis con ciertos tipos de plantas, como las leguminosas, tienen la maquinaria genética enzimática para reducir el N_2 , que representa el 80% del volumen de los gases de la atmósfera, en una reacción química fuertemente endérgica (Fig. 7).

El desafío biotecnológico consiste en transferir por técnicas de ingeniería genética los genes *nif* desde una bacteria fijadora a una planta de interés agroeconómico como trigo, maíz, soja o arroz. La dificultad estriba en que la proteína enzimática nitrogenasa está codificada por al menos 17 genes diferentes, que aunque están ligados en el cromosoma bacteriano, representa una tarea ardua desde el punto de vista cuantitativo y de la expresión de todos ellos, algunos particularmente delicados, ya que los genes de regulación de la enzima son sumamente sensibles a trazas de oxígeno. De cualquier forma, se ha conseguido ya transferir los 17 genes *nif* de *Klebsiella pneumoniae* a *E. coli*, convirtiendo a esta enterobacteria en una fábrica microbiana de amoníaco, lo que hace abrigar esperanzas de que se puedan transformar por el mismo procedimiento, bacterias incapaces de fijar nitrógeno que actualmente colonizan las raíces del trigo y otros cereales.

Más atractivo es el proyecto de introducir directamente genes *nif* en plantas de cultivo sin necesidad de intermediarios microbianos.

El problema más duro de superar es el de engañar a las células vegetales para que acepten los genes microbianos y produzcan la cantidad suficiente de las proteínas codificadas por estos genes *nif* para

fabricar la nitrogenasa.

En el volumen 303 (pág. 209-213) de la revista **Nature** en 1983 apareció un artículo de enorme trascendencia: "Expression of chimeric genes transferred into plant cells using a Ti-plasmid derived vector", de Herrera-Estrella, L.; Depicker, A.; von Montagu, M. and Schell, J., en el que se demuestra que un plásmido de la bacteria **Agrobacterium tumefaciens**, llamado plásmido Ti ("tumor inducing"), capaz de infectar a unas plantas con flores, produciendo agallas, puede ser un vector potencial para introducir genes bacterianos en plantas.

Localizado el vector adecuado se puede sacar partido de la propiedad que presentan algunas plantas de poderse regenerar a partir de una célula.

Todos estamos familiarizados con el fenómeno de la propagación vegetativa, el hecho, verdaderamente admirable, de que un fragmento de una planta adulta pueda crecer hasta reproducir una réplica o clon totalmente desarrollada de su progenitor. Esta capacidad la conservan sólo algunas especies vegetales y se ha perdido casi por completo en el reino animal.

En el hombre, la totipotencia celular se pierde en los primeros días del desarrollo embrionario. Los genes necesarios para producir uñas y bigotes están presentes en nuestros hepatocitos, pero parecen estar permanentemente bloqueados. No pasa lo mismo en ciertas plantas: las células del tallo del tabaco pueden producir una planta de tabaco completa porque todos sus genes son activos en potencia y, en condiciones apropiadas, pueden generar una planta completa de tabaco a partir de una sola célula, lo que permite expresar genes de interés transferidos por ingeniería genética.

Aunque aún no se han conseguido resultados plenamente satisfactorios, en la actualidad se está trabajando intensamente en la transferencia de genes bacterianos *nif* a plantas de trigo y en la fusión de la célula de trigo portadora con una planta capaz de regenerarse fácilmente a partir de una célula, mediante un método análogo al empleado para obtener hibridomas.

Miembros de nuestro Departamento se han formado en Alemania en la clonación y secuenciación de los genes *nif* de bacterias fotosintéticas fijadoras y en la actualidad estudiamos en colaboración con la Universidad de Bielefeld la genética de metaloproteínas de bacterias para evaluar la viabilidad de su inserción en el genoma de las plantas. En la Fig. 8 se representa un esquema de las posibilidades de transferencia de genes de plantas de interés agroalimentario y ecológico.

Las técnicas de ingeniería genética y de propagación *in vitro* se han puesto al servicio de lo que denominábamos dos importantes contribuciones de la Biotecnología a la nueva revolución verde.

Hacia 1840 el añublo de la patata produjo una ruina apocalíptica en Europa y particularmente en Irlanda, que perdió un tercio de su población por el hambre y la emigración.

Otro hongo se abatió sobre la cosecha de maíz en 1970 en los USA, produciendo pérdidas estimadas en mil millones de dólares.

Dos maneras tienen hoy los patólogos vegetales para obtener plantas resistentes a plagas, aparte de seleccionarlas por los métodos de mejora tradicionales.

Una es la creación de nuevas especies vegetales resistentes por fusión de protoplastos. En algunos casos, a partir de una célula única, se puede conseguir una planta adulta completa; así, por ejemplo, las plantas de "pomate" son híbridos producidos a partir de células de tomate y patata.

Otra es la construcción por ingeniería genética de plantas resistentes a plagas y posterior propagación vegetativa de estas plantas resistentes. En 1985, un grupo de científicos belgas insertaron en plantas de tabaco los genes de una bacteria que ataca al intestino de la esfinge del tabaco, insecto bastante común y dañino de estos cultivos. En la Fig. 9 se presenta un esquema de la construcción de una planta resistente a plagas, mediante técnicas de ingeniería genética.

La regeneración directa de plantas manipuladas genéticamente o de buenas cualidades, y no por fusión de protoplastos, tiene hoy una gran importancia económica. Los espárragos, las fresas, las piñas o la palmera de aceite (*Elaeis guineensis*) se suelen propagar hoy a partir de células extraídas de la planta correspondiente.

La misma técnica se usa en viveros para otras muchas especies: coles de Bruselas, coliflores, plátanos, claveles, helechos e incluso variedades del pino de California.

