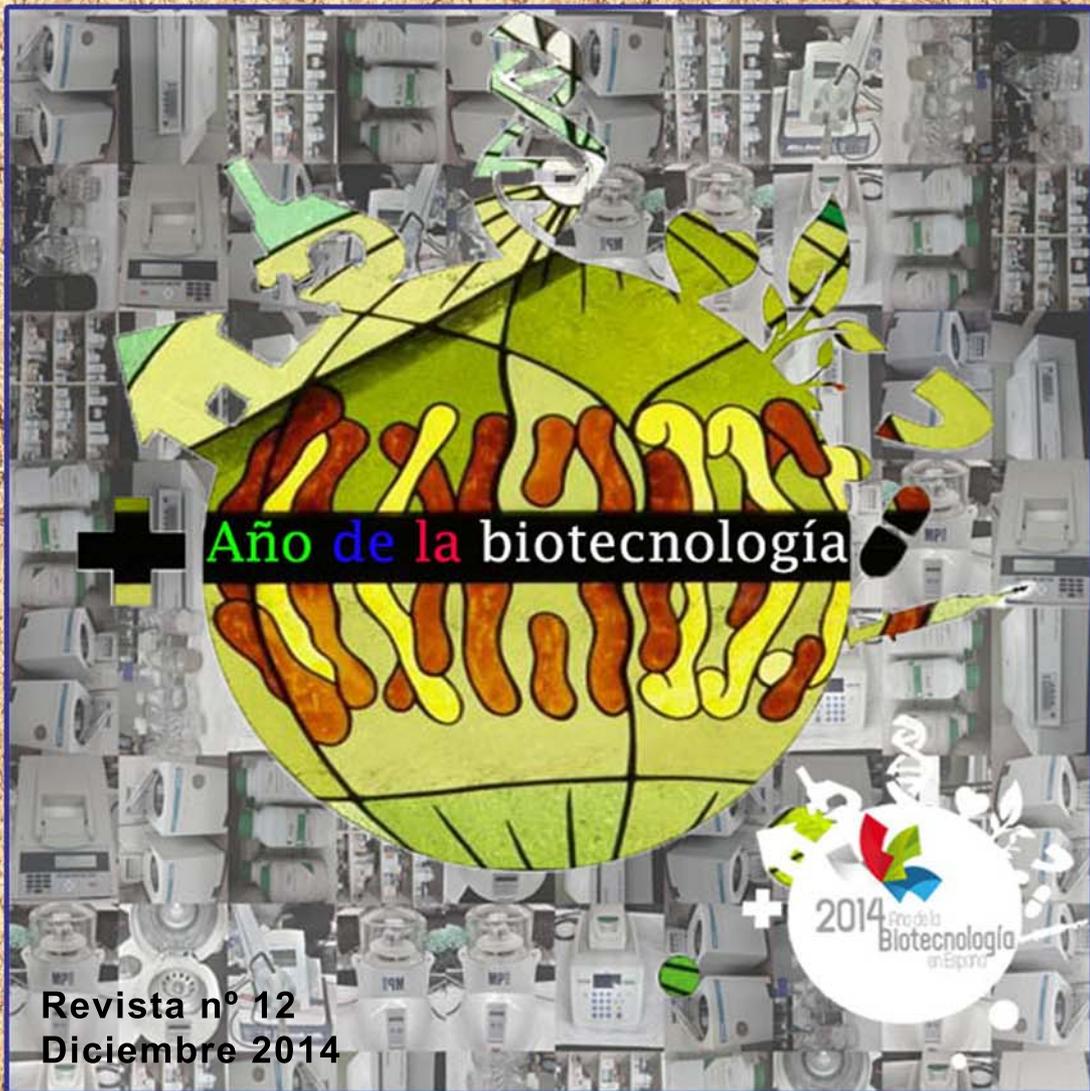


Ambio ciencias

REVISTA DE DIVULGACIÓN



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES. UNIVERSIDAD DE LEÓN



★ 1968 ★



★ 2014 ★

Consejo de redacción

Director:

Juan Manuel Nieto Nafría Catedrático de Universidad del Área de Zoología

Secretario:

Francisco Javier Rúa Aller Vice-Decano de la Facultad de CC. Biológicas y Ambientales

Miembros:

José Luis Acebes Arranz Profesor Titular del Área de Fisiología Vegetal
María Luz Centeno Martín Profesora Titular del Área de Fisiología Vegetal
Delia Fernández González Profesora Titular del Área de Botánica
Andoni Gómez Moreno Alumno de 3º curso del Grado en Biotecnología
Estanislao Luis Calabuig Catedrático de Universidad del Área de Ecología
Luis Mariano Mateos Delgado Profesor Titular del Área de Microbiología
Juan Antonio Régil Cueto Profesor Titular del Área de Zoología
Luis Enrique Sáenz de Miera Carnicer Profesor Titular del Área de Genética

Edita: Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad de León

Colabora: Área de Publicaciones de la Universidad de León.

Maquetación: Ana Alonso Simón.

© **Universidad de León**

© **Los autores**

ISSN: 1988-3021 (edición digital), 2147-8942 (edición impresa)

Dep. Legal: LE-903-07



En portada:

2014 ha sido declarado el Año de la Biotecnología en España, gracias al esfuerzo de FEBiotec, ASEBIO, SEBiot y la FECYT. En la portada, una interpretación libre del logotipo de dicho evento. Composición: Andoni Gómez Moreno.

ÍNDICE

Editorial

La Universidad de León y la Biotecnología

Alberto J. Villena 3

¿Qué es la Biotecnología?

Biotecnología, un sector en crecimiento

Lucía Cecilia Mercado..... 6

Biotecnología y salud humana

La biotecnología en la salud humana: el hito de los anticuerpos monoclonales

José Luis Mauriz, Raquel Ordóñez, Néstor Prieto-Domínguez, Javier González-Gallego.....12

Biotecnología animal

Transgénesis en animales de granja

Margarita M. Marqués, Marta F. Baro, Silvia Nicolás, Yolanda Bayón.....34

Biotecnología industrial

El catabolón del fenilacetil-CoA: un paradigma de convergencia metabólica con múltiples aplicaciones biotecnológicas

José María Luengo, Elías Rodríguez-Olivera50

Biotecnología vegetal

La Biotecnología Vegetal en el entorno europeo

Pere Puigdomènech.....70

Biotecnología ambiental

Biotecnología Ambiental ¿la cenicienta de la biotecnología?

Eloy Bécares.....81



Asociaciones de Biotecnología

León, cuna de la Biotecnología española

Ángela Bernardo95

ABLe: promoviendo la Biotecnología en León desde el 2007

Diego Balboa, Blanca Torroba, M^a Ángela Bernardo, Laura Giner, Santos Domínguez, David Álvarez.....101

Empresas de Biotecnología

El “abc” de las entidades biotecnológicas en León hoy.....112

Desarrollo de la Biotecnología en España

Orígenes y desarrollo de la Biotecnología en León

Elías F.R. Ferri126

Ambiólogos de aquí

Bruno Díez, de oficio biotecnólogo

Bruno Díez152

De todo un poco

Congreso anual de Biotecnólogos 2014.....158

Noticias de actualidad159

EDITORIAL

La Universidad de León y la Biotecnología

El año 2014 fue declarado como Año de la Biotecnología en España, una iniciativa de la Federación Española de Biotecnólogos (FEBiotec), la Asociación Española de Bioempresas (ASEBIO), la Sociedad Española de Biotecnología (SEBiot) y la Sociedad Española de Microbiología (SEM), con el fin de impulsar el desarrollo de la biotecnología en nuestro país.

La Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad de León se suma a esa conmemoración con la publicación del presente número de la revista *AmbioCiencias*. A través de las contribuciones de los expertos, de diversos ámbitos de la biotecnología, esta revista universitaria de divulgación científica desea aportar la contribución de la Universidad de León a los objetivos del Año de la Biotecnología en España impulsando el desarrollo de esta Ciencia a través de la investigación, la transferencia de sus resultados, la cooperación y, muy importante, la enseñanza y divulgación de los fines, potencialidades y aportación de esta ciencia al desarrollo y bienestar de la sociedad.

La bioeconomía es un sector productivo de alta tecnología, que según el informe 2013 de la Asociación Española de Biotecnología (Asebio) aportó casi un 8% del producto interior bruto español, con tasas de crecimiento anual superiores al 5%, y que proporciona empleo a más 200.000 trabajadores, muchos de ellos de alta cualificación profesional. Su pujante desarrollo se fundamenta en la investigación y transferencia de tecnologías, principalmente en los distintos ámbitos de la biotecnología moderna aplicadas a los campos de la salud y de la alimentación.

Aunque los principales polos tecnológicos e industriales biotecnológicos se sitúan en Cataluña, Andalucía y Madrid, León tiene una larga tradición investigadora e industrial en las ramas de la biotecnología roja (salud) y verde (agroalimentación), de las cuales las Facultades de Veterinaria y de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad de León han sido grandes impulsoras. De esta forma, la formación de profesionales Veterinarios, Biólogos, Ambientalistas y Biotecnólogos, citándolos en orden cronológico de implantación de sus carreras, con formación avanzada en las diversas disciplinas que sinérgicamente se integran en la biotecnología y, particularmente, la labor de los profesores e investigadores de esas Facultades han sido el fermento que

Forma de mencionar este artículo: Villena, A.J., 2014, La Universidad de León y la Biotecnología. *AmbioCiencias*, 12, 3-5. Revista de divulgación científica editada por la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad de León, ISBN: 1998-3021 (edición digital), 2147-8942 (edición impresa). Depósito legal: LE-903-07.

permitió que León contase con empresas (que hoy en día calificaríamos sin duda como biotecnológicas desde su inicio), como Laboratorios Ovejero, Antibióticos S.A. o SYVA Laboratorios.

Ese impulso inicial se ha continuado más recientemente, y se está intensificando, con la implantación en nuestra provincia de otras industrias de la biotecnología roja, como Laboratorios Calier, León Farma S.A., Vitatene (DSM), Gadea Biopharma, Genhelix (mAbxcience) y la presencia de centros de biotecnología industrial, tales como el Instituto de Biotecnología (Inbiotec) y Biomar Microbial Technologies) y verde (Agro-Vet S.L.).

La Universidad de León puede decir con orgullo que también ha contribuido a esta segunda oleada de desarrollo de este sector en León: por una parte, con la implantación del Título de Biotecnología, que fue una señal inequívoca de la importancia que la Universidad daba a la demanda de profesionales de esta rama científica y tecnológica y, por otra, con el compromiso que nuestra institución ha mostrado siempre con el sector biotecnológico de su entorno. Ese vínculo se ha manifestado en las actividades investigadoras y de transferencia de conocimiento de numerosos profesores e investigadores, a cuya iniciativa se han creado centros de investigación como los institutos de Biomedicina (IBIOMED), de Biología Molecular, Genómica y Proteómica (INBIOMIC), de Sanidad Animal y Desarrollo Ganadero (INDEGSAL), de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Biodiversidad (IMARENABIO) y de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTAL), en los cuales trabajan grupos de investigación en diversos ámbitos de la biotecnología.

También, de forma más institucional, la Universidad ha apoyado la creación de empresas de base tecnológica (Spin-offs) biotecnológicas, a partir de sus recursos humanos e instalaciones y equipamientos científicos, en las ramas de biotecnología verde (Bioges Starters S.A. y RGA Bio-investigación, S.L.) y roja (Aquilón CyL S.L.), así como de otras empresas asociadas que utilizan intensivamente la biotecnología (Bioenergía y Desarrollo Tecnológico S.L., Centro Tecnológico de Inseminación Artificial, S.A., Indilab, S.L., Micros Veterinaria S.L.).

Además, nuestra universidad ha impulsado la creación de agrupaciones empresariales innovadoras de los ámbitos de la biotecnología roja y verde, como el Clúster de Salud de Castilla y León y Vitartis, respectivamente, que favorecen la cooperación público-privada y entre empresas para mejorar la competitividad industrial y el desarrollo empresarial, y en los que participa activamente.

Por otra parte, la colaboración entre los investigadores, especialmente de los grupos de investigación que trabajan en los Institutos, con diversas empresas, bien mediante contratos para la realización de trabajos por encargo o en el marco

de proyectos de I+D+i competitivos con financiación público-privada, está permitiendo que se amplíen los ámbitos biotecnológicos en los que se trabaja en la Universidad. Pueden reseñarse, entre otros, el crecimiento de la actividad investigadora y de transferencia en biotecnología gris, incluyendo fuentes de bioenergía (biocombustibles, biohidrógeno), biorremediación y aprovechamiento de residuos agroalimentarios.

Cabe destacar también el compromiso demostrado por los estudiantes del Título de Biotecnología de la Universidad de León en la divulgación de la especialidad que eligieron como futuro profesional y de lo que puede representar como fuente de beneficios para la sociedad. Allá por 2007 alumnos de la Licenciatura en Biotecnología crearon la Asociación de Biotecnólogos de León (ABLe), que fue impulsora y es miembro fundador de la Federación Española de Biotecnólogos (FEBiotec). Además de las actividades que realiza como miembro de FEBiotec, las iniciativas y proyectos que ABLe ha desarrollado en pos de los fines que incluyen los objetivos del Año de la Biotecnología en España son numerosos y reseñables por su impacto mediático y social (Proyecto DEBE, Congreso INVINOTEC 2010, jornadas ConCiencia, V Semana de la Biotecnología León).

