

ANEXO I

MATERIAL PARA LOS ALUMNOS DE PRIMARIA.

A. PRESENTACIÓN DE KEYNOTE

B. PROTOCOLOS PARA LA SESIÓN DE LABORATORIO.



DESARROLLO DE VACUNAS VEGETALES



ADRIÁN GARCÍA GARCÍA

BIOQUÍMICA Y CIENCIAS BIOMÉDICAS



DESARROLLO DE VACUNAS VEGETALES COMESTIBLES



ADRIÁN GARCÍA GARCÍA

BIOQUÍMICA Y CIENCIAS BIOMÉDICAS

KAHOO!

<https://create.kahoot.it/ideel/8374044ace371659e66078c27>

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN



VACUNAS



VACUNAS DE ORIGEN
VEGETAL



EJEMPLOS





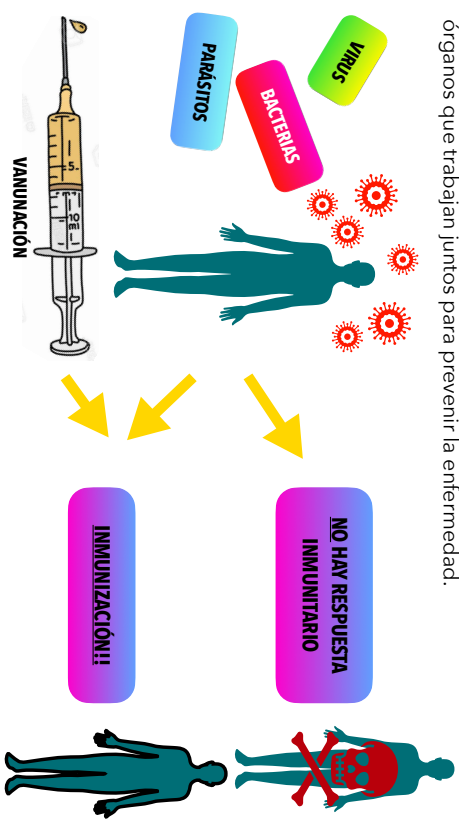
INTRODUCCIÓN

LA INFECCIÓN Y EL SISTEMA INMUNITARIO



¿QUÉ ES EL SISTEMA INMUNITARIO?

Una estructura dinámica de nuestro organismo que nos protege de diversos agentes patógenos. Formado por un complejo conjunto de células, tejidos y órganos que trabajan juntos para prevenir la enfermedad.

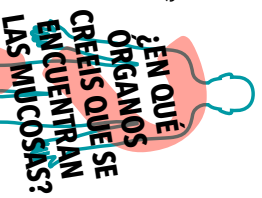
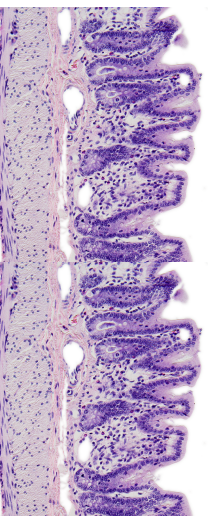


LINEAS DE DEFENSA DEL SISTEMA INMUNITARIO

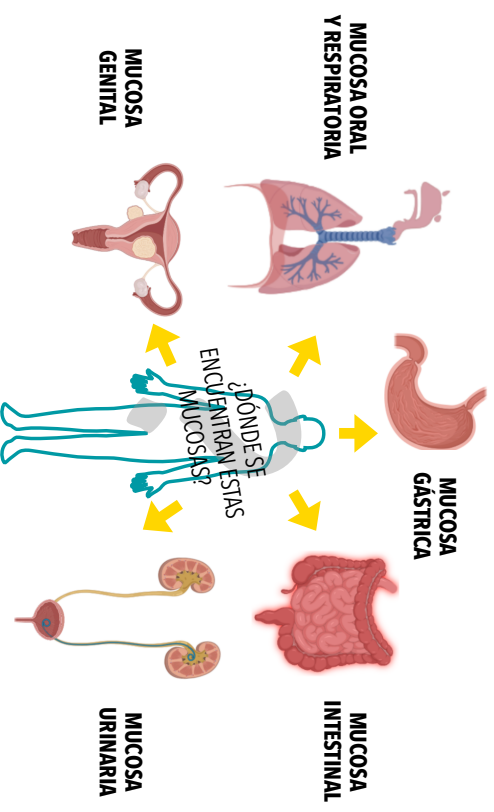
Tiene múltiples líneas de defensa, entre las que se encuentra la barrera mucosal. Cubriendo una inmensa superficie, aproximadamente de 400 m².

¿QUÉ ES LA MUCOSA?

La mucosa es una capa formada por **epitelio** y **tejido conjuntivo**, que revisita las **paredes** internas de los **órganos** que están en **contacto** con el **exterior** del cuerpo. Presentan **funciones** de **secreción**, **absorción**, e **inmunológicas** muy desarrolladas y especializadas.

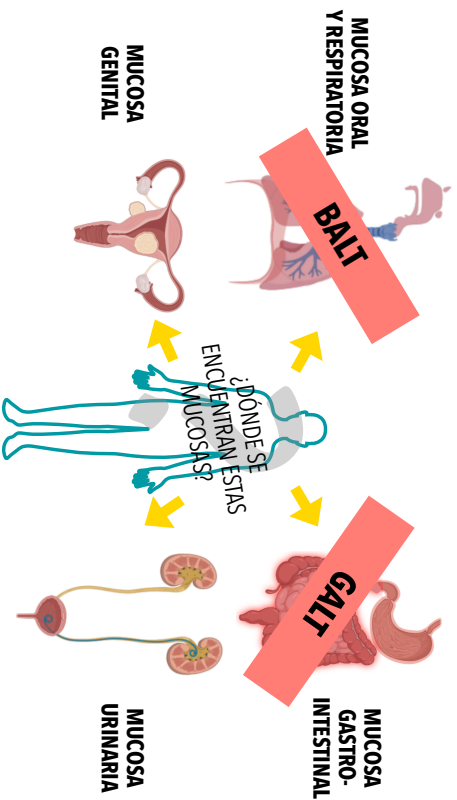


Se estima que el **70% de los agentes infecciosos** entran en el huésped por las vías mucosales, por lo que en ellas se produce una intensa actividad inmunológica.



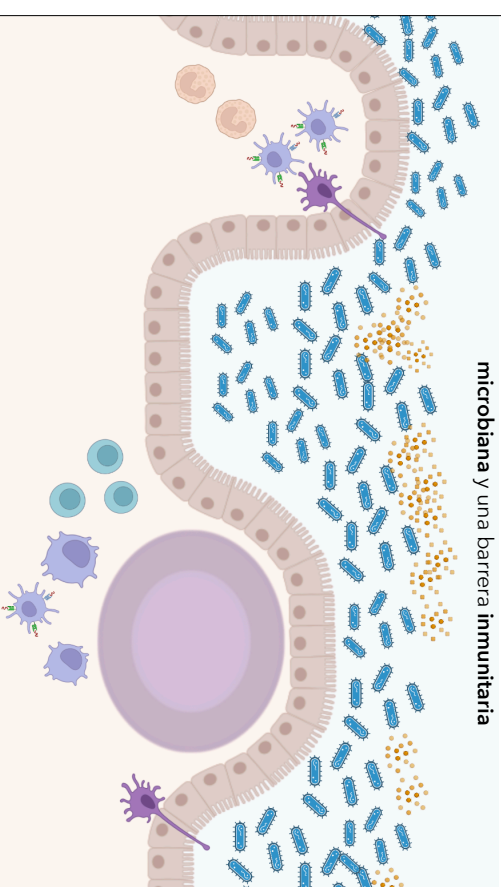
TEJIDO LINFOIDE ASOCIADO A LAS MUCOSAS (MALT)

El inicio de las **respuestas inmunitarias específicas** al antígeno se produce en el MALT. Se caracteriza por la presencia de numerosos **folículos linfoides**.