En Malasia se han plantado ya miles de palmeras clónicas que producen entre un 20-30% más de aceite. Téngase en cuenta que las ventas anuales de aceite de palma superan los 5.000 millones de dólares, incluido su uso en la fabricación de margarinas.

Recientemente se ha clonado una especie de eucalipto en Australia que puede crecer en suelos muy salinos, tierras marginales para la agricultura. Con estos árboles se espera colonizar unos 500.000 km² de

tierra salobres como una etapa previa para el saneamiento de las tierras y posterior uso en agricultura convencional o bien como terrenos productores de biomasa vegetal.

Uno de los temas de trabajo muy avanzado en el Instituto Andaluz de Biotecnología Vegetal es el del aislamiento y clonación de nuevas estirpes de tomate resistentes a la salinidad, que llevan a cabo el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Málaga, en colaboración con el Centro Experimental de la Mayora.

En la Fig. 10 se muestra la influencia de la fuente de carbono sobre la acumulación intracelular de las reservas de almidón en un alga verde, **Chlamydomonas reinhardtii**. El cambio de la fuente de carbono del CO_2 a esqueleto carbonado preformado, y de la fuente de N, de amoníaco a aminoácidos o purinas produce un incremento de las reservas de carbohidratos que puede utilizarse como estrategia para inducir una hiperproducción de azúcares en plantas de interés agroalimentario. En la actualidad estamos trabajando en la obtención de mutantes hiperacumuladores de carbohidratos por su posible potencial económico en la agricultura andaluza.

5. Microbiología industrial

Ya en 1521, Bernal Díaz del Castillo describía cómo los habitantes de México comían unos pastelillos con aroma a queso que preparaban con una especie de "légamo" extraído de los lagos. Se trataba, casi con certeza, de la **Spirulina maxima**, un alga que prolifera todavía en las aguas alcalinas del lago Texcoco. Al igual que los aztecas precolombinos, los actuales kanembu del Tchad se alimentan de un microorganismo semejante, la **Spirulina platensis**.

El interés del hombre por alimentos microbianos es, por tanto, muy antiguo, y la utilización de levaduras de cerveza y del género **Candida** ha supuesto un ingrediente importante en la dieta humana y animal durante muchos años. Una de las aplicaciones más serias de utilización de microorganismos en alimentación animal ha sido el cultivo de bacterias y algas para producir proteína unicelular ("Single Cell Protein").

La Imperial Chemical Industries del Reino Unido produce proteínas unicelulares cultivando la bacteria **Methylophilus methylotrophus** en metanol derivado del gas natural. La producción animal de Pruteen, nombre convencional del producto, supera las 50.000 Tm que se emplean en alimentación animal.

Las algas se cultivan con el mismo fin y pueden servir de alimento de excelentes cualidades si se consigue rebajar su contenido en ácidos nucleicos y un sabor repelente en ciertos casos. Una de las líneas actuales del Departamento de Bioquímica, Biología Molecular y Fisiología está dedicada a la obtención de mutantes de algas capaces de degradar rápidamente sus ácidos nucleicos y poder ser utilizados con mayores garantías en la alimentación animal humana.

Los microorganismos y plantas se usan con frecuencia para producir, además, colorantes raros, costosos y muy apreciados, o alimentos y combustibles corrientes a precios más bajos que los ordinarios en el mercado. Así, en el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Química Orgánica de la Universidad de Málaga se produce hoy, por técnicas de propagación *in vitro* de suspensiones celulares de *Lithospermum erythrorhizum*, la shikonina, colorante orgánico muy usado en cosmética, y a partir de cultivos de células de una verbenácea, la *Lippia dulcis* Trev, la hernandulcina, sustancia edulcorante mil veces más potente que la sacarosa.

Dentro de este capítulo cabe destacar el diseño de reactores con enzimas y células inmovilizadas para producir sustancias de elevado interés comercial. La inmovilización es una técnica que consiste en fijar un material biológico sobre un soporte inorgánico, bien por simple absorción, por unión química aprovechando, principalmente, los grupos -OH superficiales del soporte, o bien depositando sobre éste una pequeña capa de carbón sobre la que se deposita el compuesto biológico (Fig. 11).

En la Fig. 12 se muestra una fotografía de microscopía electrónica de barrido obtenida en el Departamento de Química Orgánica de la Universidad de Córdoba, de una sepiolita, utilizada como soporte de inmovilización, en la que se aprecia su estructura fibrosa.

Las enzimas soportadas poseen, en general, más actividad y mucho más tiempo de vida que las enzimas en estado libre (en disolución). Así, por ejemplo, se ha trabajado con endonucleasas de *Streptomyces aureus* inmovilizadas, lo que permite la hidrólisis de ácidos nucleicos en concentrados de proteínas unicelulares. Estas endonucleasas presentan un gran interés, ya que hacen disminuir el contenido de ácidos nucleicos, y por ello el de bases púricas susceptibles de transformarse en ácido úrico, con lo que podrían encontrar aplicación en alimentación humana.

Conviene recalcar el hecho de que las enzimas inmovilizadas pueden, a veces, llegar a ser 10.000 veces más estables que la enzima

en disolución, frente a agentes tales como calor, disolventes orgánicos, etc.

Los materiales biológicos inmovilizados, aparte de desempeñar un papel fundamental en la Biotecnología, comienzan a ser imprescindibles en ciertas áreas de la denominada "Química Fina", Química que precisa de gran pureza y supone un alto valor añadido, prioritaria en los Planes de Investigación de la C.E.E.

Entre los edulcorantes que se producen hoy por la técnica de enzimas y células inmovilizadas de mayor importancia económica en los USA caben mencionarse la fructosa, el aspartamo, dipéptido de ácido aspártico y fenilalanina, y la taumatina, proteína de 207 residuos de aminoácidos unas 2.000 veces más dulce que el azúcar de caña o remolacha. La taumatina se encuentra en un arbusto del Africa occidental. Recientemente se ha clonado su gen y se espera poder producirla mediante microbios modificados por ingeniería genética.