Por tanto, la publicación de este número de AmbioCiencias dedicado a la biotecnología es, en cierta forma, un paso más en el compromiso que la Universidad de León ha demostrado desde sus orígenes con el desarrollo y aplicación de la biotecnología, inicialmente a partir de la educación y formación de profesionales y de la investigación científico-técnica, que se completa ahora con la de divulgación.

A través de los diversos artículos esperamos que el lector obtenga una visión actual y panorámica de lo que es la biotecnología actual, como ciencia y como tecnología, de sus posibilidades y riesgos, y que esta comprensión facilite su aceptación como un medio que está aportando múltiples beneficios a la sociedad y que en el futuro debe aportar mejoras notables a los problemas actuales de la salud y la alimentación humana y animal, ofreciendo también soluciones de sostenibilidad ambiental.

Por ello, queremos agradecer el esfuerzo y dedicación de los diversos autores que aceptaron el compromiso de participar en esta labor, difícil sin duda por la necesidad de compendiar en un espacio limitado el estado actual de las diversas ramas de la biotecnología.

Alberto José Villena Cortés
Vicerrector de Investigación. Universidad de León

¿QUÉ ES LA BIOTECNOLOGÍA?

Biotecnología, un sector en crecimiento

Lucía Cecilia Mercado

Responsable de Comunicación de la Asociación Española de Bioempresas (ASEBIO). C/ Diego de León, 44. 28006 Madrid

En la última década, y desde una posición de partida bastante desfavorable, nuestro país ha sido capaz de construir un sector biotecnológico que, según la OCDE, está en tercera posición del ranking mundial por número de empresas completamente dedicadas a la biotecnología –que en su mayoría han surgido como spin offs de universidades y centros de investigación públicos- y en segunda posición si se considera a todas las compañías que declaran alguna actividad en este ámbito.

Este espectacular crecimiento, probablemente sin precedentes en nuestra historia económica, y desde luego sin comparación en el escenario internacional, ha sido posible gracias a un conjunto de factores críticos de éxito entre los que cabe destacar: la puesta en marcha por parte de diversas administraciones de políticas públicas de apoyo al sector (muchas de ellas, por desgracia, canceladas o gravemente afectadas por la crisis), la calidad de los profesionales formados en nuestras universidades, la excelencia de producción científica española en las áreas de conocimiento relacionadas con el sector (España es la 9ª potencia científica mundial y la 5ª de EU15), la calidad de nuestro Sistema Nacional de Salud, la emergencia de una cultura emprendedora entre los científicos del área de ciencias de la vida, la presencia de empresas tractoras en sectores usuarios de biotecnología (alimentario, farmacéutico, energético) o la consolidación de un clúster fuerte y organizado que fomenta la cooperación público privada y cuyo mejor exponente es quizá la Asociación Española de Bioempresas (ASEBIO), la tercera de Europa y entre las más importantes del mundo por número de socios y actividades.

El principal valor de la biotecnología es su capacidad para actuar como palanca de innovación en múltiples sectores, que suponen un importante porcentaje del PIB de una economía basada en el conocimiento. Las empresas biotecnológicas aportan a nuestra sociedad nuevos medicamentos y tecnologías sanitarias, nuevos alimentos, nuevos materiales y fuentes de energía y todo ello

Forma de mencionar este artículo: Mercado, L.C., 2014, Biotecnología, un sector en crecimiento. AmbioCiencias, 12, 6-11. Revista de divulgación científica editada por la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad de León, ISBN: 1998-3021 (edición digital), 2147-8942 (edición impresa). Depósito legal: LE-903-07.

con modelos de negocio basados en el conocimiento y altamente sostenibles desde la perspectiva social y ambiental. Una buena muestra de la acelerada dinámica de penetración de estas tecnologías en nuestra economía es que, según el INE, las empresas que se declaraban en alguna medida usuarias de biotecnología han pasado de suponer en 2008 el 2,98% del PIB hasta alcanzar en 2012 el 7,8% del PIB. En paralelo, aquellas empresas que tienen a la biotecnología como principal o exclusiva actividad han sido capaces de seguir creando empleo de calidad durante los últimos años (el mismo se ha incrementado en casi un 5% (7.141) en 2012 y su cifra de negocios ha crecido un 10,78%, hasta los 8.800 millones de euros). Sin embargo, el número de estas compañías cae por primera vez, el 5,3% hasta las 625.

Estos datos del sector procedentes de la última Encuesta sobre Innovación Tecnológica en las empresas 2012 del Instituto Nacional de Estadística recogidos en el Informe ASEBIO 2013, son realmente esperanzadores, ya que destilan crecimiento en todos los ámbitos, salvo en la inversión en I+D, que desafortunadamente se está viendo resentida por la coyuntura actual, con una caída del 2,7% hasta los 523 millones de euros en 2012. El gran esfuerzo en I+D que están haciendo las empresas que utilizan la biotecnología en su negocio se está viendo afectado por la coyuntura económica y por la escasez de financiación que ha provocado que las empresas destinen menos fondos a esta partida, básica para mantener nuestro nivel de innovación. En los últimos diez años hemos llegado a tener crecimientos del 31,8% en 2005 o del 46,6% en 2006.

Sin embargo, seguimos creando empleo, algo de lo que adolecen multitud de sectores de nuestra España actual (el 0,36% más hasta los 202.976 trabajadores en 2012).

El número de empresas que realizan actividades relacionadas con la biotecnología ascendió a 3.070 en 2012, con una tasa de crecimiento del 1,48%. Por otro lado, destaca el aumento de la cifra de negocios del sector, que alcanzó los 80.312 millones de euros en 2012, el 5,58% más respecto al año anterior. En relación a la cifra de negocios, un 47,8% del total se atribuye a las empresas que consideran que la biotecnología es una línea de negocio secundaria, mientras que un 41,24% es generado por empresas donde la biotecnología supone una herramienta necesaria para la producción y el 10,96% restante tiene que ver con las empresas estrictamente biotecnológicas.

Otros datos relevantes del sector fueron la publicaron de 901 patentes en 2013, a pesar de que esta cifra supone un descenso del 15,32% con respecto al año

2012, según datos de la Fundación Parque Científico de Madrid y Clarke Modet, en colaboración con ASEBIO. El 63,26% de las patentes publicadas corresponden a solicitudes y el 36,74% a concesiones. El sector empresarial, con un 32% de las patentes, fue el principal agente que patenta en España, seguido de la universidad (17%) y de los Organismos Públicos de Investigación (13%). La empresa Lipotec es la que tiene un mayor número de patentes publicadas en 2013, con 18 solicitudes y tres concesiones, seguida por Grifols que pasa de la 7ª posición en 2012 a la 2ª. El proyecto de Biomedicina CIMA se sitúa en la 3ª posición con cinco solicitudes y siete concesiones.

En cuanto a las publicaciones científicas de empresas españolas en distintas revistas relevantes, se han computado un total de 260 impactos en 2012, un 5% más respecto al año anterior, cuya titularidad corresponde a 41 entidades. En la primera posición, MSD con 30 publicaciones, seguida de PharmaMar con 27 y de BTI con 25 publicaciones. Cataluña se reafirma como la comunidad autónoma con una mayor concentración de empresas usuarias de biotecnología (18,61%), seguida de Andalucía (14,60%) y la Comunidad de Madrid (13,14%). Por distribución sectorial, destaca el predominio de las empresas de alimentación (68,5%) y salud humana (19,7%) en las empresas usuarias de la biotecnología, mientras que en el caso de las empresas estrictamente biotecnológicas, se invierte el orden: salud humana (52,6%) y alimentación (32,3%).

Entre los liderazgos biotecnológicos españoles a escala global podríamos destacar los siguientes.

- Investigación y fabricación de hemoderivados. La multinacional de origen español Grifols es un referente mundial en la fabricación de hemoderivados y desarrolla en paralelo una actividad muy diversa de colaboración con empresas biotecnológicas locales.
- Investigación y desarrollo de terapias avanzadas (terapia celular y génica) una de las áreas más prometedoras y revolucionarias de la medicina. Una reciente publicación americana, señala a nuestro país como líder europeo en ensayos clínicos con estas terapias
- Contamos con empresas como Abengoa Bioenergy, líder mundial en producción de bioetanol y en el desarrollo de tecnología y productos biotecnológicos industriales; PharmaMar, pionera en el desarrollo de un tratamiento oncológico de origen marino; TiGenix, líder europeo en terapia celular; Merck, cubre las necesidades mundiales de hormona de crecimiento desde su fábrica de Madrid; Oryzon, que acaba de protagonizar la operación

más importante del sector de los últimos meses gracias a su acuerdo con Roche, etc.

- España es sede de una de las mayores ferias biotecnológicas del mundo (BioSpain) organizada por ASEBIO (**Fig. 1**) y que, en su última edición de Santiago de Compostela (24 al 26 de septiembre de 2014), congregó a profesionales de 36 países y contó con la visita de la Ministra de Sanidad y de consejeros de sanidad, medioambiente y economía de todas las Comunidades autónomas de España.



Figura 1. Última edición de BioSpain celebrada en Santiago de Compostela del 24 al 26 de septiembre de 2014,

Ya hemos dado a conocer a los responsables de la promoción de la Marca España estos avances, ya reconocidos en el escenario económico global, y hemos tenido muy buena acogida. Estamos trabajando intensamente para que la biotecnología española pueda estar más presente en nuestra marca país y, de esta manera, contribuir a reforzar internacionalmente el prestigio de nuestra economía y la confianza en nuestras capacidades. Es una condición necesaria para poder remontar pronto la compleja situación que vivimos y aspirar a mayores cuotas de bienestar social.

Sin embargo, todavía queda camino para mejorar en el sector. Tenemos un escenario muy atomizado en el que conviven numerosos proyectos de tamaño muy reducido, que en algunos casos compiten en mercados y productos y en

otros muestran elevadas sinergias tecnológicas, financieras y comerciales. Muchas de estas compañías son además “monoproducto” o “monotecnología” convirtiendo a algunas de estas biotech en una apuesta de “todo o nada”.

Esta atomización es una de las principales debilidades de la biotecnología española, especialmente, en la actual situación de crisis, que sin disminuir la tasa de impulso y aparición de nuevos bioemprendedores, ha provocado un incremento en la tasa de mortalidad de las empresas y, sobre todo, ha ralentizado los planes de crecimiento y expansión de la práctica totalidad de las compañías –por las consabidas dificultades de acceso a crédito y financiación y por la contracción del mercado, especialmente en áreas como la sanidad pública, a la que van dirigidas muchas de las innovaciones del sector-. En paralelo, los pocos inversores activos en el sector, han aumentado sus exigencias de rentabilidad, han bajado el riesgo que están dispuestos a asumir, y buscan proyectos de alto y cada vez más rápido crecimiento. Atomización, falta de financiación, deuda elevada y contracción del mercado público, son los cuatro jinetes de nuestro particular apocalipsis, y preocupaciones principales de la patronal ASEBIO.

Parte de la solución a estos males endémicos podría pasar por una reorganización del sector mediante operaciones de fusión y adquisición. Hasta la fecha han sido pocas, aunque generalmente exitosas, las operaciones de este tipo en el sector español y no parece que nada vaya a cambiar, si no lo provocamos entre todos. Son varias las razones por la que se hace difícil que sean los propios emprendedores los que inicien de manera espontánea esta nueva dinámica, entre las que cabe destacar una falta de conocimiento de posibles “partners” (los proyectos son poco visibles en sus inicios), un excesivo celo de los promotores respecto al control y dirección de sus empresas, siendo reacios a disminuir su participación accionarial en ellas, y una falta de incentivos, tradición y uso empresarial al respecto. Por ello, necesitan un fuerte apoyo desde la Administración que les ayude a dar este paso a través de medidas incentivadoras.

Tras la reorganización del sector, las empresas resultantes, por su mayor tamaño y capacidades, se harían más visibles y atractivas para el inversor, y tendrían en la mayoría de los casos una capacidad de endeudamiento y un valor en el mercado mucho mayor que la suma de los de las sociedades originales consideradas de forma independiente. Evidentemente, los procesos de fusión son la única forma de lograr estos objetivos, pero es un escenario que nuestros emprendedores deberían contemplar, como ya lo hacen sus competidores en el resto del mundo.

Tenemos muchos más retos por delante, enfocados a mejorar el entorno en el que se mueve el sector biotecnológico en España. Estamos trabajando intensamente en difundir la biotecnología al mundo financiero. Hemos trabajado con el sector de capital riesgo pero vamos a ampliar estas actividades a otros ámbitos (grandes fortunas, banca de inversión, bolsa, etc). También estamos trabajando en sensibilizar a la Administración para que sea más flexible con las empresas que han solicitado créditos a la innovación en los años de la crisis, para que puedan asumir la devolución de la deuda sin poner en peligro su propia continuidad. Otros de nuestros objetivos son acercarnos más a Asia y otras economías emergentes, como lo hemos hecho en América Latina, e insistir en la necesidad de reconocer la innovación a todos los niveles, también a la hora de establecer políticas que afecten al gasto farmacéutico.