GALT

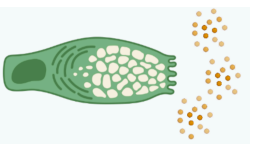
La barrera de la mucosa intestinal se compone principalmente de una barrera **mecánica**, una barrera **química**, una barrera **microbiana** y una barrera **inmunitaria**



BARRERA QUÍMICA

COMPONENTES:

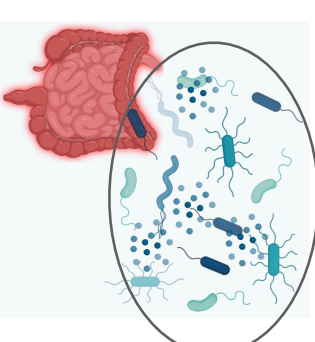
- ✓ Proteínas secretada por las células epiteliales y las células caliciformes
- ✓ Ácido gástrico, bilis, varias enzimas digestivas, y mucopolisacárido secretado por el tracto digestivo

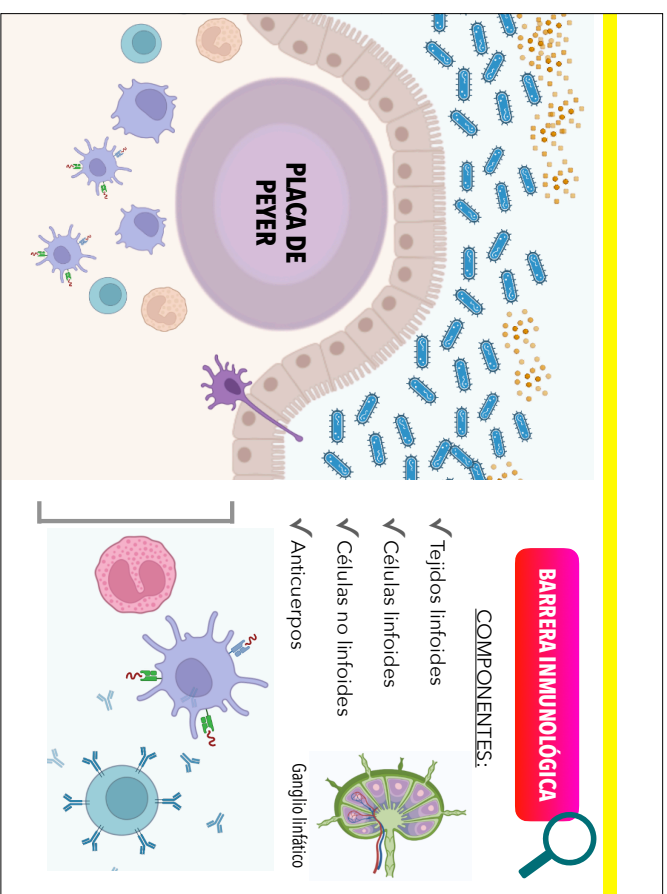
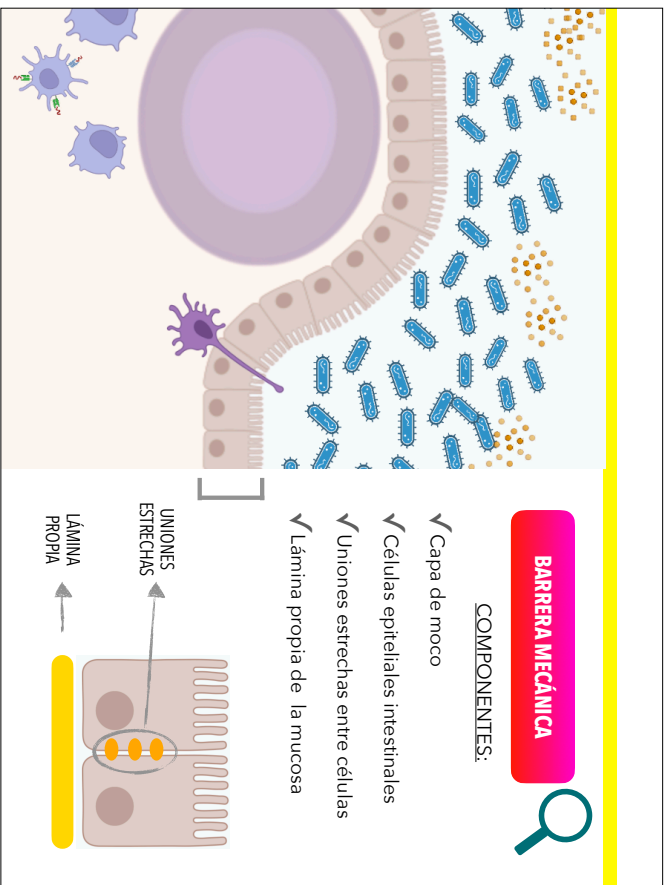


BARRERA MICROBIANA

COMPONENTES:

- ✓ Incluye unas 500 especies de bacterias diferentes
- ✓ Con capacidad de secretar diferentes moléculas anti-microbianas





VACUNAS

QUÉ SON, DE QUÉ TIPOS HAY, CÒMO SE APLICAN...

¿QUÉ SON?

Las vacunas son composiciones biológicas destinadas a estimular y preparar el sistema inmunitario contra la infección o la enfermedad.

VACUNA → INDIVIDUO INMUNIZADO → EXPOSICIÓN AL PATÓGENO VACUNAL → INDIVIDUO SANO

¿POR QUÉ EL INDIVIDUO NO CONTRAE LA ENFERMEDAD O LA CONTRAE DE FORMA MENOS GRAVE?

MEMORIA INMUNOLÓGICA

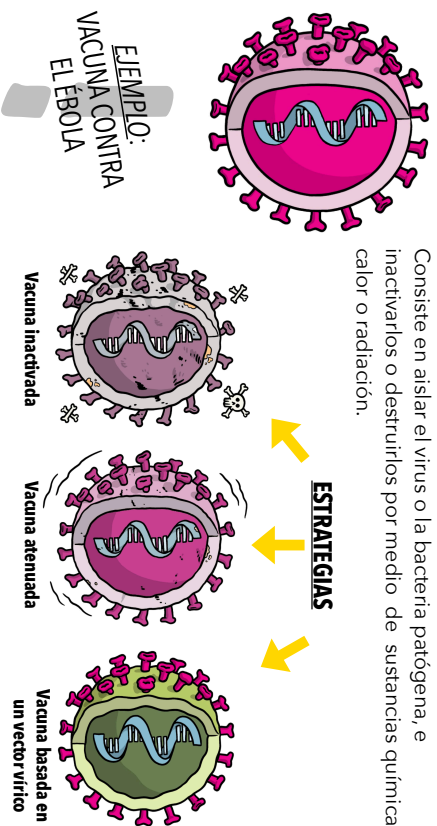
TIPOS DE VACUNAS →



MÉTODO EN EL QUE SE UTILIZA EL AGENTE PATÓGENO ÍNTEGRO

Consiste en aislar el virus o la bacteria patógena, e inactivarlos o destruirlos por medio de sustancias químicas, calor o radiación.