La producción de aminoácidos por microbiología industrial ocupa por sí solo un capítulo muy amplio de la Biotecnología y existe sobre el particular una extensa bibliografía.

6. Bioecología

No quisiera terminar la exposición de las expectativas que nos ofrece la Biotecnología sin tocar, aunque sea de pasada, lo que puede aportar a la conservación del medio ambiente.

Como punto de referencia tomo un problema de actualidad visual y olfativa que nos hiere cada año por esta época. Me refiero al problema de los alpechines.

Por estas fechas, año tras año, se destruye el paisaje andaluz por los vertidos de alpechín, haciendo caso omiso los industriales en repetidas ocasiones de las normas medioambientales de las agencias oficiales correspondientes. Medidas se han adoptado, pero con eficacia más que dudosa. Existen soluciones y estudios, de los que voy a mencionar dos por lo que nos afecta de cercanía y por su carácter biotecnológico. Uno es el método químico-biológico del Profesor Bellido Sempere, de la Facultad de Ciencias, actualmente en operación a escala semipiloto y muy recientemente a escala industrial. El sistema consiste en una oxidación drástica e instantánea del alpechín conectada con la utilización biológica de los vertidos a la salida del sistema con objeto de rebajar de sales el líquido antes de verterlo en ríos o poderlo utilizar en riegos.

En la Fig. 13 se presenta en esquema el sistema de depuración empleado. La instalación correspondiente al esquema tiene una capacidad de depuración de 500-1.000 l/h. y se encuentra funcionando en la Estación Oleícola de Mengíbar (Jaén). Recientemente se va a instalar una planta de capacidad para 100.000 l/día, correspondiente a la molturación de ~ 100 Tm. de aceituna/día.

En la Tabla 3 se recogen las numerosas especies de microorganismos que hemos aislado que pueden utilizar el vertido de la planta, muchas de ellas de enorme potencial como fuentes de biomasa y proteína unicelular.

El otro sistema corresponde a un reactor continuo de microorganismos inmovilizados sobre carragenatos, en concreto bacterias metanogénicas, que permiten la producción de 70 l. de CH_4 por litro de alpechín tratado, un rendimiento tres veces superior al de procesos anteriores de tratamiento de esta sustancia. El sistema funciona en fase piloto en el Departamento de Ingeniería Química y Química Orgánica de la Universidad de Córdoba, y presenta excelentes perspectivas de poder ser utilizado a escala macro.

Entre los microbios existe un género, el género **Pseudomonas**, que destaca por su capacidad de aprovechar compuestos extraños o xenobióticos, en particular hidrocarburos. Cada cepa sólo puede aprovechar uno o pocos de los muy diversos tipos existentes de hidrocarburos. Los genes que codifican las enzimas que degradan a los hidrocarburos no se encuentran por lo general en el cromosoma bacteriano, sino en los plásmidos de las bacterias.

Así se han obtenido por ingeniería genética "supermicrobios" capaces de degradar hidrocarburos o de atacar a herbicidas muy persistentes como el 2,4,5-T, principal ingrediente del Agent Orange, defoliante profusamente usado con fines bélicos para devastar grandes áreas de la jungla vietnamita.

En la Fig. 14 se esquematiza la acción de los productos de algunos de estos genes y en la Fig. 15 la construcción, por ingeniería genética, de algunos de estos supermicroorganismos.

En nuestro Departamento se acaba de iniciar una línea de obtención por ingeniería genética de bacterias fotosintéticas descontaminadoras que aprovechan, además, como fuente de energía, la luz solar de la que disfrutamos más que abundantemente por estas latitudes.

Existe, además, la posibilidad de que la acción humana refuerce el trabajo de los microorganismos en una acción conjunta de tecnología humana y catabolismo microbiano.

Hace unos años tuvo lugar en Pensilvania una filtración de unos 27.000 litros de petróleo que amenazaba con contaminar las reservas subterráneas de agua potable. Las bacterias del suelo podían destruir el petróleo, pero sin la intervención humana la degradación hubiera resultado sumamente lenta, ya que, a corto plazo, la población microbiana se hubiera visto limitada en oxígeno, nitrógeno y fósforo, nutrientes esenciales para su crecimiento. El problema se solucionó infiltrando estas sustancias en el subsuelo, con lo que el petróleo se degradó tan sólo en un año.

Por lo que concierne a nuestra Comunidad Autónoma y por lo que representa en curiosidad y potencial, quiero terminar esta exposición refiriéndome a los microbios como organismos biomineros.

Se usan hoy microbios para extraer metales de valor industrial, como el cobre y el uranio, contenido en las rocas, y es casi seguro que la fuerza de trabajo de los microorganismos se aprovechará muy pronto en otras muchas operaciones mineras, ya que las minas metálicas cada vez están más exhaustas y no resultan rentables los laboreos tradicionales.

El secreto consiste en utilizar bacterias quimiolitotróficas, bacterias que comen minerales y oxidándolos obtienen la energía necesaria para el mantenimiento de sus reacciones vitales. Un típico representante de esta clase de bacterias es el *Thiobacillus ferroxidans*, uno de los seres vivientes más viejos de la tierra, aunque no se descubrió hasta 1947 en una mina abandonada de carbón de Virginia. El *Thiobacillus* se alimenta de compuestos inorgánicos en un ambiente rico en CO_2 y N_2 . Transforma el sulfuro de hierro, por ejemplo, en ácido sulfúrico y sulfato de hierro, los cuales atacan las rocas circundantes y disuelven (lixivian) así muchos minerales metálicos. Así pueden convertir el SCu , insoluble en SO_4Cu soluble que se lava con agua de las rocas y se concentra en estanques de color azul brillante. Si en esos estanques se introduce chatarra, el cobre metálico se deposita en el hierro del que se obtiene finalmente por raspado. El uranio se lixivía de la misma forma.