BIOTECNOLOGÍA Y SALUD HUMANA

La biotecnología en la salud humana: el hito de los anticuerpos monoclonales

José L. Mauriz^{1,2}, Raquel Ordóñez¹, Néstor Prieto-Domínguez¹, Javier González-Gallego^{1,2}

¹ Instituto Universitario de Biomedicina (IBIOMED) y Departamento de Ciencias Biomédicas, Universidad de León. E-24071. León.

² Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Instituto de Salud Carlos III. E-28029. Madrid.

La biotecnología está constituyéndose como una disciplina transversal con interés en diversas áreas como la salud humana y animal, el medioambiente, la agroalimentación, la industria o incluso los recursos marinos.

La denominada biotecnología roja es la que se centra en el cuidado de la salud, e intenta mejorar los procedimientos terapéuticos y diagnósticos, implicando para ello al sector farmacéutico, a la investigación biomédica y al conjunto de las tecnologías médicas.

En la biotecnología roja el camino ha sido largo, con gran número de fracasos pero también con muchos éxitos; en este artículo de divulgación nos centraremos brevemente en la historia de la biotecnología roja y profundizaremos en uno de sus mayores éxitos: la producción y modificación de anticuerpos monoclonales murinos, quiméricos, humanizados y humanos, con interés en el tratamiento de enfermedades humanas, y se analizarán sus posibles efectos secundarios.

Palabras clave: biotecnología roja, cáncer, inmunidad, salud, aplicación médica, terapia humoral.

Enfoque y breve repaso histórico sobre la biotecnología de la salud

El peso de la biotecnología en la sociedad actual se incrementa año a año; así, y a pesar de la crisis económica actual, la facturación de las compañías biotecnológicas españolas superó los 60.000 millones de euros en 2010 (con un incremento del 11% respecto al año anterior), suponiendo el 5,73% del total del PIB español (Biotecnología y Biomedicina, 2013).

La biotecnología clásica utiliza los sistemas biológicos y a los organismos vivos para la obtención de bienes y servicios. En los últimos años, con la aparición de nuevas tecnologías y avances científicos, la biotecnología ha

Forma de mencionar este artículo: Mauriz, J.L. Ordóñez, R., Priego-Domínguez, N., González-Gallego, J., 2014, La Biotecnología en la salud humana: el hito de los anticuerpos monoclonales. AmbioCiencias, 12,12-33. Revista de divulgación científica editada por la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad de León, ISBN: 1998-3021 (edición digital), 2147-8942 (edición impresa). Depósito legal: LE-903-07.

ampliado su área de influencia. La biotecnología no es en sí una ciencia, ya que utiliza un enfoque multidisciplinar para intentar abordar desafíos en diversas áreas de interés para el ser humano y el medioambiente. Así, la biotecnología utiliza transversalmente conocimientos y herramientas de diversas ciencias y disciplinas como la biología, la bioquímica, la inmunología, la ingeniería genética, la fisiología, la ingeniería química, la microbiología, la física, la nutrición, la farmacia, la medicina, la veterinaria, etc, y ofrece nuevas perspectivas a todas ellas. El biotecnólogo se apoya y complementa a los diversos profesionales de todas estas disciplinas (médicos, biólogos, farmacéuticos, etc), debiendo ser en todo momento su relación directa y bidireccional, lo que redundará en mayores beneficios para la sociedad. En lo que respecta a los temas de salud, las áreas de actuación de la biotecnología se suelen centrar en aplicaciones diagnósticas y terapéuticas tanto en salud humana como animal, así como el desarrollo de alimentos funcionales y nutracéuticos. Podemos destacar dentro de este campo la investigación en nuevos abordajes terapéuticos (terapia celular, terapia génica, ingeniería de tejidos), la producción de proteínas recombinantes o de vacunas para el tratamiento de enfermedades, las nuevas estrategias diagnósticas, etc. Esta área, denominada genéricamente *biotecnología roja*, engloba diversos sectores y disciplinas como el sector farmacéutico o la investigación biomédica y de tecnologías médicas.

En este sentido, fueron muy importantes los trabajos pioneros relacionados con los procesos de inmunización de E. Jenner y L. Pasteur (primeras nociones de vacunas y sus aplicaciones); en 1919 Károly Ereky, acuñó el término biotecnología definiéndolo como “*todos los métodos utilizados para convertir materia prima en bienes y servicios para la comunidad, utilizando en alguna etapa organismos vivos o sus productos*” (Ereky, 1919).

Entre otros hitos importantes en el campo de la biotecnología roja se encuentra el descubrimiento de la penicilina por Fleming (1928), investigaciones básicas como las de Griffith (1928), Watson y Crick (1953), el desciframiento del código genético (1958-61), o el descubrimiento de los plásmidos y el desarrollo de técnicas del ADN recombinante (enzimas de restricción, secuenciación, PCR, y otras). En la década de los 70 se ponen a punto las tecnologías de los hibridomas, permitiendo de esta manera la producción de anticuerpos monoclonales (1975) y otros factores recombinantes como la somatotropina (1977) o la comercialización de la insulina recombinante humana (1982). En el año 2001 se publica el borrador de la secuencia del genoma humano (2001) y la identificación de más de 200 genes implicados en la diferenciación de

células madre, lo que facilitará el desarrollo de nuevos productos biotecnológicos como el diseño y producción del primer anticuerpo murino humanizado (*bevacizumab*).

Como queda plasmado, la biotecnología médica (roja) aplicada a la salud busca nuevos tratamientos para un gran número de patologías, usando tecnologías basadas en anticuerpos monoclonales, péptidos, silenciamiento de genes, etc. (Espiritu et al., 2014).

Anticuerpos monoclonales de interés en salud humana: un gran éxito de la biotecnología

Sería tedioso el analizar cada uno de los hitos y avances que la biotecnología ha proporcionado a la salud humana. Por ello, a partir de ahora nos centraremos en este artículo en uno de los mayores éxitos de la biotecnología: la puesta a punto de anticuerpos monoclonales y su modificación para el tratamiento de patologías humanas, analizando cuáles son actualmente las principales enfermedades que pueden beneficiarse de su uso e indicando sus características básicas.

Producción y modificación de anticuerpos monoclonales de interés en salud humana

En relación con la producción de anticuerpos un hito importante en biotecnología lo constituyó la puesta a punto de la tecnología de los hibridomas, que permite la obtención de anticuerpos monoclonales, de gran pureza y capaces de reconocer y unirse a un epítipo concreto de un antígeno específico. Así, tras la inmunización de un ratón con el antígeno de interés, se extraen las células B (productoras de anticuerpos) y se fusionan con células tumorales derivadas de mieloma (hipoxantina-guanina-fosforribosil-transferasa negativas, HPRT-/-), con el objeto de impedir la muerte de las primeras (que soportan pocos días en cultivo). Posteriormente, se hace un “screening” y selección de clones en un medio conteniendo HAT (hipoxantina, aminopterina y timidina) en el que solo crecerán los hibridomas; finalmente se lleva a cabo la expansión del clon de mayor interés y la purificación de los anticuerpos (Köhler y Milstein, 1975) (**Fig. 1**).

En los últimos años, los anticuerpos monoclonales constituyen un elemento fundamental en la investigación biomédica en campos tan dispares como la detección de proteínas o la inhibición de dianas terapéuticas en el tratamiento de diversas patologías como el cáncer, la artritis, el rechazo a órganos trasplantados, la psoriasis, el asma, etc. (Banerjee, 2010). En el campo del diagnóstico han mejorado técnicas como el ELISA, pruebas de embarazo, test para la detección de la diabetes, presencia de antibióticos en la leche, etc.

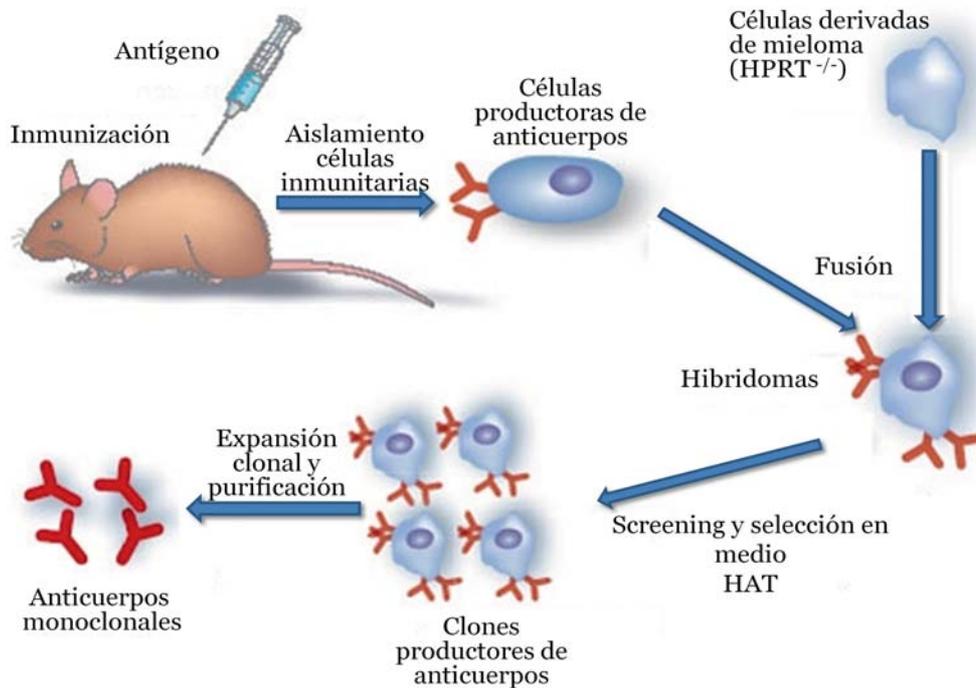


Figura 1. Obtención de anticuerpos monoclonales a partir de hibridomas (Modificado de Michnick y Sidhu, 2008).

Desde la irrupción de los anticuerpos monoclonales se ha tratado de sacar provecho de los mismos en el campo de la biomedicina. El primer anticuerpo monoclonal autorizado en humanos fue el denominado muromonab-CD3, cuya diana eran los antígenos CD3 de los linfocitos T y que se usó en el tratamiento del rechazo en el trasplante de riñón. Sin embargo, el uso de anticuerpos de origen murino hacía que muchos pacientes desarrollaran una respuesta de anticuerpos humanos anti-inmunoglobulinas murinas (HAMA, *Human Anti-Murine Antibodies*), produciéndose efectos adversos graves como nefrotoxicidad o reacciones anafilácticas, además de contar con una corta vida media en plasma (Genoma España, 2008).

Para evitar los efectos adversos de los anticuerpos monoclonales murinos, se han construido anticuerpos monoclonales (i) quiméricos, (ii) humanizados y (iii) completamente humanos, mediante técnicas de ingeniería genética. Los quiméricos conservan solo secuencias murinas en las regiones variables del anticuerpo, los humanizados poseen aproximadamente un 90% de la secuencia humana, y los completamente humanos el 100% (Kim et al., 2005; Brekke y Sandlie, 2003) (**Fig. 2**).

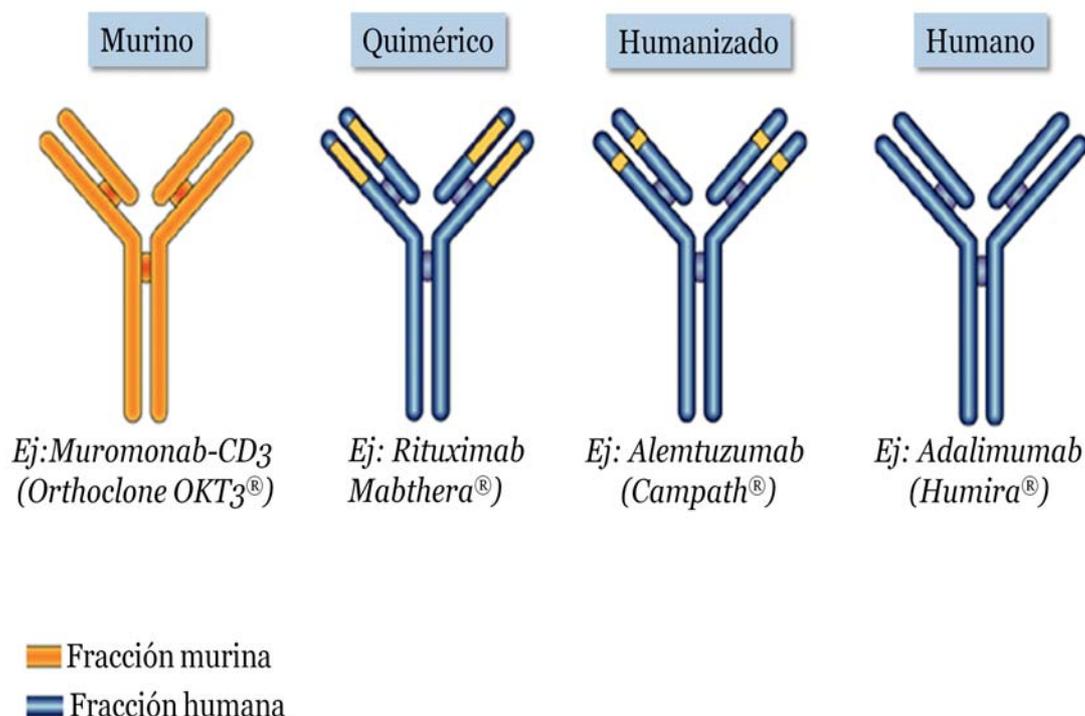


Figura 2. Tipos de anticuerpos monoclonales con interés en terapéutica humana (Modificado de Brekke y Sandlie, 2003 y de Casanova-Estruch, 2013).