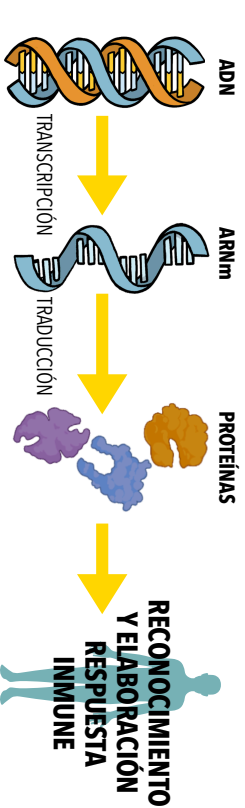
ESTRATEGIAS



MÉTODO GENÉTICO (VACUNAS DE ÁCIDO NUCLEICO)

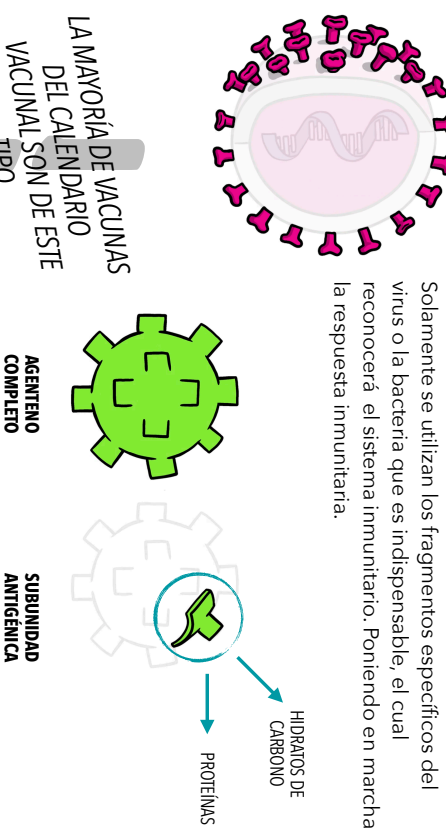
Se utiliza material genético (ADN o ARN) para inducir la fabricación de proteínas específicas del virus o bacteria. Las cuales activaran la respuesta inmunitaria.

¿CONOCEIS ALGUNA VACUNA DE ESTE TIPO?



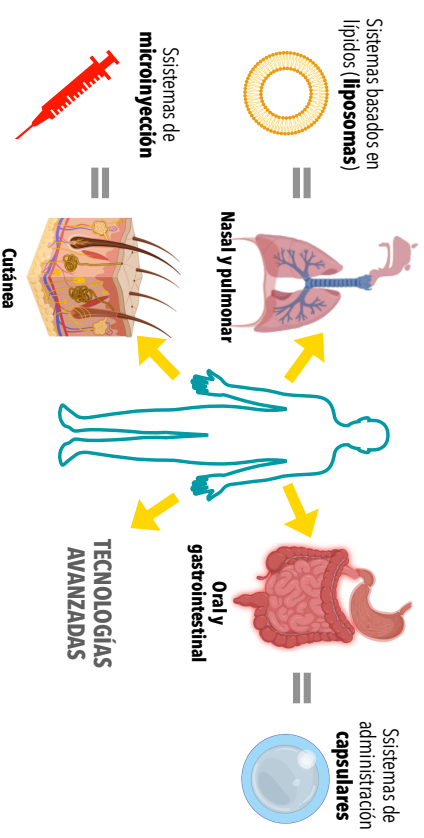
MÉTODO EN EL QUE SE UTILIZA UNA SUBUNIDAD ANTIGÉNICA

Solamente se utilizan los fragmentos específicos del virus o la bacteria que es indispensable, el cual reconocerá el sistema inmunitario. Poniendo en marcha la respuesta inmunitaria.



MÉTODOS DE ADMINISTRACIÓN

Principales sistemas de administración de fármacos para superar las barreras asociadas a cada vía de administración.



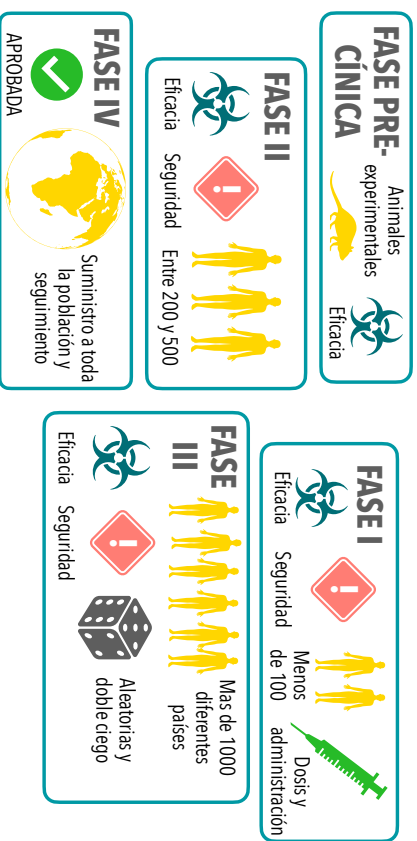
COMPONENTES DE UNA VACUNA



**¿QUÉ TIPO DE VACUNA
CREEES QUE ES LA MÁS
ADECUADA PARA DISEÑAR
UNA COMESTIBLE?**

FASES DE DESARROLLO (ENSAYOS CLÍNICOS)

Los ensayos clínicos tanto de vacunas como de cualquier fármaco, sólo se llevan a cabo después de haber obtenido la aprobación de la autoridad sanitaria/comité de ética del país.



**VACUNAS
VEGETALES
COMESTIBLES**



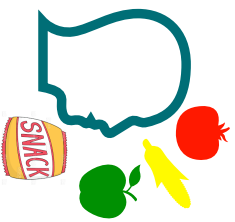
CÓMO SE "HACEN", CÓMO
"FUNCIONAN"...



¿QUÉ ENTENDEMOS POR VACUNA COMESTIBLE?

Las vacunas orales producidas en plantas, sellaman formalmente vacunas de quinta generación.

Uso de partes comestibles de plantas como vacuna, que se toma por vía oral.



¿CÓMO SE INTRODUCE PARTE DE UN MICROORGANISMO EN UNA PLANTA?



+

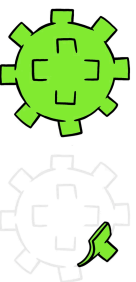


=



METODOLOGÍA DE DESARROLLO

Identificación del componente del microorganismo que potencialmente es más patógeno.



Construcción de la proteína quimera o transgénica, la cual es la que se va a expresar en la planta.

¿CÓMO ES LA SECUENCIA GENICA DE LA PROTEINA QUIMERA?



DEPENDE DE LA METODOLOGÍA



EXPRESIÓN ESTABLE

EXPRESIÓN TRANSITORIA

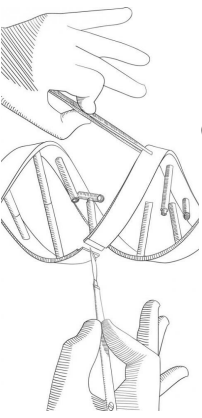
¿QUÉ ENTENDEMOS POR VACUNA COMESTIBLE?

Las vacunas orales producidas en plantas, sellaman formalmente vacunas de quinta generación.

Uso de partes comestibles de plantas como vacuna, que se toma por vía oral.



INGENIERÍA GENÉTICA!!!



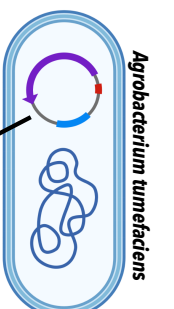
EXPRESIÓN NUCLEAR ESTABLE

¿EN QUÉ CONSISTE?

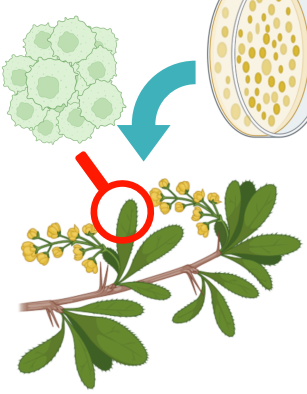


Consiste en generar transformantes nucleares estables, mediado por *Agrobacterium tumefaciens*. Un vector bacteriano, que infecta de manera natural a la planta e inserta parte de su material genético en el genoma de la misma.