Actualmente el 14% de la producción de cobre de los USA se obtiene por este método y en Río Tinto cada vez se hace un mejor uso de los microbios para beneficiar el cobre de las escorias. En la Tabla 4 se recogen algunos minerales lixiviados por acción microbiana.

Soy consciente que no he usado toda la tinta china a que me refería al principio de esta lección cuando les citaba el relato del simio de Wang Ta-hai.

Cuando Ortega, ante la estatua del Doncel de Sigüenza, escribía que:
"Por un destino muy significativo, en España casi todo lo grande es

anónimo", a lo mejor estaba pensando en las omisiones que solemos cometer los conferenciantes.

En cualquier caso, creo que les he dado unas pistas de lo que es y representa en nuestro mundo y en nuestra Universidad la Biotecnología.

Todo cuanto he expuesto tiene también la intención de recordar que el esfuerzo iniciado cuajará, según espero, en realidades y éxitos y que si no construimos apeaderos veremos pasar a nuestra vera el tren de la modernidad biotecnológica sin detenerse. Quizás se nos grabe mejor con los ripios perogrullescos de Campoamor:

*"Cultivando lechugas Diocleciano
ya decía en Salerno
que no halla mariposas en verano
quien no cuida gusanos en invierno."*

7. Bioproblemas y biorriesgos

Todo lo anteriormente expuesto no está exento de un cierto riesgo. La ingeniería genética que está en la base de la mayor parte de las biotecnologías ha hecho ingresar a la humanidad en una era de transcendencia comparable solamente a la de la energía atómica. Y así como ésta entraña sus riesgos, de todos conocidos, lo mismo es de esperar que ocurra a las distintas biotecnologías.

Cuando se ha escrito que "toda cultura tiene su raíz en la barbarie, y toda renovación de la cultura se engendra en ese fondo de barbarie" (Ortega), se estaba pensando, probablemente, más en términos de boutade filosófica que en términos de agorero siniestro de las nuevas tecnologías. Pero la intuición de agudo pensador le jugó a su autor una mala pasada. Y la Biotecnología, como gran parte de la ciencia, ha perdido hoy su inocencia multiseccular.

"De inocente, la Biología ha pasado a ser considerada responsable de buena parte de los caminos que recorre nuestra civilización" (L. Archer).

Enumeremos algunos de los problemas que acompañan a las nuevas biotecnologías, en un afán de señalar que no pretende ser exhaustivo:

1. Los grandes logros en la industria farmacéutica y las enormes inversiones necesarias para el desarrollo de las biotecnologías hacen que el control y dirección de estos procesos dependan en grado creciente de los intereses económicos de las grandes multinacionales, con olvido metodológico de prioridades humanitarias y éticas.

2. La revolución bioindustrial exige el desarrollo de ciencias muy costosas y que van a florecer, lógicamente, en países de gran nivel tecnológico. Esto acentuará el desequilibrio entre países, incrementará el colonialismo tecnológico y se producirán rápidas y profundas alteraciones en la distribución económica, en la producción de muchos bienes, en su transformación, transporte, intercambio y coste, así como en el número de puestos de trabajo.

3. Ante algunos de los progresos recientes e inminentes en los países altamente desarrollados (aumento de la longevidad; mejora de las condiciones de salud en la tercera edad; aumento de la productividad agrícola y pecuaria por el uso de la ingeniería genética y biológica; precocidad creciente en los jóvenes; reducción de la tasa de natalidad por perfeccionamiento de los métodos de planificación familiar; elección del sexo de los hijos, lo que puede, en ciertas condiciones, desequilibrar la distribución de sexos entre los adultos, etc.) son de prever desplazamientos significativos en los equilibrios demográficos y sociales. El siglo XXI, que nacerá bajo un nuevo signo zodiacal, el del plásmido, habrá de encararse con una remodelación seria de la vida social, con profundas modificaciones psicológicas, culturales, institucionales y políticas.

4. Las mutagénesis causadas por factores ambientales no están desligadas de las nuevas tecnologías. El mercado de medicamentos ascendió a 35.000 millones de dólares sólo en USA en 1983. En 1980 se produjeron 110.000 Tm. de medicamentos y se calcula que, cada año, surgen unos 30.000 productos químicos nuevos, de los que más de 500 se lanzan al mercado, desde nuevos insecticidas y herbicidas hasta productos farmacéuticos, cosméticos y aditivos de alimentos. Algunos de estos productos son tóxicos. Otros son potencialmente teratogénicos, como la tristemente célebre talidomida. La toxicidad y la teratogenicidad en humanos son, por lo general, rápidamente detectables. Lo peor son las mutaciones que estos productos pueden causar en el DNA bacteriano y animal y cuyas consecuencias sólo serán detectables cuando las pequeñas alteraciones que van produciendo se hayan acumulado al cabo de algunas generaciones. El peligro estriba en que los productos de nuestra civilización empiecen a acumular mutaciones en el hombre, no visibles ahora, pero que acaben en una catástrofe en la salud pública dentro de unas generaciones, o en la desaparición de especies animales, vegetales y bacterianas útiles por destrucción y suplantación. Esto explica las preocupaciones crecientes de sectores sociales más concienciados, la creación de Agencias gubernamentales para la evaluación de los riesgos de mutación ambiental y la prohibición oficial por primera vez en Europa en 1976 de ciertos productos exclusivamente por su acción mutagénica.