Mientras que la producción de anticuerpos monoclonales murinos mediante hibridomas es relativamente sencilla, la producción de anticuerpos monoclonales humanos es muy compleja y presenta baja productividad. Así, ha sido necesario poner a punto otros métodos más complejos para la producción de anticuerpos humanos como las tecnologías Phage-Display o Ribosome-Display, la construcción de hibridomas humanos, la expresión en *Escherichia coli* y en eucariotas de las construcciones, el desarrollo de ratones transgénicos que expresen los genes de las inmunoglobulinas humanas, el uso de librerías de anticuerpos, o incluso la obtención de plantas transgénicas como variedades del maíz, tabaco, arroz, *Arabidopsis thaliana* o *Lemna minor* (Smith et al., 2005; Genoma España, 2008; Fox, 2006; Brekkey Sandlie, 2003).

También se han usado diversas técnicas de modificación para optimizar anticuerpos monoclonales mejorando sus capacidades terapéuticas y su potencial uso en el diagnóstico de patologías. Algunas de ellas quedan resumidas en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Modificaciones para la optimización de anticuerpos monoclonales de interés para su uso terapéutico y diagnóstico (modificado de Ducancel y Muller, 2014).

Tipo de modificación	Interés terapéutico	Interés diagnóstico
Modificación de la inmunogenicidad	+	-
Mejora de la afinidad y/o especificidad por el antígeno	+	+
Mejora de la afinidad y/o especificidad por el receptor Fc γ R	+	-
Incremento de la solubilidad	+	+
Incremento de la estabilidad y la vida media en suero	+	+(principalmente en técnicas de imagen)
Modificaciones propiedades bioquímicas (glicosidación, punto isoeléctrico, etc.)	+	+
Marcaje	-	+++

Anticuerpos monoclonales en el tratamiento del cáncer

Posiblemente, los mejores resultados clínicos del uso de anticuerpos producidos biotecnológicamente se han alcanzado en el tratamiento del cáncer. Cualquier científico o médico interesado por la fisiopatología y el tratamiento de esta patología se encuentra con una gran dificultad dado que el cáncer es realmente un conjunto de más de 120 enfermedades diferentes. No obstante, la mayoría de los cánceres se caracterizan por un incremento en la proliferación celular, incremento en la formación de vasos sanguíneos, que favorecen un mayor aporte de nutrientes y oxígeno a las células tumorales y que permite su salida hacia otros tejidos (metástasis), reducción en la apoptosis, inflamación, etc.

Gracias a las herramientas biotecnológicas se han diseñado diferentes estrategias contra el cáncer que utilizan este tipo de anticuerpos monoclonales como:

- Inhibidores de la proliferación de células tumorales, para ello se pueden bloquear los factores de crecimiento: como el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), el factor de crecimiento epidérmico (EGF) o a sus correspondientes receptores (VEGFR, EGFR, Her, etc), bloqueando las señales de inducción de la proliferación de las células tumorales (inhibiendo su división) y de las células endoteliales de los vasos sanguíneos más próximos al tumor (inhibiendo la angiogénesis o formación de nuevos vasos sanguíneos

- a partir de otros pre-existentes, impidiendo la llegada de oxígeno y la salida de las células tumorales para la formación de metástasis) (Mauriz et al., 2003; Mauriz y González-Gallego, 2008; Carbajo-Pescador et al., 2013). Algunos de estos ejemplos son los anticuerpos (i) humanizados bevacizumab, anti-VEGF indicado para el tratamiento de carcinomas metastásicos de colon, recto o mama, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer renal avanzado/metastásico, etc. y trastuzumab con acción anti-HER2 y utilizado en pacientes con cáncer de mama precoz o metastásico y cáncer gástrico metastásico; (ii) el humano panitumumab, anti-EGFR en carcinoma colorrectal metastásico o (iii) el quimérico cetuximab, anti-EGFR con interés para el tratamiento de cáncer colorrectal o cáncer de células escamosas de cabeza y cuello (Kirkwood et al., 2012).
- Marcadores de células tumorales para facilitar su detección y posterior destrucción por el sistema inmune; para ello se usan anticuerpos monoclonales que se unen a antígenos solo presentes en las células tumorales (Kirkwood et al., 2012). Un ejemplo es el anticuerpo quimérico rituximab, que se une a la proteína CD20 sobre-expresada en células B a lo largo de su diferenciación, estando indicado para el tratamiento de linfoma no Hodgkin y de la leucemia linfocítica crónica (Fowler, 2010).
 - Radioinmunoterapia y diagnóstico, mediante la unión de moléculas radiactivas a los anticuerpos monoclonales específicos contra antígenos que se expresan solo en las células tumorales. Esto permite realizar diagnóstico *in vivo* (observando dónde se acumula la radioactividad en el organismo del paciente), en biopsias (usando fragmentos de tejido provenientes del paciente) o terapia (induciendo la destrucción de las células tumorales por la radiación administrada). Ejemplos de anticuerpos monoclonales en radioinmunoterapia son los anticuerpos murinos ibritumomab-tiuxetan y tositumomab, ambos específicos de CD20 y que presentan interés para el tratamiento de linfomas no Hodgkin (Kitson et al., 2013).
 - Transportadores de otros medicamentos más potentes, por conjugación de anticuerpos monoclonales con moléculas citotóxicas. Así, cuando el anticuerpo se une a la célula tumoral, el componente citotóxico entra en el interior de dicha célula e induce su muerte. Un ejemplo es el anticuerpo quimérico brentuximab-vedotin, un anticuerpo anti-CD30 que está unido de forma covalente a un agente inhibidor de microtúbulos denominado monometil auristatina E (MMAE) que se utiliza para el tratamiento del linfoma anaplásico de células grandes (Cao et al., 2013). Otro ejemplo es

Mylotarg®, en el que se conjuga el anticuerpo monoclonal humanizado gemtuzumab (anti-CD33) con la molécula citotóxica ozogamicina, que puede tener utilidad en el tratamiento de leucemia mieloide aguda (Kharfan-Dabaja, 2014).

Anticuerpos monoclonales en el tratamiento de enfermedades autoinmunes

Además de su uso en terapia del cáncer, el uso de anticuerpos monoclonales tiene interés para combatir algunas enfermedades autoinmunes originadas por una desequilibrada respuesta del sistema inmune contra los tejidos sanos del propio paciente. Estas enfermedades son variadas y su tratamiento a día de hoy bastante complicado, lo que ha llevado al desarrollo de anticuerpos que pueden ser de utilidad.

- En el caso de la artritis reumatoide, enfermedad crónica que ocasiona la inflamación de las articulaciones, tejidos circundantes y de otros órganos, se han diseñado anticuerpos contra el antígeno CD20 de los linfocitos B (concretamente el quimérico rituximab) y contra el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa; el humano adalimumab y el quimérico infliximab), bloqueando sus efectos inflamatorios (Smolen et al., 2014). Además, se está investigando con anticuerpos contra otras moléculas moduladoras de la respuesta autoinmune como CD3, citoquinas (como las interleuquinas IL-1, IL-12, IL-15, IL-23) y desarrollando nuevos anticuerpos, fragmentos de anticuerpos y aptámeros conjugados con polietilenglicol (Alghasham y Rasheed, 2014; Pasut, 2014).
- En la psoriasis, enfermedad también capaz de inducir artritis (artritis psoriásica), además de los anti-TNF-alfa ya indicados se ha usado un anticuerpo humanizado anti-CD11 denominado efalizumab, que se ha retirado en varios países (entre ellos España) por inducir en algunos casos encefalopatía. En la actualidad se están desarrollando otros tratamientos también basados en anticuerpos, como ustekinumab, anticuerpo humano dirigido contra la proteína P40 de las interleuquinas IL-12 e IL-23 (Piaserico, 2014). Para el tratamiento de la artritis psoriásica, de forma similar a lo que se hace con la artritis reumatoide, se usan los ya mencionados anti-TNF-alfa como adalimumab o infliximab, y se están desarrollando nuevos anticuerpos contra otras dianas como las citoquinas IL-12 e IL-15 (Genoma España, 2008).
- En el caso de la enfermedad de Crohn, enfermedad autoinmune que provoca la inflamación crónica del intestino, se han usado diversos anticuerpos anti-

- TNF-alfa monoclonales (el humano adalimumab, y el quimérico infliximab), anticuerpos anti-integrinas alfa4-beta7 o alfa4-beta1 de la superficie leucocitaria como el humanizado vedolizumab o el humano natalizumab y anticuerpos anti-P40 de las interleuquinas IL-12 e IL-23 como el humano ustekinumab. No obstante, en la actualidad se están intentando desarrollar anticuerpos contra CD3, CD19, CD20 o CD22 (Hutfless et al., 2014).
- La esclerosis múltiple es una enfermedad debilitadora en la que el sistema inmune destruye la mielina afectando a la comunicación en el sistema nervioso central y en otras partes del cuerpo; por ahora no cuenta con un tratamiento efectivo y se conforma con el control de los síntomas. En esta enfermedad se está usando el ya citado anticuerpo humano natalizumab, se ha autorizado en Europa el uso de otros como el anti-CD52 humanizado denominado alemtuzumab y se está estudiando el uso del humanizado anti-CD25 daclizumab (Sorensen, 2014; Giovannoni et al., 2014).

Anticuerpos monoclonales en el tratamiento de enfermedades pulmonares

Los anticuerpos monoclonales también tienen potencial interés en el tratamiento de algunas enfermedades pulmonares, como el asma alérgica, y en la profilaxis de otras como las causadas por el virus respiratorio sincitial (RSV).

En el asma alérgica se produce un incremento en la producción de inmunoglobulinas IgE por parte del sistema inmune en respuesta a la presencia de alérgenos, lo que lleva a la inflamación de las vías aéreas. Por el momento, ha salido al mercado el anticuerpo monoclonal humano omalizumab, el cual es capaz de unirse a la IgE reduciendo su niveles en plasma e impidiendo la unión con sus receptores; además es capaz de reducir la expresión de su receptor FCεRI en mastocitos y basófilos (Kupczyk y Kuna, 2014). En esta patología, también se están estudiando otros anticuerpos monoclonales anti-leuquinas IL-4, IL-9, IL-13 (Genoma España, 2008).

El uso de anticuerpos monoclonales frente RSV, patología viral que afecta a neonatos y niños ocasionando infecciones respiratorias graves, se inició con el uso del anticuerpo humanizado palivizumab cuya diana es el antígeno A de la proteína de fusión F, implicada en la entrada del RSV en el hospedador. Una segunda generación de anticuerpos derivados del anterior generó el motavizumab, 20 veces más potente que el anterior y que permite la administración de dosis más bajas (Turner et al., 2014).

Anticuerpos monoclonales en el tratamiento de enfermedades víricas

En las últimas décadas la aparición de nuevas enfermedades de origen vírico ha promovido el uso de anticuerpos que impidan la proliferación de los virus en los pacientes. Tal como hemos indicado anteriormente, hasta la fecha los mejores resultados se han obtenido con palivizumab y motavizumab para el tratamiento del RSV. Sin embargo, se ha estado investigando la generación y aplicación de nuevos anticuerpos contra otros virus como el de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (HIV-1), el virus del Ébola (EBOV), o el coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV). Incluso se ha llegado a describir un nuevo tipo de anticuerpos monoclonales denominado anticuerpos neutralizantes de amplio espectro (“bnAbs”), capaces de neutralizar un gran espectro de variantes genéticas de un virus determinado (Zhu et al., 2013).

- El síndrome de inmunodeficiencia humana adquirida (SIDA), debido a la infección con HIV-1, se caracteriza por el debilitamiento del sistema inmunitario del paciente, con una reducción en los linfocitos T CD4, haciendo al paciente más vulnerable a infecciones e incluso a tumores potencialmente mortales. En la actualidad no existe tratamiento totalmente efectivo ni vacuna contra esta enfermedad, por lo que el uso de anticuerpos presenta mucho interés. Ya en los años 90 se describieron 4 tipos de “bnAbs” contra el HIV-1 denominados 2G12, b12, 2F5 y 4E10, donde los dos primeros reconocían epítomos en la glicoproteína de la envoltura viral gp120, y los dos últimos reconocían epítomos en la glicoproteína gp41. Además, muchos anticuerpos monoclonales, con cierta capacidad de neutralización, fueron posteriormente aislados de pacientes o producidos sintéticamente, incluyendo anticuerpos contra CD4 para evitar la unión del virus (como los denominados F105, b13, m14, m18, VRC01 o VRC02) y contra epítomos inducidos por CD4i (como los anticuerpos 17b, 48d, 47e, E51, 412d o X5); sin embargo, los resultados terapéuticos no han resultado satisfactorios (Zhu et al., 2013). En los últimos años, mediante diversas técnicas, como la citometría de flujo y la ultra-secuenciación, se han aislado y analizado un gran número de anticuerpos frente a marcadores gp120 y CD4 provenientes de pacientes que permitirán en un futuro la generación, mediante técnicas de ingeniería genética, de algún anticuerpo con potencial utilidad clínica para el tratamiento y la prevención del SIDA (Prabakaran et al., 2012; Chen et al., 2012). No obstante, en el caso del HIV-1 parece más útil el diseño de pequeños dominios de anticuerpos (eAds, del inglés *Engineered antibody domains*), con tamaños de 11-15 kDa,

que el uso de anticuerpos completos. Así, M36 fue el primer eAds sintetizado contra CD4i y parece mostrar una cierta capacidad *in vitro* para neutralizar al HIV-1 (Chen et al., 2008). En la actualidad se está intentando producir nuevos eAds a partir de librerías conteniendo secuencias del dominio variable de cadenas pesadas de anticuerpos de camélidos inmunizados con HIV-1; se logran así los denominados nanoanticuerpos o nanobodies, obteniendo resultados prometedores contra proteínas presentes en la cubierta del virus (Strokappe et al., 2012).