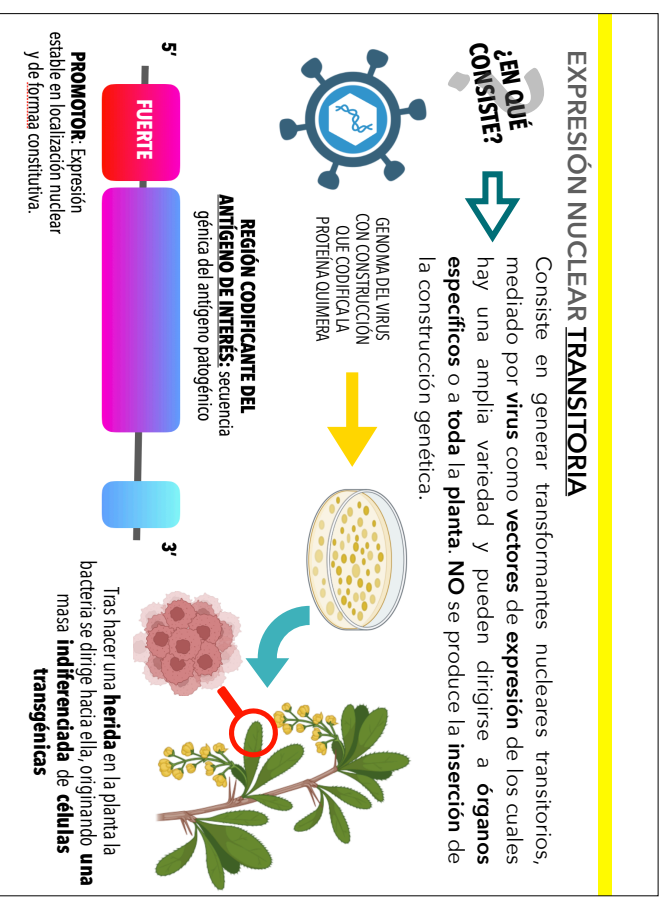
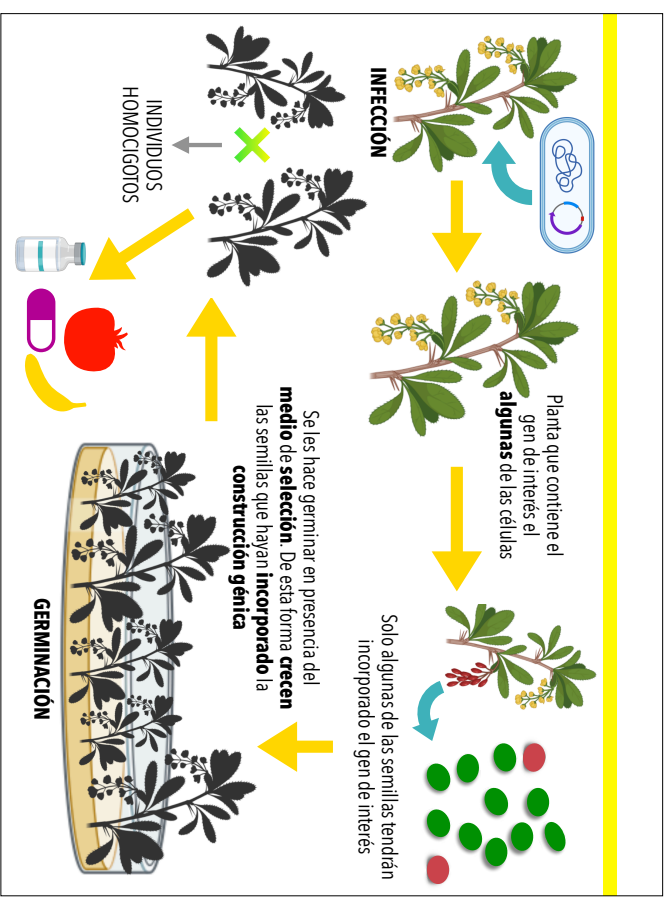
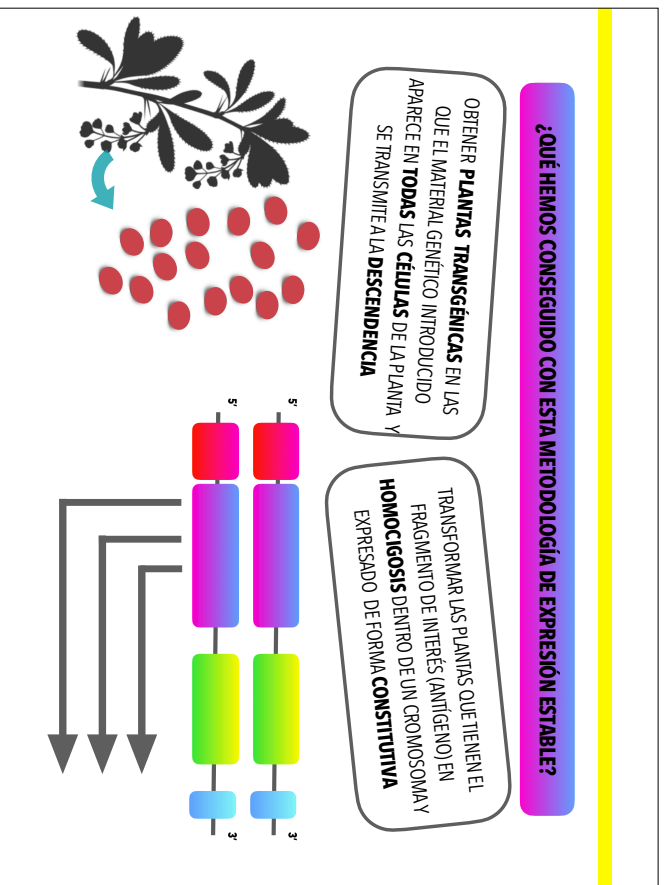
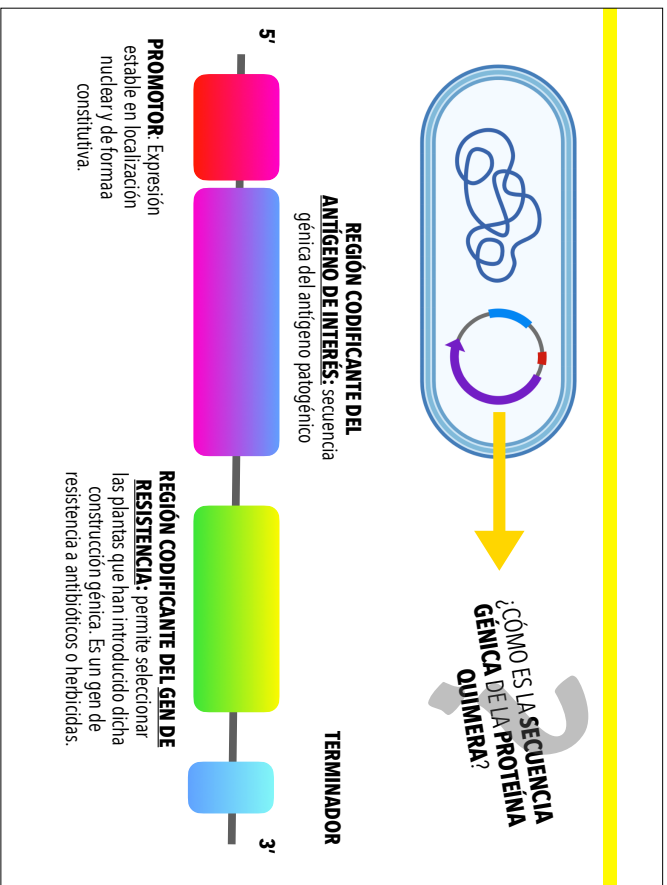
Agrobacterium tumefaciens