5. Las preocupaciones por los riesgos biotecnológicos alcanzó su punto álgido en 1974 con la famosa Berg Letter, llamamiento de varios especialistas de Ingeniería genética a suspender los experimentos de laboratorio hasta la elaboración de unas normas que impidieran el escape de los laboratorios de especies animales modificadas por ingeniería genética que pudieran alterar el equilibrio ecológico o ser usados con fines de guerra biológica. La carta propició una reunión científica en Asilomar y se emitieron regulaciones precisas y estrictas sobre este tipo de trabajo, que gradualmente han sido relajadas, conforme se han ido evaluando de forma más precisa los riesgos verdaderos de este tipo de trabajos. No obstante lo cual, sigue abierta la polémica, incluso a nivel judicial, con los casos recientes del pleito contra la liberación de especies microbianas con el gen anticongelante y la atención prestada por los medios de comunicación a la posibilidad de que el virus del SIDA sea un virus manipulado que haya escapado de un laboratorio de investigación.

6. Finalmente, no podemos olvidar los peligros de manipulación genética del genoma humano. La cartografía y desciframiento del papel de cada uno de los 100.000 genes humanos permitirán diagnosticar más de las 3.500 enfermedades genéticas descritas hasta hoy, en un proyecto cuyo coste se ha evaluado en 37.000 millones de pesetas y en el que trabajarían unos 60.000 científicos/año. Este proyecto tiene un indudable interés, pero entraña los peligros de una manipulación, con los consiguientes problemas éticos que ello plantea. En la misma línea se pueden situar los experimentos con embriones destinados a corregir enfermedades nerviosas de adultos, como el Parkinson o la enfermedad de Alzheimer, la cirugía en embriones con fines terapéuticos, las nuevas tecnologías de reproducción asistida, etc.

No es mi intención proponer ningún tipo de solución, ni es este el momento de intentarlo.

Creo, sin embargo, que la Biología Molecular nos suministra tres claves para buscar soluciones a estos y otros problemas que se nos vayan presentando:

1. La Biología Molecular nos demuestra que existe una profunda unidad molecular entre la bacteria y el hombre. Este dato nos hunde en un lodo originario que no debe hacer olvidar las tentaciones de despotismo y recordar una responsabilidad casi fraterna con toda la naturaleza.

2. La Biología nos ha demostrado que existen importantes interdependencias entre especies que habitan la misma zona del planeta, así como entre ellas y el ambiente. El hombre puede intervenir en la

Naturaleza, pero respetando sus leyes y equilibrios. Puede crear nuevos equilibrios ecológicos, pero no puede ignorarlos. Debe ser innovador pero con respeto por las reglas del juego.

3. La Biología Molecular nos revela suficientemente la importancia enorme de la diversidad genética entre los individuos de la misma especie. La diversidad genética es un regalo y la supervivencia de la especie humana se fundamenta en ella. La diversidad genética debe ser cuidadosamente conservada en la especie humana. La "raza perfecta" tentación permanente de la humanidad, encubre un profundo error biológico. "Perfecta para la especie es la riqueza de la diversidad y la polivalencia del conjunto" (Archer). Conclusión, rigurosamente biológica, que posiblemente podría extenderse a otros aspectos del desarrollo humano, como la cultura, educación, profesión, etc. Siento haber ensombrecido un tanto el panorama, pero no olvidemos que: "La verdad es la verdad, dígala Agamenón o su porquero" (A. Machado, Juan de Mairena).

Espero que, al menos en parte, se haya hecho realidad el deseo de Berganza, uno de los perros sabios de la novela cervantina: "Todo lo que dices, Cipión, entiendo, y el decirlo tú, y entenderlo yo, me causa nueva admiración y maravilla" (Cervantes, *El Coloquio de los perros*).

Y termino con unos versos del Poema Noveno de Confucio:

*"Mejor pararse antes que llenar el vaso hasta el borde.
Hoja demasiado afilada, se mellará pronto.
Tesoro enorme de oro y jade no puede ser protegido.
Reclama riqueza y honores y sobrevendrá el desastre.
Retírate cuando hayas hecho tu trabajo: éste es el camino del cielo."*

Agradecimientos

El autor quiere reconocer la inestimable ayuda de F. Castillo J. Caballero y C. Santos en la elaboración de este trabajo.

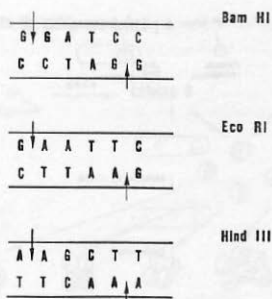


Fig. 1. Enzimas de restricción usadas para romper la doble hélice de DNA. **BamHI**, procede de la bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* I, **EcoRI** de *Escherichia coli* RY13 e **Hind III** de *Haemophylus influenzae* Rd.

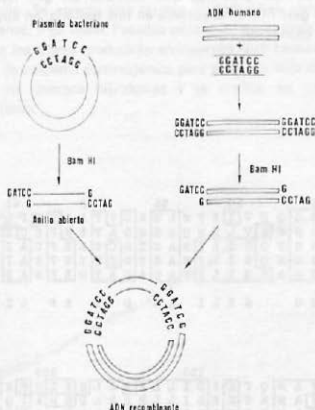


Fig. 2. Formación de moléculas de DNA recombinante. A la izquierda se representa un plásmido bacteriano con una secuencia de seis bases reconocida y cortada por la endonucleasa de restricción **Bam HI**. Por acción de la restrictasa se abre el anillo del plásmido, quedando en cada extremo de la molécula una secuencia de cuatro bases sin emparejar. A la derecha se representa un fragmento de DNA humano al que se le añaden enzimáticamente seis pares de bases en cada extremo, tratándose a continuación con la misma restrictasa **Bam HI**. Ello permite que por acción de una ligasa se emparejen el fragmento de DNA humano y el plásmido pretratados, con lo que se obtiene una molécula de DNA recombinante.