- Recientemente, el EBOV ha encabezado las noticias en todos los medios de comunicación debido al brote aparecido en África occidental, con tasas de mortalidad cercanas al 90%, y para el cual no existe de momento ni tratamiento ni vacuna. EBOV, también conocido como ebolavirus Zaire, pertenece al género *Ebolavirus* junto con otros cuatro serotipos diferentes: ebolavirus Bundibugyo (BDBV), ebolavirus Reston (RESTV), ebolavirus Sudán (SUDV) y ebolavirus Taï Forest (TAFV). Los brotes aparecidos recientemente en África se han asociado principalmente con EBOV y en menor medida con BDBV y SUDV. Por otro lado, RESTV se ha encontrado en Filipinas y China, pudiendo potencialmente infectar a humanos aunque hasta la fecha no se han comunicado casos de enfermedad humana ni muertes. La enfermedad del Ébola cursa con hipertermia, dolor muscular y debilidad, dolor de garganta y cabeza, diarrea, vómitos, erupciones cutáneas, disfunción hepática y renal, disminución de leucocitos y plaquetas, hemorragias, coagulación intravascular diseminada, hipotensión arterial, etc (WHO, 2014). Hasta la fecha se han obtenido diversos anticuerpos monoclonales contra las glicoproteínas GP1 y GP2 de la envoltura que recubre la cápsida del EBOV con resultados diversos; así, el anticuerpo KZ52 neutraliza al virus *in vitro* pero no protege a los primates de la infección (Friedrich et al., 2012), algo que sí parecen lograr los monoclonales humanos ch133 y ch226 (Marzi et al., 2012). Ninguno de los anticuerpos desarrollados ha llegado a testarse en ensayos clínicos (Clinical Trials), pero debido a la gravedad de los brotes de 2014 se ha administrado a algunos pacientes en Estados Unidos, España y África un suero denominado ZMapp que contiene un cocktail de tres anticuerpos monoclonales humanizados que han demostrado buenos resultados en los ensayos preclínicos en simios (Goodman, 2014). ZMapp combina, de manera aún no descrita claramente por motivos comerciales, los anticuerpos más eficientes provenientes de otros dos productos previos denominados MB-003 (compuesto a su vez por los monoclonales 13C6, 13F6

y 6D8, todos ellos dirigidos contra diversos epítomos de glicoproteínas de la envoltura de EBOV) y ZMAb (cuyos monoclonales, también dirigidos contra glicoproteínas de EBOV, aún no han sido publicados) (Pettitt et al., 2013; Qiu et al., 2013). Los resultados obtenidos con ZMapp en los 3 pacientes humanos ensayados no son concluyentes.

En el caso del SARS-CoV, este virus causa el denominado síndrome respiratorio agudo severo, caracterizado por una serie de síntomas poco específicos como hipertermia, problemas respiratorios leves, neumonía e infiltración pulmonar, que puede desembocar en la muerte del paciente (CDC, 2012). Actualmente, se están estudiando “bnAbs” principalmente dirigidos contra las subunidades 1 y 2 (S1 y S2) de glicoproteínas presentes en la cápsida del SARS-CoV. Aunque los resultados todavía no han llegado a la clínica, en la última década se ha realizado un gran esfuerzo investigador que podría desembocar en la generación de vacunas y terapias basadas en algunos de estos anticuerpos (Zhu et al, 2013). Así, podríamos destacar la generación de bnAbs denominados 4D4, 1F8 o 5E9 dirigidos contra regiones altamente conservadas de S2 y que han demostrado gran capacidad de neutralización en estudios *in vitro* realizados con muestras provenientes de pacientes infectados con SARS-CoV (Elshabrawy et al., 2012).

Anticuerpos monoclonales en el tratamiento del rechazo de trasplantes

España es líder mundial, con 34,6 donantes por millón de habitantes, en la donación y trasplante de órganos (ONT, 2014). Pero no solo es necesario contar con donantes de órganos, es también necesario mejorar en las técnicas quirúrgicas y de rechazo de los trasplantes, debido a que el organismo del receptor reconocerá como extraño el órgano trasplantado, inducirá la respuesta inmune frente al órgano. Las técnicas de inmunosupresión o inmunomodulación atenuan la respuesta inmune mediante el uso de diversas moléculas, entre ellas anticuerpos monoclonales que pueden reconocer específicamente receptores de membrana presentes en los linfocitos implicados en dicha respuesta (Genoma España, 2008). Muromonab-CD3, cuya diana es el antígeno CD3 de los linfocitos T, fue el primer anticuerpo monoclonal usado en humanos y fue autorizado en su momento para evitar el rechazo en el trasplante de riñón (Webster et al., 2006). Posteriormente se autorizaron el monoclonal humanizado daclizumab y el quimérico basiliximab, ambos dirigidos contra la cadena alfa del receptor IL-2 de los linfocitos T activados, indicado el primero contra el rechazo del trasplante hepático y el segundo contra el rechazo renal

(Campara et al., 2010). El monoclonal humanizado alemtuzumab reconoce la proteína CD52 presente en la superficie de los linfocitos T y ha demostrado su efectividad anti rechazo en el trasplante renal, de médula ósea y de pulmón (Sidaway, en prensa; Scheffert y Raza, 2014).

La lucha contra el rechazo en los trasplantes ha llevado incluso a autorizar algunos fármacos huérfanos (aquellos que pueden llegar a ser útiles en el tratamiento de enfermedades raras y que por las condiciones del mercado no tienen interés para la industria farmacéutica). Así, en marzo de 2013 la Agencia Europea del Medicamento (EMA) inició los trámites de autorización como fármaco huérfano de un anticuerpo monoclonal murino (que aún no ha recibido una denominación pública) y cuya diana es el receptor alfa-beta de los linfocitos T, y que puede ser útil para evitar el rechazo en el trasplante de diversos órganos (EMA, 2013).

¿Es oro todo lo que reluce? Efectos adversos de los anticuerpos monoclonales utilizados en terapia

El gran desarrollo de la biotecnología ha permitido la generación de un amplio número de anticuerpos monoclonales con interés en el tratamiento de enfermedades, con la autorización por las agencias reguladoras de medicamentos, como la americana FDA o la EMA, de más de 30 anticuerpos para su uso en humanos (Beck et al, 2010).

Desde el primer momento los clínicos se han percatado de un buen número de efectos adversos de este tipo de anticuerpos cuando son administrados a humanos. Muchos de los esfuerzos de la investigación básica y de la industria biotecnológica han pasado por la optimización de los anticuerpos monoclonales murinos al transformarlos en anticuerpos totalmente humanos, con objeto de reducir los principales efectos adversos observados en los pacientes. No obstante, este procedimiento no es posible en todos los casos.

Uno de los primeros fenómenos descritos al usar anticuerpos monoclonales murinos en clínica se relacionaba con su alta inmunogenicidad, lo que provocaba la activación del propio sistema inmune del paciente contra los anticuerpos suministrados, provocando incluso reacciones alérgicas graves que podían llegar a ser fatales. La irrupción de los anticuerpos monoclonales quiméricos ha reducido en gran medida la inmunogenicidad y la gravedad de los efectos adversos, pero siguen siendo capaces de inducir la aparición de los denominados anticuerpos humanos anti-anticuerpos quiméricos (HACA) y, por ello, de producir problemas en los pacientes (Li et al., 2014).

Entre los principales efectos adversos observados tras el tratamiento con anticuerpos monoclonales podemos destacar los siguientes:

- Reacciones de hipersensibilidad (HSRs). Suelen aparecer de forma inmediata tras la infusión de los anticuerpos monoclonales. Su mecanismo todavía no está totalmente elucidado, pero probablemente implica a los mastocitos y a vías tanto dependientes como independientes de las inmunoglobulinas (IgE) (Brennan et al., 2009; Li et al., 2014). Las HSRs varían de intensidad y de duración según el paciente y el anticuerpo monoclonal administrado, incluyendo desde una simple reacción, hasta la enfermedad del suero, broncoespasmos o angioedema, pudiendo inducir en los casos más graves la muerte del paciente por anafilaxia (Kleyman y Weintraub, 2012). En el caso de anticuerpos quiméricos como rituximab, se ha observado la aparición de HSRs que cursan además con náuseas, fiebre, hipotensión, dolor de cabeza, angioedema, síntomas respiratorios y reacciones cutáneas severas (Goetsch, 2011; Zebardast et al., 2010). También se han descrito HSRs cuando se utilizan anticuerpos quiméricos como infliximab o basiliximab, humanizados como bevacizumab, e incluso humanos como omalizumab, por lo que están siendo objeto de seguimiento por la FDA (Li et al., 2014). Para evitar estos problemas, se puede tratar al paciente con esteroides antes de la administración del anticuerpo, reducir la velocidad de infusión del mismo o intentar su desensibilización (Hong et al., 2012). No obstante, la mejor opción pasa por incrementar la investigación que permita el diseño de nuevos anticuerpos monoclonales con menor capacidad para inducir HSRs.
- Reacciones cutáneas. La toxicidad cutánea es frecuente en algunas terapias basadas en anticuerpos monoclonales, como por ejemplo las dirigidas contra el receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico (EGFR) que utilizan bien el anticuerpo quimérico cetuximab o el humano panitumumab, interfiriendo con la vía de señalización de crecimiento epidérmico folicular e interfolicular, alterando de esta forma la proliferación, diferenciación, migración y anclaje de los queratinocitos, cursando con picores, dermatitis, prurito, erupciones, etc. (Woodworth et al., 2005; Li et al., 2014). Por otro lado, anticuerpos monoclonales anti-TNF-alfa como el quimérico infliximab o el humano adalimumab, pueden inducir la formación de erupciones de tipo psoriásico. A día de hoy se puede intentar reducir la toxicidad cutánea administrando a los pacientes diversos emolientes y esteroides tópicos, pero los resultados son variables según el individuo, el anticuerpo usado y la enfermedad que se está tratando (Li et al., 2014).

- Infecciones. El tratamiento con anticuerpos monoclonales, principalmente con aquellos cuya diana terapéutica es TNF-alfa, que juega un papel importante en la respuesta inmune, se ha relacionado con cierto nivel de inmunosupresión del paciente. Así, se ha descrito que el tratamiento con infliximab, adalimumab y con otros anti-TNF-alfa incrementa el riesgo de reactivación de tuberculosis, hepatitis B latentes o infección con virus Zoster (Rybar et al., 2008; Pérez-Álvarez, et al., 2011; Shale, 2009). De manera similar, el uso de anticuerpos monoclonales contra CD20, como rituximab en pacientes con linfoma parece producir la reactivación de hepatitis B latentes, e infecciones con citomegalovirus, herpes simples, virus Zoster, etc (Watanabe et al., 2011; Aksoy et al., 2007).
- Tumores. Paradójicamente, a pesar de la gran utilidad del uso de los anticuerpos monoclonales en el tratamiento del cáncer, su empleo se ha relacionado ocasionalmente con la aparición de tumores secundarios. Sin embargo, no queda claro si estos tumores secundarios se forman debido a la enfermedad primaria o como consecuencia al tratamiento con monoclonales. Los datos disponibles indican que el tratamiento con monoclonales anti-TNF-alfa se ha relacionado con un incremento en la aparición de mieloma múltiple o de linfoma no-Hodgkin en pacientes afectados con artritis reumatoide (Setoguchi et al., 2006). En pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal o con enfermedad de Crohn se ha observado una mayor incidencia de linfomas tras tratamientos con infliximab (Williams et al., 2014).
- Otras complicaciones. Con menor frecuencia el uso de algunos monoclonales, principalmente anti-TNF-alfa, se ha relacionado con un incremento en la aparición de enfermedades autoinmunes como lupus eritematoso, enfermedad pulmonar intersticial o hepatitis autoinmunes (Li et al., 2014). También se han descrito algunos casos de toxicidad en el sistema nervioso (como leucoencefalopatía multifocal progresiva) que se han relacionado con una mayor sensibilidad frente a las infecciones en pacientes tratados con rituximab (Carson et al., 2009). El uso de abciximab, cuya diana principal es la glicoproteína GPIIb/IIIa bloqueando la agregación plaquetaria, se ha relacionado con trombocitopenia e incremento en la probabilidad de hemorragia intracraneal (Ciccione et al., 2014). Finalmente, el tratamiento con monoclonales capaces de bloquear a VEGF, como bevacizumab, puede favorecer la aparición de perforación intestinal e incluso nefropatía (Li et al., 2014).