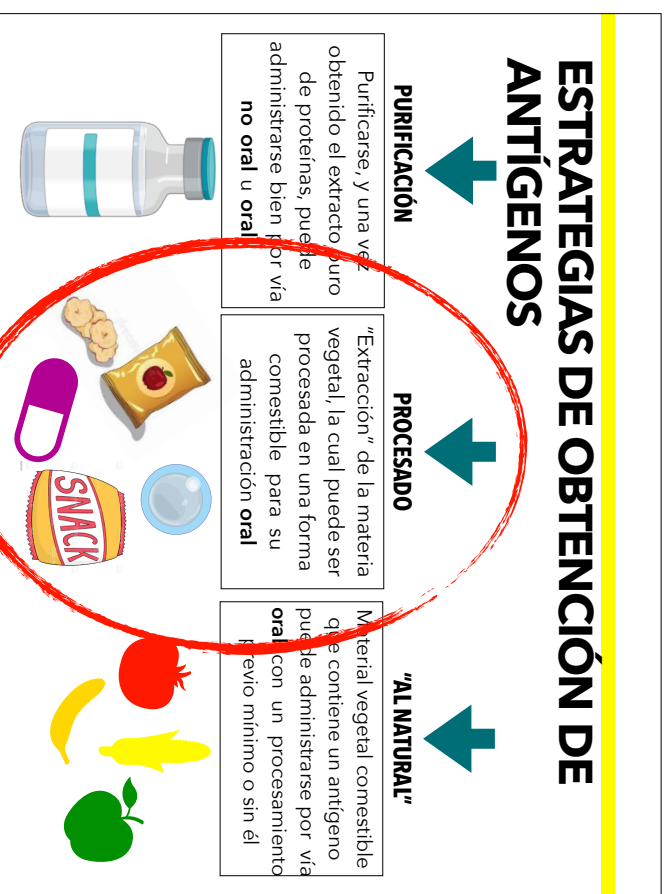
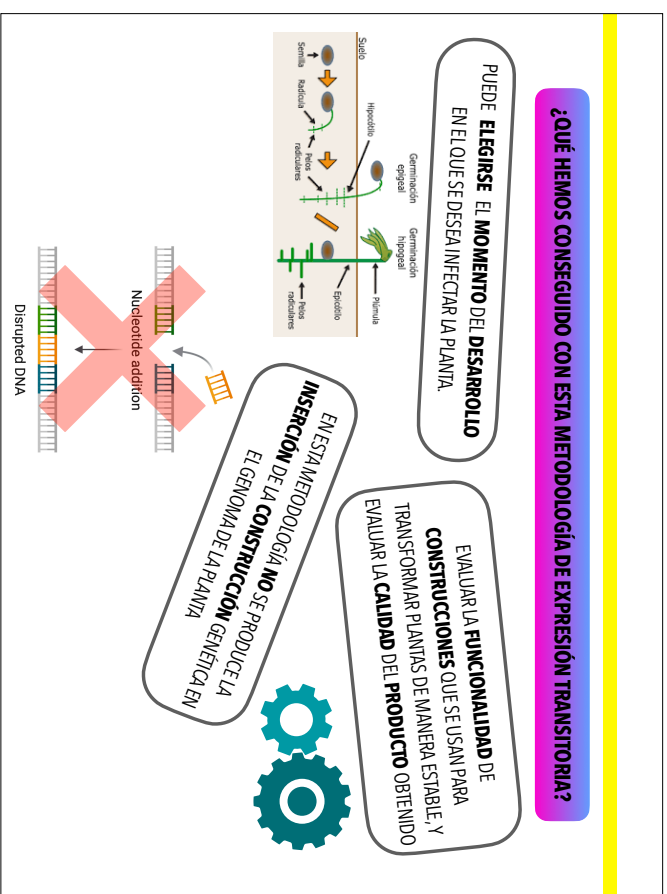
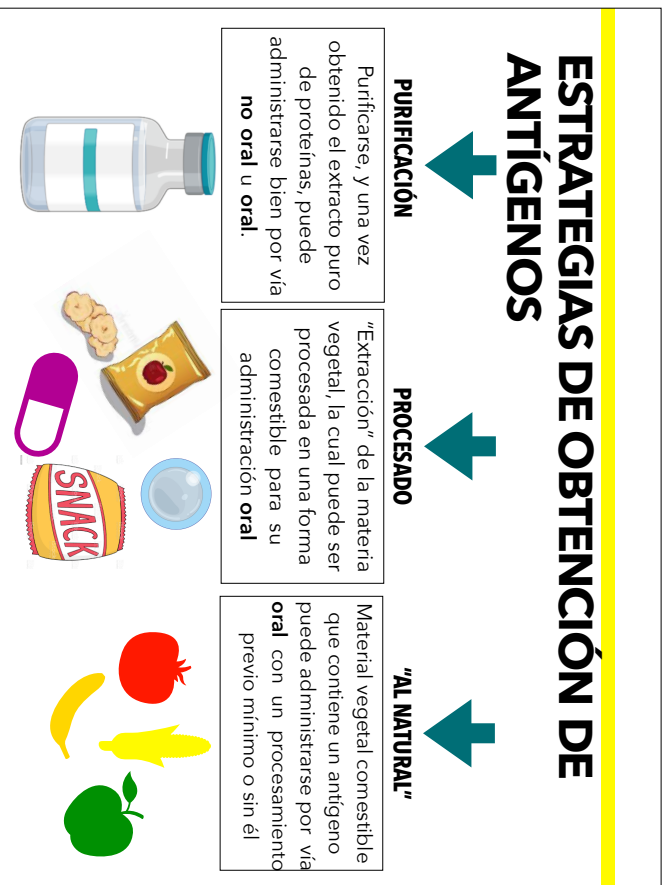
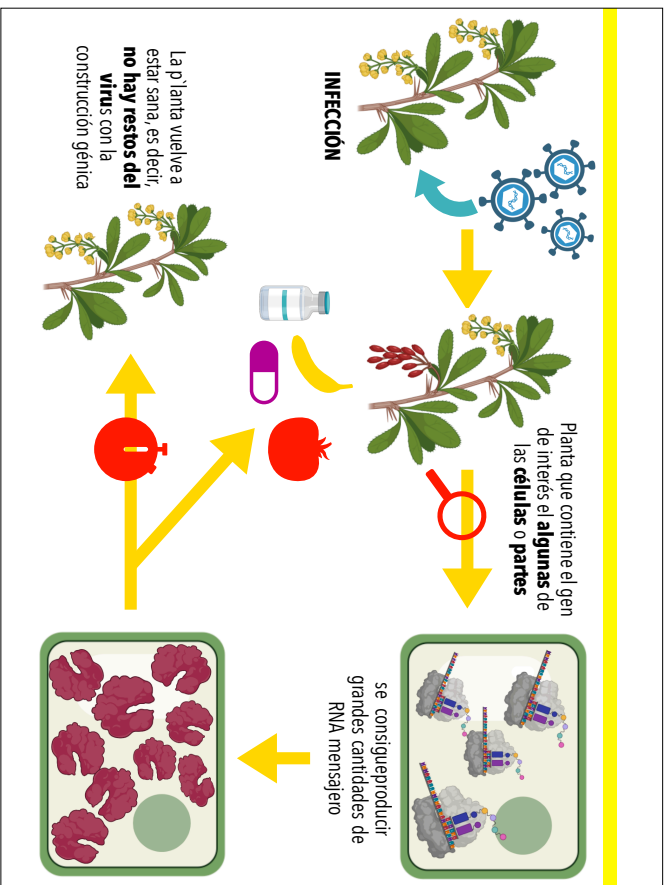


PLÁSMICO CON LA CONSTRUCCION QUE CODIFICA LA PROTEINA QUIMERA



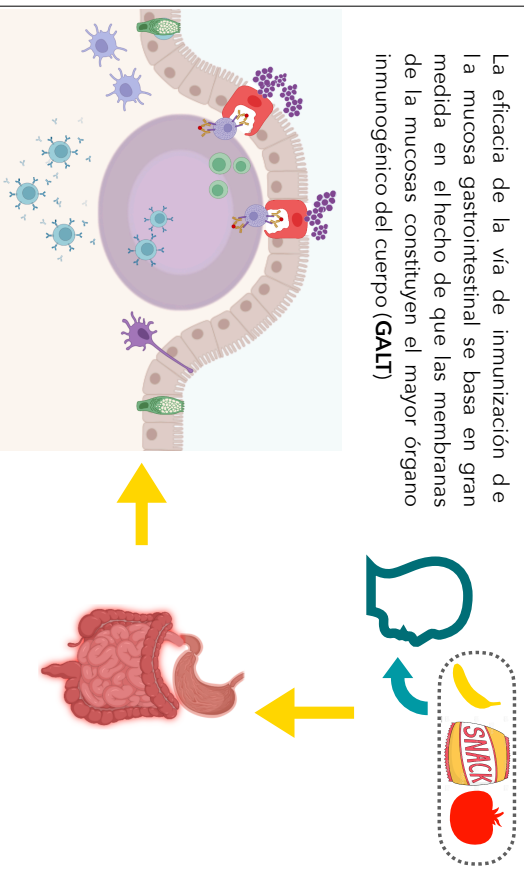
Tras hacer una herida en la planta la bacteria se dirige hacia ella, originando una masa indiferenciada de células transgénicas