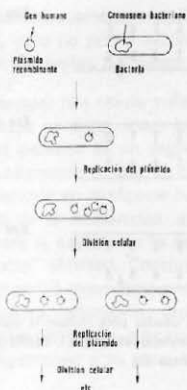


Fig. 3. Clonación de un plásmido que contiene un gen humano. Un plásmido recombinante, con un gen humano, penetra en una bacteria, en cuyo interior se replica, produciéndose así la clonación.

FRAGMENTO A:

		45	50	55	60	65	
FLAVB2	...	H P G G	Q D V I	K F N A	G K D V T	A I F E P L	- H A P ...
CEH5	...	H P G G	E E V L	R E Q A	G G D A T E	M F E D I	G H S T ...
TOENR	...	H P G G	T D S I	L I N A	G T D C T E	E F D A I	- H S D ...
ATNR	...	H P G G	S D S I	L I N A	G T D C T E	E F E A I	- H S D ...
CHLR	...	H P G G	A E S I	L I T A	G A D A T D	E F N A I	- H ...

CONSENSUS P G G S I L I A G D T E F A I H

FRAGMENTO B:

		180	190	200	210
RDHUB5	...	H L L F A N	Q T E K	D I L L R P E L E E L R	N K H S A R F K L W Y...
ATNR	...	Y V Y Y A N	R T E E	D I L L R E E L D G W A I Q Y F D R	L K V W Y...
CHLR	...	A L L F A N	T H E D	D I L L R E E L D E L A N N H P E R F R	L W ...

CONSENSUS A N E D I L L R E E L D A P R W

Fig. 4. Comparación de la secuencia de aminoácidos de la enzima nitrato reductasa del alga verde unicelular *Chlamydomonas reinhardtii* (NRCHL) en el dominio hemo (A) y en el dominio FAD/NADH (B) con los dominios correspondientes del citocromo b_5 de microsomas de caballo (B5HO), flavocitocromo b_2 de levadura (FLAVB2), nitrato reductasa de hojas de tabaco (NRTOB), de *Arabidopsis* (NRAT), y citocromo b_5 reductasa humana (RDHUB5). CONSENSUS indica la secuencia de consenso entre las distintas nitrato reductasas.

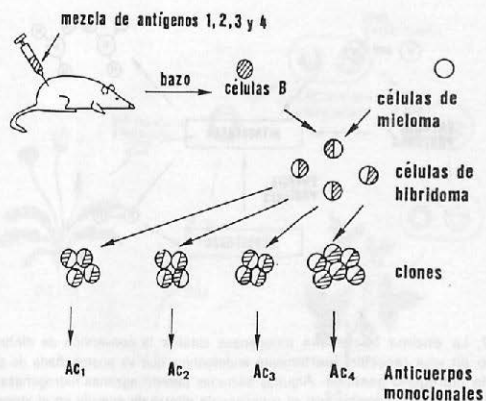


Fig. 5. Esquema de obtención de anticuerpos monoclonales que reconocen y capturan moléculas de interferón. Se inyecta una mezcla de pequeñas cantidades de interferón junto con otros antígenos, a un ratón. Pasados unos días, se extrae el bazo al ratón, y sus células B, algunas de las cuales producirán anticuerpos que reconocen al interferón, se fusionan con células de mieloma carcinogénico para producir hibridomas. Se separan los distintos clones de los diversos hibridomas y se evalúa su capacidad de producir anticuerpos antiinterferón.

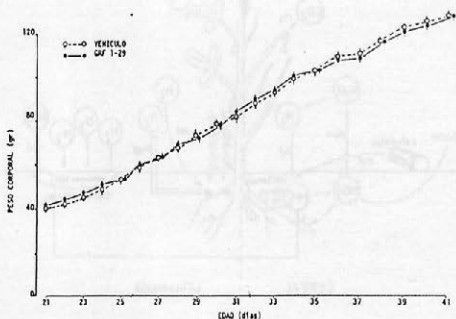


Fig. 6. Evolución del peso corporal de ratas hembras tratadas con GRF 29. Los animales fueron inyectados diariamente con 600 μg de GRF (1-29) NH_2 o vehículo (solución salina). La cantidad total de GRF fue distribuida en 4 dosis de 150 μg (a las 02.00; 08.00; 14.00; 20.00 horas). El tratamiento se realizó entre los días 21 al 41. Cada día se comprobó el peso corporal.

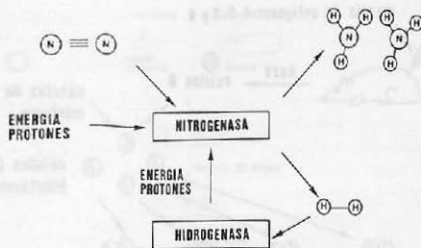


Fig. 7. La enzima bacteriana nitrogenasa cataliza la conversión de dinitrógeno en amoníaco en una reacción fuertemente endérgica que va acompañada de desprendimiento de hidrógeno gaseoso. Algunas bacterias poseen enzimas hidrogenasas capaces de reutilizar este hidrógeno con el consiguiente ahorro de energía en el proceso global.

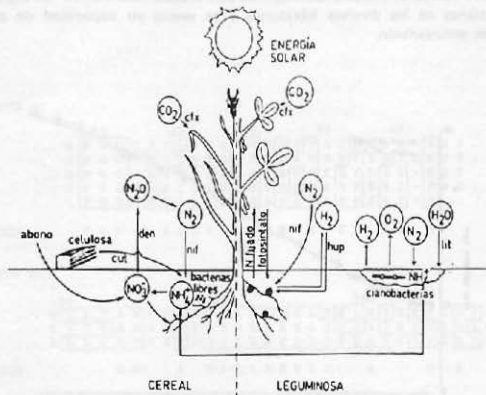


Fig. 8. Posibilidades de la ingeniería genética en la utilización mejorada de carbono y nitrógeno en varios tipos de organismos. Las diversas abreviaturas sobre la figura (cfx , cut , den , nif , hup , lit) corresponden a otros tantos genes que pueden introducirse en plantas por ingeniería genética.