Por todo ello, está claro que además del trabajo de los científicos para lograr reducir las toxicidades y los efectos secundarios, es necesario que los pacientes objeto de tratamiento con un monoclonal específico sean seleccionados cuidadosamente desde el punto de vista clínico, siendo administrados dichos anticuerpos por personal bien entrenado y en instalaciones hospitalarias preparadas para responder ante cualquier tipo de efecto secundario o reacción no deseada (Casanova-Estruch, 2013).

Nuevas perspectivas en el uso y generación de anticuerpos monoclonales con interés en salud humana

Muchas son las líneas en las que se está trabajando en la actualidad para optimizar y extender el uso de los monoclonales con fines terapéuticos. Una de las estrategias más útiles para la obtención de nuevos anticuerpos sintéticos consistiría en la generación de librerías, permitiendo producir anticuerpos estables, capaces de reconocer diversos antígenos con alta afinidad y especificidad (Adams y Sidhu, 2014). Así, las librerías miméticas naturales intentan recoger la diversidad de anticuerpos naturales mediante la amplificación de los genes que codifican para la región variable de las cadenas pesadas y ligeras de los anticuerpos disponibles (CDRs, regiones determinantes de la complementariedad), para posteriormente modificarlas mediante técnicas de recombinación *in vitro* y obtener una nueva colección de anticuerpos (Bowers et al., 2013).

La modificación del fragmento Fc (fragmento cristalizante de la cadena pesada, responsable de la unión a receptores celulares específicos y a proteínas del complemento) puede favorecer un incremento en la vida media del anticuerpo, y mejorar su capacidad para aumentar tanto la citotoxicidad celular mediada por anticuerpos, como la citotoxicidad dependiente del complemento (Buss et al., 2012).

Otro aspecto de interés en investigación son los anticuerpos monoclonales biespecíficos, esto es, anticuerpos constituidos por múltiples dominios de unión en la misma molécula permitiéndoles interactuar con al menos dos antígenos diferentes, lo que mejora sus propiedades terapéuticas e incluso su farmacocinética (Buss et al., 2012). Los biespecíficos no deben confundirse con los cocktails de anticuerpos, como el ya indicado ZMapp que consiste en soluciones conteniendo diversos anticuerpos. El primer biespecífico aprobado para su uso es el denominado catumaxomab, utilizado para el tratamiento de la ascitis maligna en pacientes con carcinoma positivo para la

molécula de adhesión de células epiteliales humanas (Ep-CAM) (Linke et al., 2010).

La generación de anticuerpos monoclonales conjugados con diversos tipos de drogas también parece una línea prometedora, pero dependerá de la mejora de los sistemas sintéticos de unión (linkers escindibles: disulfuro, hidrazona, péptidos enlazadores; o no escindibles: tioéteres) y su impacto en la eficacia de estos conjugados (Buss et al., 2012).

Para concluir, como ocurre en todos los campos de la biomedicina, no debemos olvidar la importancia de la colaboración entre personal investigador y clínico, algo que en nuestra Universidad de León se está llevando a cabo en centros como el Instituto Universitario de Biomedicina (IBIOMED). Así, deben analizarse profundamente los efectos secundarios observados en los pacientes tras el tratamiento con anticuerpos monoclonales, y estudiar los mecanismos celulares y moleculares, con objeto de evitarlos o reducir su gravedad. Además, el estudio de la fisiopatología y de la clínica de las diversas enfermedades puede arrojar luz sobre las mejores dianas terapéuticas disponibles y sobre la generación de nuevos anticuerpos con utilidad en medicina. No cabe duda que en las próximas décadas el uso de anticuerpos monoclonales y de nuevas técnicas biotecnológicas permitirá vencer enfermedades tanto humanas como animales, mejorando la calidad y esperanza de vida de los individuos.

Bibliografía

- Adams, J.J. y Sidhu, S.S. 2014. Synthetic antibody technologies. *Current Opinion in Structural Biology*. 24:1-9.
- Aksoy, S. et al., 2007. Rituximab-related viral infections in lymphoma patients. *Leukemia & Lymphoma*. 48:1307-1312.
- Alghasham, A. y Rasheed, Z. 2014. Therapeutic targets for rheumatoid arthritis: Progress and promises. *Autoimmunity*. 47:77-94.
- Banerjee, J. 2010. Antibodies are challenged. *Indian Journal of Medical Sciences*. 64:144-147.
- Beck, A. et al., 2010. Strategies and challenges for the next generation of therapeutic antibodies. *Nature Reviews. Immunology*. 10:345-52.
- Biocología y Biomedicina. 2013. Informe sectorial. Ayuntamiento de Barcelona, Barcelona, España.
- Bowers, P.M. et al., 2013. Mammalian cell display for the discovery and optimization of antibody therapeutics. *Methods*. 65:44-56.
- Brekke, O.H y Sandlie, I. 2003. Therapeutic antibodies for human diseases at the dawn of the twenty-first century. *Nature Reviews. Drug Discovery*. 2:52-62.
- Brennan, P.J. et al., 2009. Hypersensitivity reactions to mAbs: 105 desensitizations in 23 patients, from evaluation to treatment. *The*

- Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 124:1259-66.
- Buss, N.A. et al., 2012. Monoclonal antibody therapeutics: history and future. *Current Opinion in Pharmacology*. 12: 615-622.
- Campara, M. et al., 2010. Interleukin-2 receptor blockade with humanized monoclonal antibody for solid organ transplantation. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 10:959-969.
- Cao, H. et al., 2013. Brentuximab vedotin: first-line agent for advanced Hodgkin lymphoma. *Anticancer Research*. 33:3879-3885.
- Carbajo-Pescador, S. et al., 2013. Inhibition of VEGF expression through blockade of Hif1 α and STAT3 signalling mediates the anti-angiogenic effect of melatonin in HepG2 liver cancer cells. *British Journal of Cancer*. 109:83-91.
- Carson, K.R. et al., 2009. Monoclonal antibody-associated progressive multifocal leucoencephalopathy in patients treated with rituximab, natalizumab, and efalizumab: a Review from the Research on Adverse Drug Events and Reports (RADAR) Project. *Lancet Oncology*. 10:816-824.
- Casanova-Estruch, B. 2013. Safety profile and practical considerations of monoclonal antibody treatment. *Neurologia*. 28:169-178.
- CDC. 2012. Centers for Disease Control and Prevention. Severe acute respiratory syndrome (SARS). <http://www.cdc.gov/sars/index.html> (acceso: 22/08/2014).
- Chen, W. et al., 2012. Characterization of germline antibody libraries from human umbilical cord blood and selection of monoclonal antibodies to viral envelope glycoproteins: Implications for mechanisms of immune evasion and design of vaccine immunogens. *Biochemical Biophysical Research Communications*. 417:1164-1169.
- Chen, W. et al., 2008. Human domain antibodies to conserved sterically restricted regions on gp120 as exceptionally potent cross-reactive HIV-1 neutralizers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 105:17121-17126.
- Ducancel, F. y Muller, B.H. 2014. Molecular engineering of antibodies for therapeutic and diagnostic purposes. *Monoclonal Antibodies*. 4:445-457.
- Elshabrawy, H.A. et al., 2012. Human monoclonal antibodies against highly conserved HR1 and HR2 domains of the SARS-CoV spike protein are more broadly neutralizing. *PLoS ONE*. 7:e50366.
- EMA. 2013. European Medicines Agency. EU/3/13/1113. http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/orphans/2013/04/human_orphan_001190.jsp&mid=WCob01ac058001d12 (Acceso: 26/08/214).
- Ereky, K. 1919. Biotechnologie der Fleisch-, Fett-, und Milcherzeugung im

- landwirtschaftlichen Grossbetriebe: für naturwissenschaftlich gebildete Landwirte verfasst. Parey, Berlin, Alemania.
- Espiritu, M.J. et al., 2014. A 21st-century approach to age-old problems: the ascension of biologics in clinical therapeutics. *Drug Discovery Today*. pii:S1359-6446(14)00010-5.
- Fowler, N.H. 2011. Role of maintenance rituximab (rituxan) therapy in the treatment of follicular lymphoma. *P & T: A Peer-reviewed Journal for Formulary Management*. 36:590-598.
- Fox, J.L. 2006. Turning plants into protein factories. *Nature Biotechnology*. 24:1191-1193.
- Friedrich, B.M. et al., 2012. Potential vaccines and post-exposure treatments for filovirus infections. *Viruses*. 4:1619-1650.
- Genoma España. 2008. Anticuerpos monoclonales terapéuticos. Informe de Vigilancia Tecnológica. Fundación Española para el Desarrollo de la Investigación en Genómica y Proteómica-Fundación General de la Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España.
- Giovannoni, G. et al., 2014. Daclizumab high-yield process in relapsing-remitting multiple sclerosis (SELECTION): a multicentre, randomised, double-blind extension trial. *Lancet Neurology*. 13:472-481.
- Goetsch, C.M. 2011. Genetic tumor profiling and genetically targeted cancer therapy. *Seminars in Oncology Nursing*. 27:34-44.
- Goodman, J.L. 2014. Studying "secret serums" - Toward safe, effective Ebola treatments. *The New England Journal of Medicine*. 371:1086-1089.
- Hong, D.I. et al., 2012. Allergy to monoclonal antibodies: cutting-edge desensitization methods for cutting-edge therapies. *Expert Review of Clinical Immunology*. 8:43-52.
- Hutfless, S. et al., 2014. Pharmacological management of Crohn's disease: future research needs. Agency for Healthcare Research and Quality, Rockville, Estados Unidos de América.
- Kharfan-Dabaja, M.A. 2014. A new dawn for gemtuzumab ozogamicin? *Lancet Oncology*. 15:913-914.
- Kim, S.J. et al., 2005. Antibody engineering for the development of therapeutic antibodies. *Molecules and Cells*. 20:17-29.
- Kirkwood, J.M. et al., 2012. Immunotherapy of cancer in 2012. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 62:309-335.
- Kitson, S.L. et al., 2013. Radionuclide antibody-conjugates, a targeted therapy towards cancer. *Current Radiopharmaceuticals*. 6:57-71.
- Kleyman, K. y Weintraub, D.S. 2012. Monoclonal antibodies: longitudinal prescribing information analysis of hypersensitivity reactions. *Monoclonal Antibodies*. 4:392-397.
- Köhler, G. y Milstein, C. 1975. Continuous cultures of fused cells secreting

- antibody of predefined specificity. *Nature*. 256:495-497.
- Kupczyk, M. y Kuna, P. 2014. Omalizumab in an allergology clinic: real life experience and future developments. *Postepy Dermatologii Alergologii*. 31:32-35.
- Linke, R. et al., 2010. Catumaxomab: clinical development and future directions. *Monoclonal Antibodies*. 2:129-136.
- Marzi, A., 2012. Protective efficacy of neutralizing monoclonal antibodies in a nonhuman primate model of Ebola hemorrhagic fever. *PLoS ONE*. 7:e36192.
- Mauriz, J.L. y González-Gallego, J. 2008. Antiangiogenic drugs: current knowledge and new approaches to cancer therapy. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 97:4129-4154.
- Mauriz, J.L. et al., 2003. Antiangiogenic treatment of cáncer. *Cirugía Española*. 78:3-11.
- Michnick, S.W. y Sidhu, S.S. 2008. Submitting antibodies to binding arbitration. *Nature Chemical Biology*. 4:326-329.
- ONT, 2014. Organización Nacional de Trasplantes. <http://www.ont.es/home/Paginas/ElModeloEspanol.aspx> (acceso: 26/08/2014).
- Pasut, G. 2014. Pegylation of biological molecules and potential benefits: pharmacological properties of certolizumab pegol. *BioDrugs*. 28 Suppl 1:15-23.
- Pérez-Alvarez, R., 2011. Hepatitis B virus (HBV) reactivation in patients receiving tumor necrosis factor (TNF)-targeted therapy: analysis of 257 cases. *Medicine (Baltimore)*. 90:359-371.
- Pettitt, J. et al., 2013. Therapeutic intervention of Ebola virus infection in Rhesus macaques with the MB-003 monoclonal antibody cocktail. *Science Translational Medicine*. 5:199(ra)113.
- Piaserico, S., 2014. Efficacy and safety of systemic treatments for psoriasis in elderly patients. *Acta Dermato-Venereologica*. 94:293-297.
- Prabakaran, P. et al., 2012. Origin, diversity, and maturation of human antiviral antibodies analyzed by high-throughput sequencing. *Frontiers in Microbiology*. 3: 277.
- Qiu, X. et al., 2013. Sustained protection against Ebola virus infection following treatment of infected nonhuman primates with ZMAb. *Scientific Reports*. 3:3365.
- Rybar, I. et al., 2012. The effectiveness for prevention of tuberculosis in patients with inflammatory rheumatic diseases treated with TNF inhibitors. *The International Journal Bratislava Medical Journal – Bratislavske lekarske listy*. 109:164-167.
- Scheffert, J.L. y Raza, K. 2014. Immunosuppression in lung transplantation. *Journal of Thoracic Disease*. 6:1039-1053.