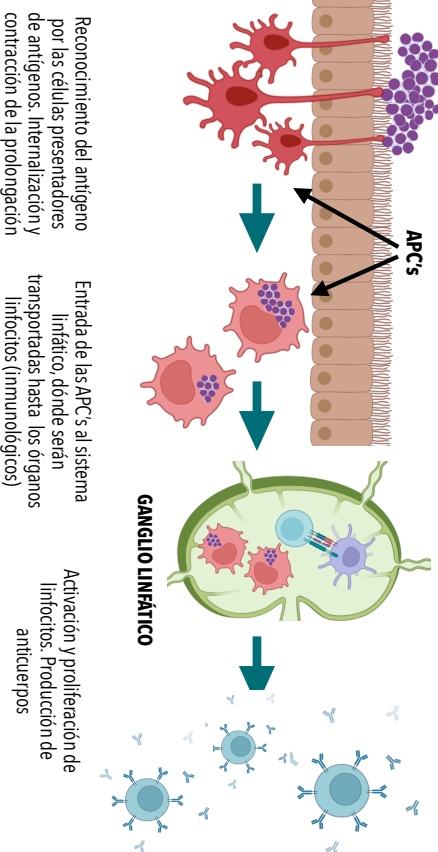


¿CÓMO FUNCIONAN?

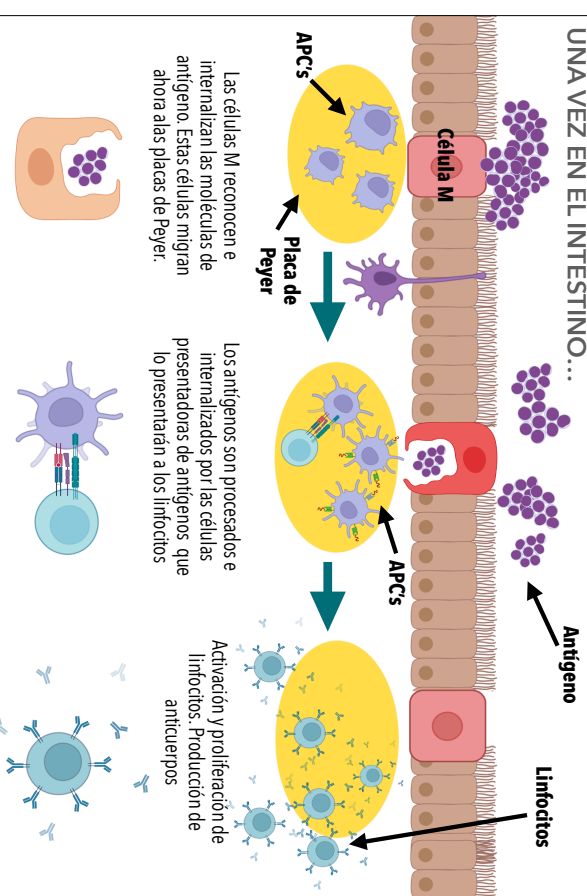
La eficacia de la vía de inmunización de la mucosa gastrointestinal se basa en gran medida en el hecho de que las membranas de la mucosas constituyen el mayor órgano inmunogénico del cuerpo (GALT)



UNA VEZ EN EL INTESTINO...



UNA VEZ EN EL INTESTINO...



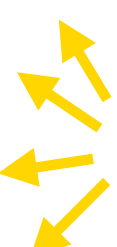
PROBLEMA DE LA ADMINISTRACIÓN ORAL

DEGRADACIÓN DEL ANTÍGENO EN EL TRACTO GASTROINTESTINAL. CONLLEVA QUE NO SE INICIE LA RESPUESTA INMUNOLÓGICA

Antígeno funcional

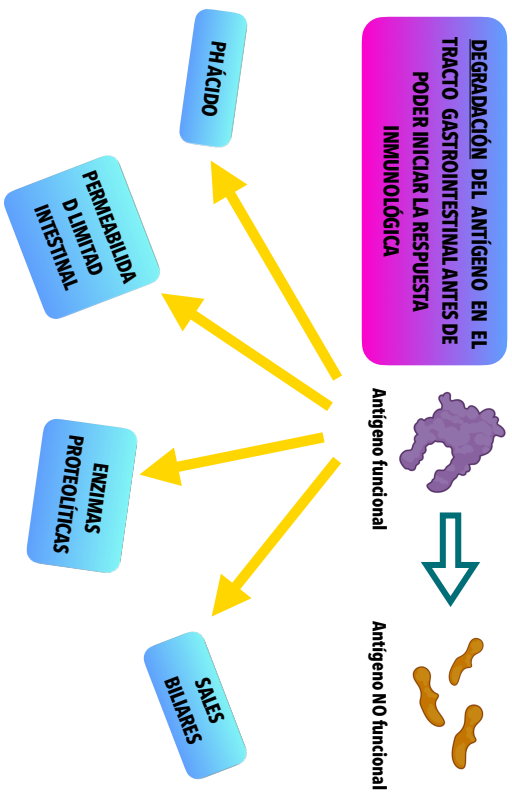


Antígeno NO funcional



¿QUÉ COMPONENTES DEL TRACTO DIGESTIVO PUEDEN DEGRADAR A LOS ANTÍGENOS?

PROBLEMA DE LA ADMINISTRACIÓN ORAL



SOLUCIÓN



ENCAPSULACIÓN
La encapsulación de las proteínas purificadas puede **aumentar** considerablemente los **costes** de producción de las vacunas.

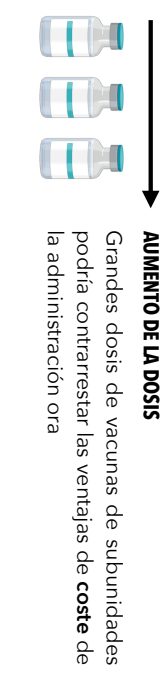


ADYUVANTES

Los adyuvantes de las vacunas son sustancias coadministradas simultáneamente con el antígeno, que **potencian** las **respuestas inmunitarias**. Se consigue estimular el reclutamiento y la activación de las **células presentadoras de antígenos**.

ACTUALMENTE NO EXISTEN VACUNAS ORALES CON ADYUVANTES AUTORIZADAS PARA USO HUMANO

SOLUCIÓN



La encapsulación de las proteínas purificadas puede **aumentar** considerablemente los **costes** de producción de las vacunas.



VENTAJAS E INCONVENIENTES DE LAS VACUNAS COMESTIBLES

VENTAJAS

ADMINISTRACIÓN MENOS COMPLICADA QUE LOS MÉTODOS CONVENCIONALES

EL **MANTENIMIENTO** Y **DISTRIBUCIÓN** ES MÁS FÁCIL

ESTÁN **LIBRES DE TOXINAS** PATÓGENOS Y NO TIENEN EL RIESGO DE QUE LAS PROTEÍNAS SE CONVIERTAN EN EL ORGANISMO INFECCIOSO

SON MÁS **ECONÓMICAS** Y **ESTABLES AL CALOR**

INCONVENIENTES

INCERTIDUMBRE A LA HORA DE CALCULAR LA **DO SIS** ORAL ADECUADA

LA **CONCENTRACIÓN** DE LA PROTEÍNA **VARIA** ENTRE PLANTAS Y FRUTOS

CIERTAS PLANTAS O PARTES DE PLANTAS **NO SE COMEN CRUDAS**, LO QUE PUEDE **DESTRUIR** LA MAYOR PARTE DE LAS **PROTEÍNAS**, Y POR LO TANTO DEJAR DE SER INMUNOGENICAS.