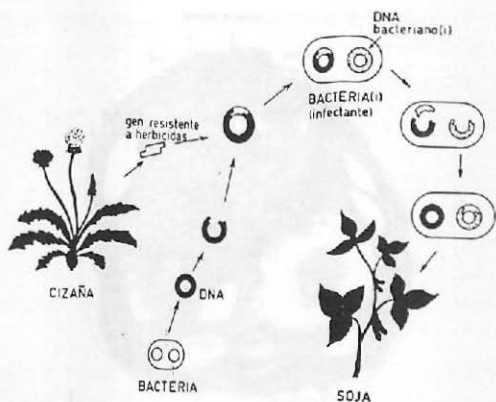


Fig. 9. Fabricación por ingeniería genética de una planta de soja resistente a herbicidas.

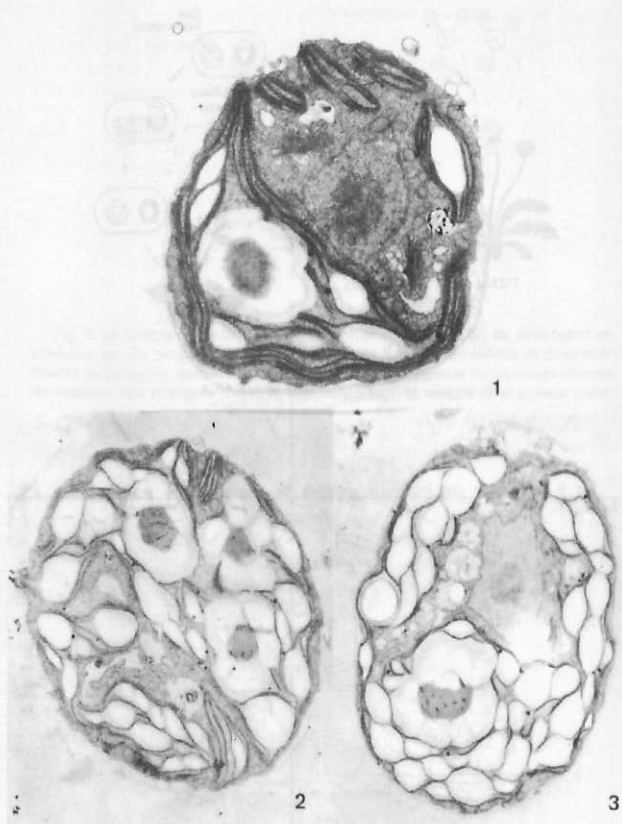


Fig. 10. Microfotografías del alga verde unicelular *Chlamydomonas reinhardtii* cultivada con amonio (1) o urato (2) como única fuente de nitrógeno o sometida a carencia de nitrógeno (3). Los gránulos blancos corresponden a acúmulos de almidón (x 20.000; cortesía de la Dra. I. Burón).

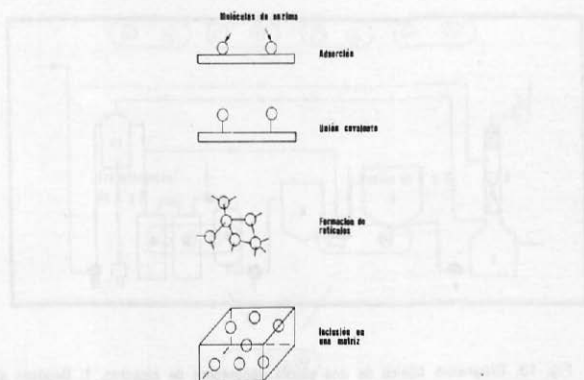


Fig. 11. Diversos métodos utilizados para inmovilizar biocatalizadores.



Fig. 12. Sepiolita procedente de los yacimientos de Vallecas (Madrid), calcinada a 600°C. Microfotografía obtenida con el microscopio electrónico de transmisión (TEM) por parte del Dr. José M.^o Marinas.

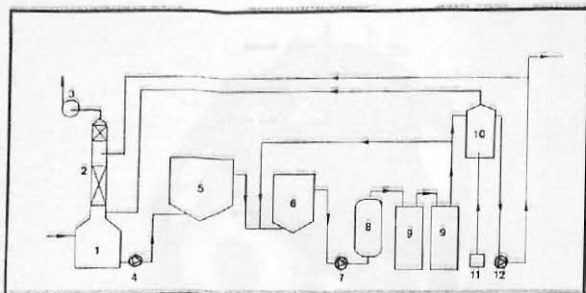


Fig. 13. Diagrama básico de una planta depuradora de alpechín. 1: Depósito de alpechín; 2: Torre de recuperación; 3: Aspirador; 4: Bomba de proceso; 5: Reactor; 6: Decantador; 7: Bomba de los filtros; 8: Filtro; 9: Filtros de carbón activado; 10: Desgasificador-aireador; 11: Soplante; 12: Bomba de vertido-recirculación (Cortesía del Prof. Bellido Sempere).