- Setoguchi, S. et al., 2006. Tumor necrosis factor alpha antagonist use and cancer in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism*. 54:2757-2764.
- Shale, M.J. 2009. The implications of anti-tumour necrosis factor therapy for viral infection in patients with inflammatory bowel disease. *British Medical Bulletin*. 92:61-77.
- Sidaway, P. 2014. Transplantation: Alemtuzumab induction reduces acute rejection risk. *Nature Reviews Nephrology*. En Prensa. doi: 10.1038/nrneph.2014.143.
- Smith, J. et al., 2005. Antibody phage display technologies with special reference to angiogenesis. *FASEB Journal*. 19:331-341.
- Smolen, J.S. et al., 2014. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2013 update. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 73:492-509.
- Sorensen, P.S. 2014. New management algorithms in multiple sclerosis. *Current Opinion in Neurology*. 27:246-259.
- Strokappe, N. et al., 2012. Llama antibody fragments recognizing various epitopes of the CD4bs neutralize a broad range of HIV-1 subtypes A, B and C. *PLoS ONE*. 7:e33298.
- Turner, T.L. et al., 2014. Respiratory syncytial virus: current and emerging treatment options. *Journal of ClinicoEconomics and Outcomes Research*. 6:217-225.
- Watanabe, M. et al., 2011. Re-appearance of hepatitis B virus following therapy with rituximab for lymphoma is not rare in Japanese patients with past hepatitis B virus infection. *Liver International*. 31:340-347.
- Webster, A. et al., 2006. Polyclonal and monoclonal antibodies for treating acute rejection episodes in kidney transplant recipients. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2:CD004756.
- WHO. 2014. World Health Organization. Ebola virus disease. <http://www.who.int/csr/disease/ebola/en/> (acceso: 21/08/2014).
- Williams, C.J. et al., 2014. Systematic review with meta-analysis: malignancies with anti-tumour necrosis factor- α therapy in inflammatory bowel disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 39:447-458.
- Woodworth, C.D. et al., 2005. Inhibition of the epidermal growth factor receptor increases expression of genes that stimulate inflammation, apoptosis, and cell attachment. *Molecular Cancer Therapeutics*. 4:650-665
- Zebardast, N. et al., 2010. Rituximab in the management of refractory myasthenia gravis. *Muscle & Nerve*. 41:375-378.
- Zhu, Z. et al., 2013. Human monoclonal antibodies as candidate therapeutics against emerging viruses and HIV-1. *Virologica Sinica*. 28:71-80.



José Luis Mauriz, es Doctor en Ciencias Biológicas y Profesor Titular del Departamento de Ciencias Biomédicas de la Universidad de León. Docente en los Grados de Biotecnología, Biología y Veterinaria y en diversos Másteres oficiales. Es coordinador del Máster Universitario de Investigación en Medicina. Investigador del Instituto Universitario de Biomedicina (IBIOMED) de la Universidad de León, del Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd) del Instituto de Salud Carlos III y del Grupo de Investigación de Excelencia GR17 de la Junta de Castilla y León. Su investigación se centra en la fisiopatología de tumores hepáticos y digestivos.



Raquel Ordóñez, es Licenciada en Ciencias Biológicas, Máster en Innovación en Ciencias Biomédicas y de la Salud, y Doctoranda del Programa de Biomedicina de la Universidad de León. En la actualidad su trabajo sobre tumores hepáticos está financiado por el Ministerio de Educación a través del Programa de Formación de Profesorado Universitario (FPU).



Néstor Prieto-Domínguez es Graduado en Biotecnología, Máster en Innovación en Ciencias Biomédicas y de la Salud, y Doctorando del Programa de Biomedicina y Ciencias de la Salud de la Universidad de León. Su trabajo sobre tumores hepáticos está financiado por el Ministerio de Educación (Programa FPU).



Javier González-Gallego es Doctor en Ciencias Biológicas, Licenciado en Medicina y Cirugía, Catedrático del Departamento de Ciencias Biomédicas y Director del Instituto Universitario de Biomedicina (IBIOMED) de la Universidad de León. Docente en los Grados de Biotecnología, Veterinaria, Ciencias de la Actividad Física y del Deporte y en diversos Másteres oficiales. Es coordinador del Máster Universitario en Innovación e Investigación en Ciencias de la Actividad Física y del Deporte y de su correspondiente Programa de Doctorado, con Mención Hacia la Excelencia. Jefe de Grupo del Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd) del Instituto de Salud Carlos III y líder del Grupo de Investigación de Excelencia GR17 de la Junta de Castilla y León. Su investigación se centra en la fisiopatología hepática, con especial énfasis en hepatocarcinoma, hepatitis, hígado graso y estrés oxidativo tanto en modelos *in vivo* como *in vitro* y en fisiología del ejercicio.

BIOTECNOLOGÍA ANIMAL

Transgénesis en animales de granja

Margarita M. Marqués, Marta F. Baro, Silvia Nicolás, Yolanda Bayón

Instituto de Desarrollo Ganadero y Sanidad Animal y Dpto. de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Campus de Vegazana s/n, 24071 León.

La transgénesis en animales de granja ha experimentado una importante evolución desde sus inicios en la década de los años 80. La eficiencia de las técnicas ha aumentado considerablemente y, a las primeras experiencias llevadas a cabo mediante microinyección pronuclear en el cigoto, le han seguido otras metodologías como la transferencia nuclear de células somáticas, que ha tenido particular importancia en estas especies domésticas. Además, en los últimos años, se han desarrollado herramientas de edición del genoma que permiten una alta especificidad en la modificación genética. Entre las numerosas aplicaciones de los animales transgénicos, se encuentra la producción de proteínas de uso terapéutico humano. También, cabe destacar las investigaciones con objeto de generar animales modificados genéticamente para ser utilizados como modelos de enfermedades humanas, o bien destinados a proporcionar órganos para xenotrasplante. Además, en el ámbito estricto de la Producción Animal se está explorando la utilización de la transgénesis para incrementar la resistencia de los animales a enfermedades o mejorar la cantidad y calidad de sus productos.

Palabras clave:

Biotecnología, metodologías, modificación genética, animales domésticos, aplicaciones

La Biotecnología Animal agrupa un conjunto de tecnologías que aplican la potencialidad de las células y organismos animales, mediante su modificación selectiva y programada, a la obtención de productos, bienes y servicios. Uno de los aspectos centrales de esta disciplina está constituido por las técnicas de transgénesis. En sentido amplio, el término transgénesis hace referencia a los procedimientos que permiten alterar el genoma, de forma permanente, mediante adición, delección o modificación de genes específicos.

Los primeros animales transgénicos se generaron en el año 1980, cuando Jon Gordon y colaboradores demostraron que un DNA exógeno podía ser introducido en el genoma del ratón mediante la microinyección directa de una solución de DNA en el cigoto (Gordon et al., 1980). Posteriormente, estos autores

Forma de mencionar este artículo: Marqués, M., Baro, M.F., Nicolás, S., Bayón, Y. 2014, Transgénesis en animales de granja. *AmbioCiencias*, 12, 34-49. Revista de divulgación científica editada por la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad de León, ISBN: 1998-3021 (edición digital), 2147-8942 (edición impresa). Depósito legal: LE-903-07.

probaron que el DNA introducido se transmitía a la descendencia y, un año más tarde, Palmiter et al. (1982) conseguían modificar el fenotipo de los animales, expresando el gen de la hormona del crecimiento y obteniendo ratones con tasas de crecimiento muy superiores a las normales. Estas publicaciones no sólo atrajeron gran interés internacional, sino que motivaron el inicio de investigaciones similares en especies de interés ganadero. De este modo, en 1985, se publicaba el primer trabajo sobre conejos, ovejas y cerdos transgénicos, que tenían insertado en su genoma el gen humano de la hormona de crecimiento (Hammer et al., 1985).

Un animal transgénico presenta una modificación genética heredable. Para conseguir este objetivo, el transgén debe ser transferido al embrión, de forma directa (microinyección), o a través de los gametos. Es lo que denominaremos transgénesis en embriones. De modo alternativo, el DNA puede ser introducido en células somáticas en cultivo que, posteriormente, contribuirán al desarrollo del nuevo animal.

Transgénesis en embriones

La primera técnica utilizada para la generación de animales transgénicos (microinyección pronuclear, **Fig. 1**) implica la inyección directa del transgén en uno de los pronúcleos del cigoto que, seguidamente, es transferido a una hembra receptora “pseudogestante”. Una de sus principales limitaciones es la baja eficiencia, que desciende por debajo del 5% cuando se trata de animales de granja.

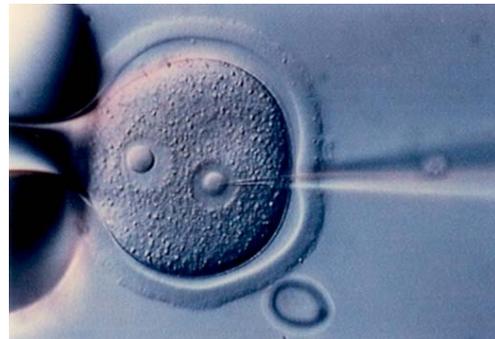


Figura 1. Microinyección pronuclear. Imagen cortesía del Dr. Johannes Wilbertz (Instituto Karolinska, Suecia) a través de la *International Society for Transgenic Technologies* (ISTT).

Por este motivo, se acogió con gran interés la utilización de nuevas herramientas para la transferencia génica en embriones, como el empleo de genomas virales modificados, convertidos en vectores portadores del transgén. Entre estos vectores destacan los lentivirus, que pueden inyectarse en el espacio perivitelino del cigoto, o bien en el oocito para después realizar fecundación *in vitro*. Con este tipo de vectores se han generado, entre otros, cerdos, pollos y vacas transgénicos con elevada eficiencia (Park, 2007).

Existen otras alternativas para la transgénesis en embriones en animales de granja, como son la transferencia génica mediada por espermatozoides

combinada con la inyección intracitoplasmática del espermatozoides (SMGT-ICSI) o la utilización de transposones (Ivics et al., 2014).

Los transposones (*Sleeping Beauty*, *piggyBac*, etc.) son secuencias de DNA capaces de moverse a lo largo del genoma, característica que se aprovecha para utilizarlos como vectores, preparando construcciones “transposón + transgén”, que se microinyectan en los embriones, al tiempo que se suministra la transposasa (**Fig. 2**).

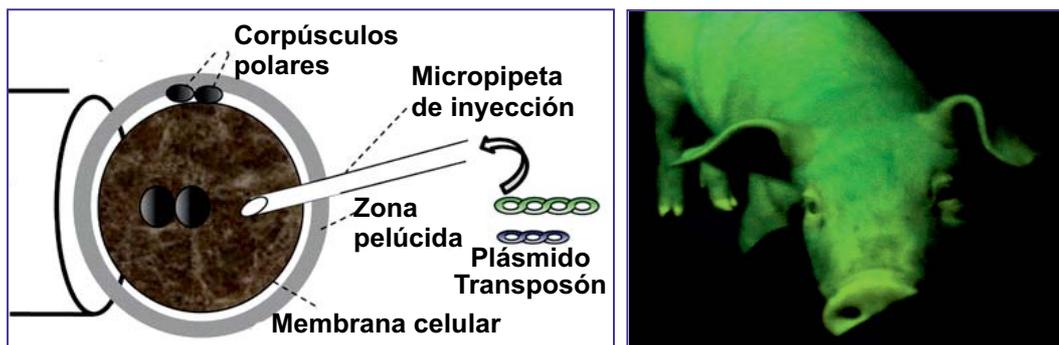


Figura 2. Transgénesis mediada por transposones. Esquema de la inyección de la construcción “transposón+transgén” y del vector de expresión para la transposasa en el cigoto (izda.). Cerdo transgénico que expresa la proteína fluorescente *Venus*, generado con el transposón *Sleeping Beauty* (dcha.) (Ivics et al., 2014).

Los procedimientos descritos presentan las siguientes limitaciones:

- No es posible generar animales en los que se ha inactivado un gen de forma específica (*knock-out* o KO): el DNA sólo puede ser añadido.
- No existe control sobre el número de copias que se integran ni sobre el lugar de integración del transgén, por lo que no hay garantía de que el animal transgénico fundador y su descendencia expresen unos niveles adecuados del gen. Además, las integraciones múltiples al azar tienen la desventaja de incrementar la probabilidad de efectos secundarios no deseados, causados por la activación de oncogenes o por mutagénesis insercional.
- Pueden originarse animales mosaico si el transgén no se incorpora durante la primera división celular. Este fenómeno es más frecuente en animales de granja.

Estas limitaciones impulsaron el desarrollo de tecnologías basadas en la utilización de células para la generación de animales transgénicos.

Transgénesis en células somáticas y Transferencia Nuclear

Coincidiendo con el desarrollo de la tecnología de microinyección pronuclear, Evans y Kaufman (1981) establecieron el cultivo de células troncales o células madre embrionarias (células *stem*, ES), a partir de la masa celular

interna de blastocistos murinos. Las características únicas de estas células (capacidad de auto-renovación y pluripotencialidad), junto con la posibilidad de manipular su genoma de manera específica utilizando el mecanismo de recombinación homóloga o *gene targeting*, han revolucionado el estudio de la función génica (Capecchi, 2005), dando lugar, a lo largo de los últimos 25 años, a la aparición de multitud de modelos animales murinos.