**¿CREEIS QUE PUEDE
TENER REPERCUSIÓN EN
LA "VIDA COTIDIANA" EL
DESARROLLO DE ESTAS
VACUNAS
COMESTIBLES?**



**EJEMPLOS DE
VACUNAS VEGETALES**

NO COMESTIBLES

DEBIDO A SU RECIENTE INICIO DE
DESARROLLO, TODAVÍA **NO HAY
ENSAYOS CLÍNICOS** INICIADOS DE
VACUNAS DE QUINTA GENERACIÓN



¿A QUÉ NIVEL?

**CALENDARIO DE
VACUNACIÓN
ESPAÑOL 2022**

**¿QUÉ VACUNAS EN UN
FUTURO PODRÍAN SER
COMESTIBLES?**

VACUNA	Edad en meses					Edad en años				
	2	3	4	11	12	15	3-4	6	12	14
Hepatitis B ¹	HB		HB	HB	HB					
Difteria, tétanos y tostetrina ²	DTPe		DTPe	DTPe	DTPe					
Poliomelitis ³	VPI		VPI	VPI	VPI			DTPa/ Tipo VPI		
Haemophilus influenzae Tipo B ⁴	Hib		Hib	Hib	Hib					
Neumococo ⁵	VNC		VNC	VNC	VNC					
Rotavirus ⁶	RV		RV	(RV)						
Meningococo B ⁷	MenB		MenB					MenB		



CALENDARIO DE VACUNACIÓN ESPAÑOL 2022

¿QUÉ VACUNAS EN UN FUTURO PODRÍAN SER COMESTIBLES?

VACUNA	Edad en meses						Edad en años				
	2	3	4	11	12	15	3-4	6	12	14	15-18
Meningococos C y ACWY ¹				MenC						Men ACWY	
Gripe ²							Gripe (6 meses a 59 meses)				
Sarampión, rubéola y parotiditis ¹⁰					SRP						
Varicela ¹¹						Var			SRP Var / SRPV		
Virus del papiloma humano ¹²										VPH	
SARS-CoV-2 ¹³											SARS-CoV-2 (a partir de 5 años)

MALARIA



Enfermedad potencialmente mortal causada por parásitos



En 2020: **241 millones**



En 02020: **627000**

Se ha aprobado una vacuna comercial, pero los costes son elevados. Fases iniciales de vacunas desarrolladas en plantas están mostrando buenos resultados.

ÉBOLA



La enfermedad por el virus del Ébola (EVE), antes llamada fiebre hemorrágica del Ébola, es un enfermedad grave, a menudo mortal en el ser humano



De 2014-2016: **28.645**



Desde el origen: **11.323**



Éxito de los Estados Unidos, desarrolló una vacuna vegetal para hacer frente al virus del Ébola,

HEPATITIS B



Cirrosis hepática o al carcinoma hepatocelular.



296 millones de personas padecerían infección crónica en 2019.



En 2029: **820.000**

En 2021, Ensayos clínicos sobre la administración oral de plantas que expresan **HBsAg**, sugieren que puede ser un método eficaz.

VIRUS DE INMUNO-

SI HAY ENSAYOS CLÍNICOS CON VACUNAS COMESTIBLES

DEFICIENCIA HUMANA

SIDA, ataca el sistema inmunitario y debilita la defensa contra infecciones



1,5 millones de personas resultaron infectada en 2021

En 2021: **680.000**

Desde el origen: **36,3 millones**

En los últimos años se ha conseguido producir proteínas recombinantes contra el VIH. Sin embargo, **no** se han conseguido **resultados** esperanzadores en términos de inmunidad.



SARS COV-2



Enfermedad respiratoria de leve a moderada, algunas enfermarán gravemente y requieren atención médica.



Desde el origen de la pandemia: **412.351.279** a nivel **mundial**.
En España: es de **10.744.394**



En España: es de **97.350**



El desarrollo de vacunas en especies vegetales comestibles transformadas a nivel nuclear y destinadas a dar lugar a vacunas orales se consideraran objetivos a largo plazo. Sin embargo, el día 24 de febrero se **aprobó** en **Canadá** la primera **vacuna** contra el SARS CoV-2 de **origen vegetal** de tipo **inyectable**.

The Kahoot! logo, featuring a stylized green and yellow character with a speech bubble, is positioned behind the text. The background of the slide is a vibrant rainbow gradient.

KAHOOT!

<https://create.kahoot.it/details/hahh83-74b4-4ee-976-99e460778227>

**MUCHAS
GRACIAS!!!!**



DESARROLLO DE VACUNAS VEGETALES COMESTIBLES

PRÁCTICAS

ADRIÁN GARCÍA GARCÍA

BIOQUÍMICA Y CIENCIAS BIOMÉDICAS

¿QUÉ HAREMOS?



ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE
GENES DE PLANTAS MEDIANTE EN
ENSAYO TIPO GUS



TRANSFEECCIÓN DE PLANTAS
(EXPRESIÓN TRANSITORIA)



ESTERILIZACIÓN Y SIEMBRA DE
SEMILLAS



CULTIVO *IN VITRO* (ESFERAS DE
ALGINATO)



ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN ESTABLE DE GENES DE PLANTAS MEDIANTE EN ENSAYO TIPO GUS

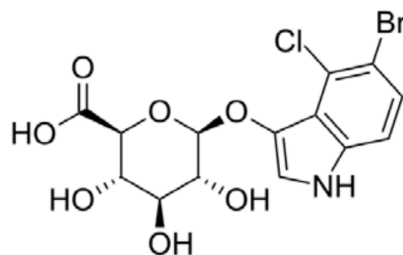
OBJETIVO

En esta práctica se pretende aprender la metodología empleada para el estudio de la **expresión estable del gen GUS** bajo el control de un promotores de un gen esencial.

¿QUIEN ES EL GEN GUS?



Esta técnica está basada en la utilización de la **enzima β -glucuronidasa** (codificada por el gen GUS) de la bacteria *Escherichia coli*, que cuando es **incubada** con algunos **sustratos incoloros**, puede **transformarlos** en productos **coloreados**



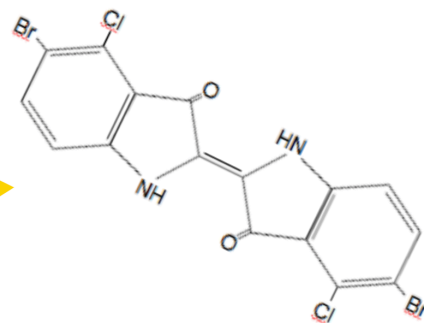
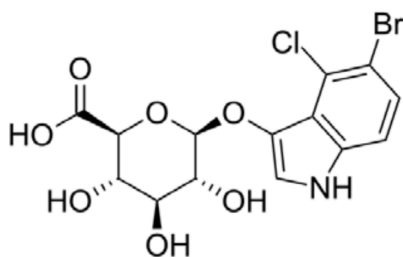
¿CUÁL ES NUESTRO SUSTRATO?

5-bromo-4-cloro-3-indolil glucurónido (**X-Gluc**)

¿CUÁL ES LA SECCIÓN?