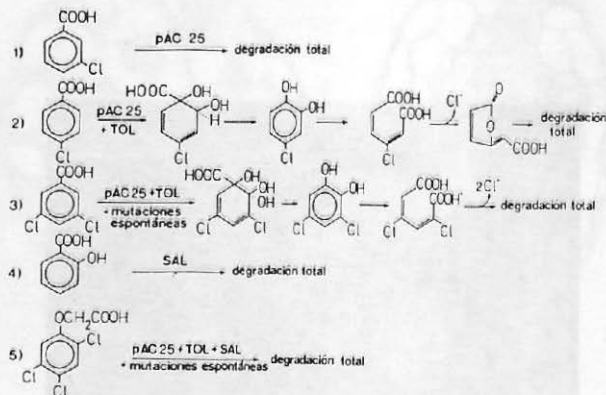


Fig. 14. Degradación de compuestos clorados altamente tóxicos por enzimas codificadas por plásmidos bacterianos. TOL: gen que codifica enzimas degradadoras de tolueno y xileno; pAC25: de 4-clorocatecol; SAL: de diversos salicilatos. El 4-clorobenzoato y el 3,5-diclorobenzoato no se degradan por las enzimas codificadas por el plásmido pAC25, que codifica la enzima responsable de la degradación del 3-clorobenzoato, pero sí lo hacen si las enzimas codificadas por el plásmido TOL están presentes. La combinación de los plásmidos pAC25, TOL y SAL permite la degradación completa del ac. 2,4,5-tricloro-3-nitroxiacético, potente herbicida de amplio uso altamente contaminante.

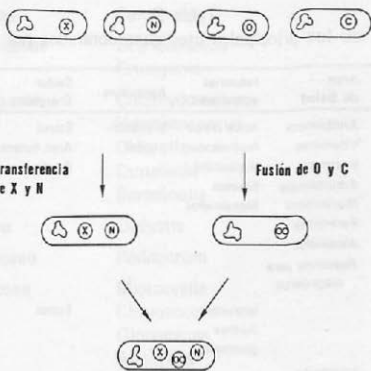


Fig. 15. El petróleo contiene diversos tipos de hidrocarburos, siendo los principales los xilenos, naftenos, octanos y canfanos. Ciertas estirpes bacterianas degradan algunos de estos compuestos, pero no se conoce ninguna cepa natural que los degrade todos. Los genes que permiten a estas bacterias degradar a los hidrocarburos se encuentran en cuatro tipos de plásmidos (xyl, nah, oct y cam), en la figura representados por X, N, D y C. Introduciendo los cuatro tipos de genes en una sola bacteria se puede construir un "supermicrobio" capaz de digerir los principales componentes del petróleo.

Tabla 1. Sumario del tema

1. Naturaleza y variedad de los procesos biotecnológicos.
2. Ingeniería genética.
3. Hibridomas y enfermedad.
4. La nueva revolución verde.
5. Microbiología industrial.
6. Biotecnología y ecología.
7. Bioproblemas y biorriesgos.

Tabla 2.
Distribución de los principales productos obtenidos por bioindustria

Tecnología	Area de Salud	Industrias agroaliment.	Agricultura	Sector Energético	Industria química
Fermentaciones	Antibióticos	Acido cítrico	Bioinsecticidas	Etanol	Química del etanol
	Vitaminas	Aminoácidos		Acet-butanol	Etileno
	Enzimas	Nucleótidos		Biogas	Acetaldehído
	Aminoácidos	Enzimas			Acetona
	Nucleótidos	Biopolímeros			Butanol
	Esteroides				Butadieno
	Alcaloides				
	Reactivos para diagnóstico				
Ingeniería enzimática		Isoglucosa		Etanol	
		Jarabes glucosados			
Recombinación genética o ingeniería genet.	Interferón				
	Hormonas				
	Vacunas				
Cultivos celulares	Interferón	Proteínas unicelulares	Clones		
	Vacunas				
	Factores sanguíneos				
	Anticuerpos monoclonales				

Tabla 3.
Microorganismos que sobreviven y/o proliferan en el alpechín depurado

Fitoplancton		
Familia	Género	Bacterias
Desmidiaceae	Clostridium	Pseudomonas sp.
	Cosmarium	Rhodobacter sp.
	Staurastrum	
Nostocaceae	Anabaena	
	Anabaenopsis	
	Nostoc	
Oscillatoriaceae	Lymbia	
	Oscillatoria	
	Thrombolium	

Rivulariaceae	Calothrix
Scenedesmaceae	Scenedesmus Crucigenia
Chlorococcaceae	Chlamydomonas Haematococcus Chlorella Dunaliella Borodinella
Oocystaceae	Oocystis
Hydrodictiaceae	Pediastrum
Chroococaceae	Microcystis Chroococcus Gloeocapsa Anacystis Merispomedia Coelohaerium
Coelastraceae	Coelastrum
Coccinodiscaceae	Melosira Coccinodiscus Cyclotella
Rhizosoleniaceae	Rhizosolenia
Naviculaceae	Navicula
Nitzschiaceae	Nitzschia
Acanthaceae	Cocconeis
Cymbellaceae	Rophalodia Epithemia
Fragilariaceae	Synedra
Cylindrocapsaceae	Aphanochaete
Palmellaceae	Gloeocystis

Tabla 4.
Algunos minerales lixiviados por acción microbiana

Composición	Nombre
AsFeS	Arsenopirita
As ₂ S ₃	Oropimente
Bi ₂ S ₃	Bismulita
Cu ₃ (As,Sb)S ₄	Enargita
CuFeS ₂	Calcopirita
Cu ₅ FeS ₄	Bornita
CuS	Covelita
Cu ₂ S	Calcocita
Cu ₈ Sb ₂ S ₇	Tetrahedrita
CuSeO ₃ ·2H ₂ O	Calcomenita
FeS	Marcasita
FeS ₂	Pirita
MoS ₂	Molibdenita
(Ni,Fe) ₉ S ₈	Pentlandita
NiS	Millerita
PbS	Galena
Sb ₂ S ₃	Stibnita
UO ₂	Uraninita
V ₄ V ₂ O ₁₃ ·8H ₂ O?	Vanoxita
ZnS	Esfalerita