El X-GlcA es utilizado por la β -glucuronidasa para crear un precipitado insoluble azulado

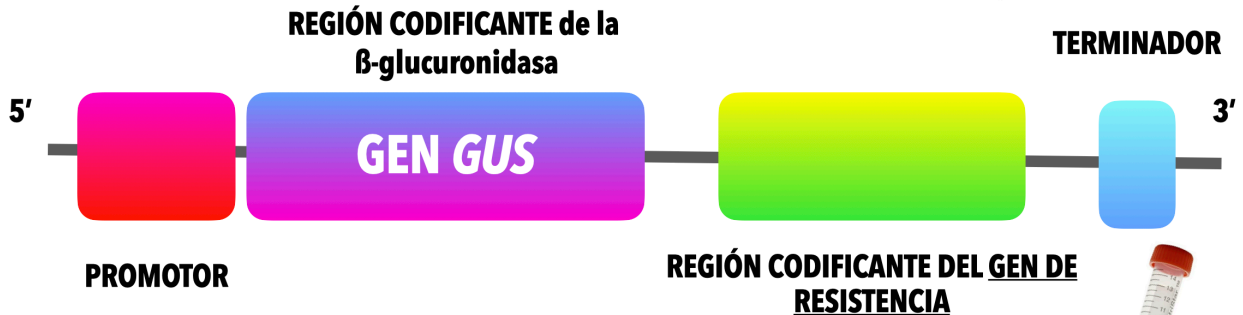


5-bromo-4-cloro-3-indolil glucurónido (**X-Gluc**)

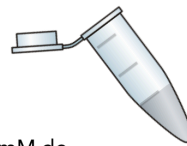
5,5'-dibromo-4,4'-dicloro-índigo

MATERIAL

- Plantas transgénicas de *Arabidopsis thaliana* que tienen el gen *GUS* bajo un promotor constitutivo.



- Estufa de cultivo a 37°C
- Tubos Eppendorf de 1,5mL
- Reactivo GUS** [0,1 M de Tampón fosfato sódico pH 7, 0,5 mM de ferricianuro potásico (K₃Fe(CN)₆), 0,5 mM de ferrocianuro potásico (K₄Fe(CN)₆), 10 mM de EDTA pH 8, 2 mM de X-Gluc preparado en DMSO, y 0,1% de Tritón X100]
- Etanol 70%



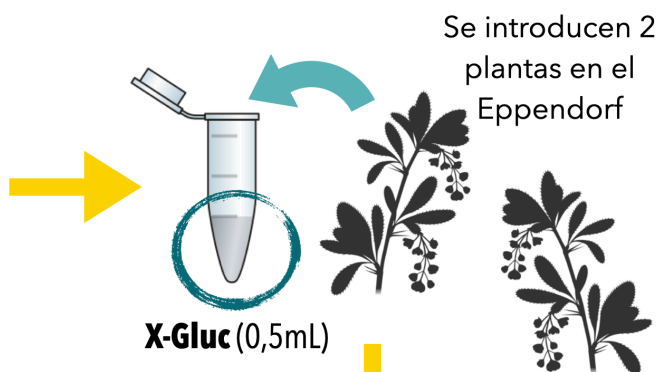
PROTOCOLO

1



Plantas transgénicas de *Arabidopsis thaliana* que tienen el gen *GUS*

Para poder **visualizar** el **precipitado azul** en las hojas y que no se vea enmascarado por los pigmentos fotosintéticos se **realizará un desteñido** de las plántulas mediante **lavados** con **etanol**

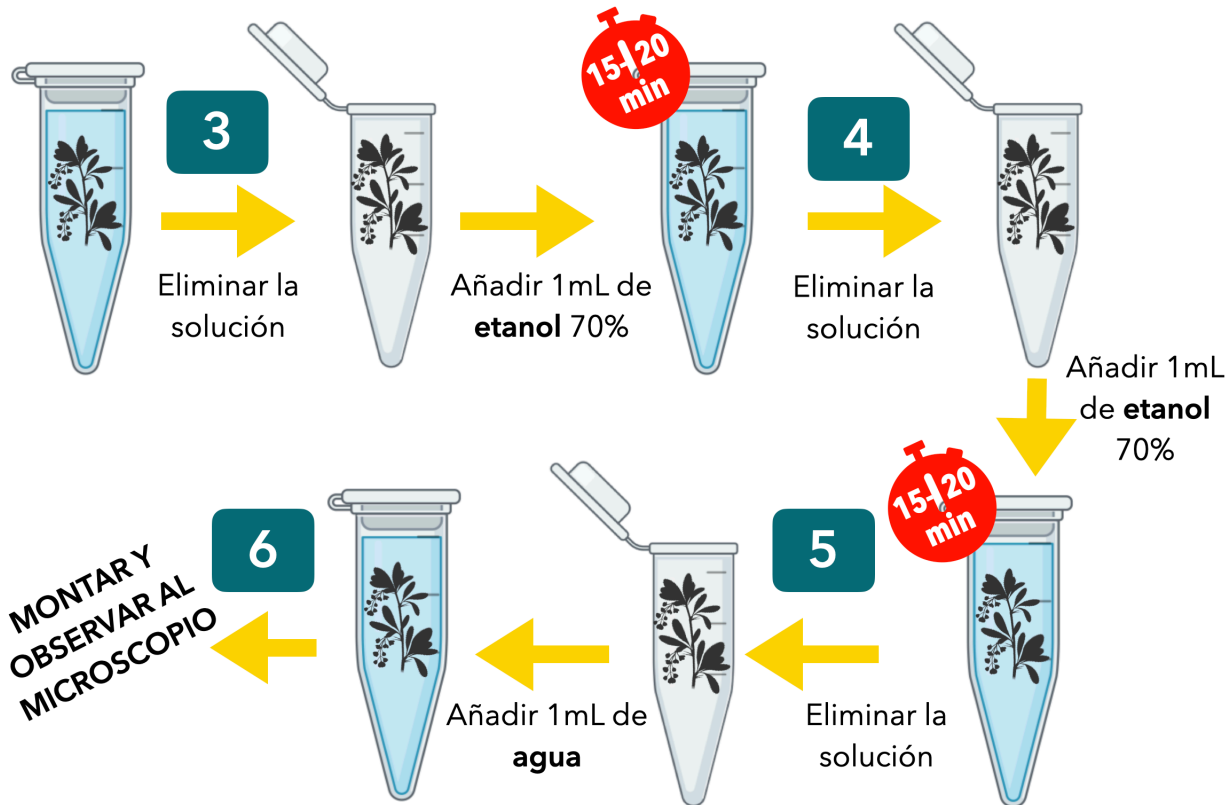


2



Reacción de la β-glucuronidasa. a 37°C





TRANSFECCIÓN DE PLANTAS (EXPRESIÓN TRANSITORIA)

OBJETIVO

Esta es una metodología mediante la cual se **transfecta** un órgano de una planta con el fin de inocular una bacteria o virus en él, y así **transformarla**. La transfección consiste en la introducción de material genético externo en células eucariotas. Este método es el más usado en los laboratorios dedicados a la **expresión transitoria**

MATERIAL

- Jeringuilla
- Agua (realmente se emplea la solución que contiene el virus o la bacteria transformante)
- Organismo: Planta de tomate (Lycopersicon)



PROTOCOLO



Cogemos una hoja de la planta



Llenamos la jeringuilla de agua (3mL)



OBSERVACIÓN!



Por el dorso de la hoja presionamos la jeringuilla con cuidado



ESTERILIZACIÓN Y SIEMBRA DE SEMILLAS

OBJETIVO

Conocer la metodología mediante la **cual** se hace la **siembra** de **semillas** en el laboratorio. Lo cual debería realizarse bajo condiciones de esterilidad.



MATERIAL

- Papel de filtro
- Pinzas
- Tubos corning
- Lelia al 50% y detergente



- Placas con medio de cultivo (agar + sacarosa)
- Organismo: semillas de tomate moneymaher (*Solanum lycopersicum*) y de brócoli (*Brassica oleracea*)



PROTOCOLO

ESTERILIZACIÓN



CULTIVO *IN VITRO* (ESFERAS DE ALGINATO)

OBJETIVO

Esta es una metodología mediante la cual se **observa** el **crecimiento** de ciertas partes de la **planta** en condiciones **in vitro**. En un ambiente el cual se puede controlar. Es un método usado para observar la **expresión**, tanto **transitoria** como **estable**, de plantas transgénicas. Y estudiar su evolución y progresión.

MATERIAL

- Pipetas pasteur
- Vasos de precipitados
- Bisturí o tijeras
- Reactivos: Alginato y gluconolactato
- Organismo: Planta de tomate (*Lycopersicon*)



PROTOCOLO