Sin embargo, en animales de granja, los numerosos intentos de derivar células ES han resultado infructuosos y, aunque algunos autores han descrito la generación de animales quiméricos a partir de células con características “*ES-like*”, en ningún caso se ha observado la contribución de estas células a la línea germinal. En los últimos años, los intereses han estado dirigidos a la derivación de células pluripotentes inducibles (iPS), que ya es una realidad en todas las especies ganaderas, aunque todavía no se ha confirmado el beneficio de la utilización de estas células en transgénesis.

Al no disponer de células ES, el desarrollo de la tecnología de transferencia nuclear a partir de células somáticas en cultivo -SCNT- (Campbell et al., 1996), abrió nuevas posibilidades para la transgénesis en animales de granja, además de poner de manifiesto el potencial de la reprogramación nuclear. Esta técnica implica la reconstrucción de un embrión, mediante transferencia del núcleo de una célula donante a un oocito receptor en el que el material genético nuclear ha sido eliminado. El cigoto generado es activado para que se inicie el desarrollo embrionario y, tras ser cultivado *in vitro* o *in vivo*, es transferido a una hembra receptora sincronizada hormonalmente, encargada de llevar la gestación a término.

De este modo, desde el nacimiento en 1997 de *Dolly* (**Fig. 3**), clonada a partir de una célula de glándula mamaria de una oveja adulta (Wilmut et al., 1997), la tecnología SCNT ha permitido la clonación no sólo en todas las especies de animales domésticos, sino también en otras como hurones o camellos. La eficiencia global de la técnica varía mucho entre especies (por ejemplo, es del 8-10% en oveja), existiendo numerosos factores críticos, como la maduración de los oocitos *in vitro*, el método de enucleación, el procedimiento de activación, el tipo celular reprogramado, el estado epigenético del núcleo donante o la problemática asociada a la gestación.

Figura 3. Oveja *Dolly*, primer mamífero clonado a partir de una célula adulta, junto con su primer cordero, *Bonnie*. Imagen cortesía del Instituto Roslin (Edimburgo, Reino Unido).



Como se ha mencionado, la SCNT abrió una nueva ruta para la generación de animales de granja transgénicos, ya que las células donantes del núcleo podían ser modificadas genéticamente antes de ser utilizadas en transferencia nuclear (Fig. 4). La prueba de esta hipótesis vino dada por la generación de ovejas transgénicas a partir de fibroblastos fetales que expresaban el factor de coagulación IX humano (Schnieke et al., 1997).

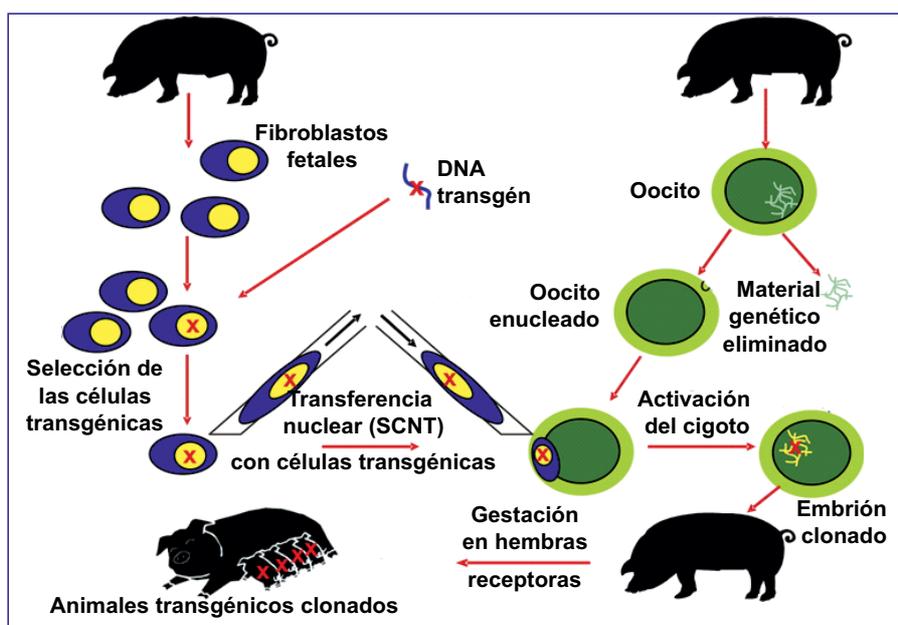


Figura 4. Esquema de la obtención de animales transgénicos clonados mediante la técnica SCNT (adaptado de Rogers et al., 2008).

La transgénesis en células somáticas vía SCNT presenta importantes ventajas, entre las que se incluyen las siguientes:

- La estructura y la expresión del transgén en las células donantes del núcleo pueden ser analizadas por técnicas moleculares antes de realizar la transferencia nuclear. De esta manera, se asegura que el 100% de los animales producidos son transgénicos, y que cada célula del animal clonado contiene el transgén, evitando el mosaicismo, y asegurando la transmisión a la línea germinal.
- Se pueden realizar modificaciones genéticas precisas mediante *gene targeting* en las células que van a ser utilizadas en SCNT.
- Se pueden llevar a cabo modificaciones genéticas secuenciales, realizando SCNT con las células modificadas y aislando nuevos fibroblastos fetales susceptibles de modificación.
- Se puede predeterminar el sexo del animal clonado, utilizando como donantes de núcleo células procedentes de un macho o de una hembra y, además, el transgén puede introducirse en células con una dotación genética de interés.

- Se pueden generar rebaños de animales transgénicos (clonados) sin necesidad de recurrir a la cría convencional, a partir de un animal fundador, con el consiguiente ahorro en tiempo y dinero.

Edición del genoma

En los últimos años, el campo de la transgénesis ha experimentado una auténtica revolución a consecuencia de la aparición de las herramientas de edición del genoma. Estas herramientas comprenden las ZFNs (*Zinc Finger Nucleases*), TALENs (*Transcription Activator-like Effector Nucleases*) y, más recientemente, el sistema CRISPR/Cas9 (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/Cas9*) (Gaj et al., 2013).

Las nucleasas ZFNs y TALENs presentan un dominio de unión al DNA (del tipo dedos de zinc en el caso de las ZFN, o bien, del tipo efector TAL en TALENs) que debe ser diseñado para reconocer secuencias específicas del gen a modificar, mientras que con el sistema CRISPR/Cas9, la unión de la nucleasa Cas9 a la secuencia diana está dirigida por un RNA guía complementario. En todos los casos se genera un corte de la doble cadena de DNA en la secuencia de interés que, al ser reparado por la maquinaria de la célula, da lugar a la modificación genética deseada, ya sea mediante unión no homóloga (produciéndose deleciones), o por recombinación homóloga (*gene targeting*). Estas herramientas pueden utilizarse tanto en la transgénesis en embriones como en células somáticas en combinación con transferencia nuclear (**Fig. 5**), y están permitiendo la generación eficiente de animales de granja con modificaciones precisas (Lilico et al., 2013; Ni et al., 2014).

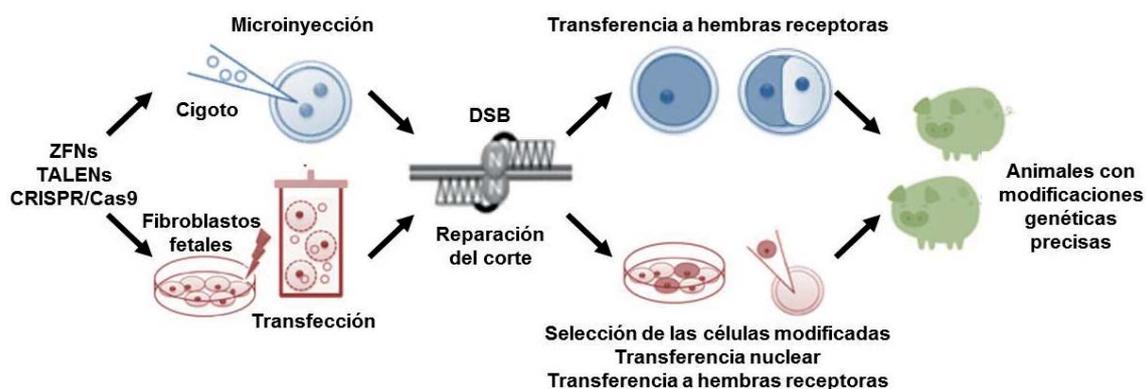


Figura 5. Técnicas de *edición del genoma* en la generación de animales de granja transgénicos (modificado de Hauschild-Quintern et al., 2013).

Principales aplicaciones de la transgénesis en animales

Estudio de la función génica

Los animales transgénicos son una herramienta muy útil para investigar en qué tipos celulares y en qué momento del desarrollo se expresan diferentes genes. Así mismo, la inactivación de genes en ratones *knockout* ha permitido estudiar la función de dichos genes en el organismo. De igual forma, los animales modificados genéticamente pueden ser utilizados para obtener modelos de enfermedades humanas, en los que poder analizar, de forma más directa y efectiva, los mecanismos moleculares de la enfermedad y el efecto de nuevas terapias.

El ratón es un buen modelo animal puesto que el 99% de los genes humanos tiene homología con los murinos, y la organización de ambos genomas está altamente relacionada. Sin embargo, la anatomía, fisiología y ciclo de vida del ratón difieren significativamente de los humanos, por lo que los modelos murinos no siempre reproducen el fenotipo de la enfermedad humana. Como ejemplo, se puede citar la fibrosis quística, enfermedad autosómica recesiva para la que no existe un tratamiento curativo. En este caso, a pesar de existir diversos modelos en ratón con mutaciones precisas en el gen *CFTR*, responsable de la fibrosis quística, en ninguno de ellos se observa la forma pulmonar o pancreática de la enfermedad, responsable de la elevada mortalidad en la especie humana. Por este motivo, se ha impulsado el desarrollo de modelos de la enfermedad en otras especies animales, como oveja, cerdo o hurón.

Las enfermedades neurodegenerativas son también objeto de gran interés. Por ejemplo, Jacobsen et al. (2010) han generado un modelo de la enfermedad de Huntington en oveja con el que se espera poder profundizar en el estudio de esta enfermedad. Otro modelo, en el que hay muchas expectativas en relación con el desarrollo de nuevas terapias, es el establecido en cerdos miniatura para la enfermedad de Alzheimer y que está comercializado por la empresa *PixieGene*.

Un campo de investigación en el que también se están empleando animales transgénicos como modelo es el de las enfermedades metabólicas. De este modo, se han utilizado cerdos y conejos transgénicos para el estudio de la arterioesclerosis (Al-Mashhadi et al., 2013) y otros desórdenes del metabolismo lipídico. También se ha generado un modelo para el estudio de la homeostasis de la glucosa y la secreción de insulina: se trata de cerdos transgénicos en los que se ha alterado la función de la incretina GIP (polipéptido inhibidor gástrico) (Renner et al., 2010). Recientemente, se ha publicado la obtención de cerdos miniatura modificados genéticamente para el estudio de trastornos de los ritmos circadianos (Liu et al., 2013).

Obtención de productos de alto valor añadido

A diferencia de lo que ocurre en ratones, las particulares características productivas de los animales de granja, implican que la inversión a realizar para generar un animal transgénico debe tener como contrapartida un elevado beneficio. Por esta razón, la obtención de proteínas recombinantes de interés farmacéutico ha sido la principal aplicación de los animales de granja transgénicos. Los costes de producción de biomoléculas en bacterias no son elevados, pero las proteínas que requieren modificaciones post-traduccionales (glicosilaciones, principalmente) deben ser sintetizadas en sistemas celulares de mamíferos para obtener biomoléculas activas. Sin embargo, estos sistemas son extremadamente caros, lo que despertó, desde el primer momento, el interés por utilizar los animales de granja transgénicos como “biorreactores”, ya que se estima que, aplicando el concepto de *biopharming*, los costes de producción podrían reducirse a la octava parte (Dyck et al., 2003).

Entre las numerosas proteínas humanas expresadas en la glándula mamaria de animales de granja transgénicos se pueden citar desde la -antitripsina en oveja (primer ejemplo en 1991), a la albúmina sérica humana en vacas (Moghaddassi et al., 2014), entre otros. En la actualidad, dos medicamentos producidos en la leche de animales transgénicos cuentan ya con autorización para su comercialización: ATryn® (obtenido en cabras transgénicas, y utilizado para el tratamiento de tromboembolias en pacientes con deficiencia hereditaria de antitrombina) (**Fig. 6**) y Ruconest™ (producido en conejos transgénicos, y que se emplea para el tratamiento del angioedema hereditario).



Figura 6. Cabras transgénicas clonadas en 1998, que producen antitrombina humana en la leche (foto tomada de Blash et al., 2012).

Además de en la leche, las proteínas recombinantes pueden ser producidas en una gran variedad de fluidos biológicos tales como la sangre, orina, saliva, fluido seminal o el suero. El otro método de producción a gran escala es el huevo. Los avances en transgénesis aviar, derivados del empleo de vectores lentivirales, han permitido la obtención de aves transgénicas que sintetizan en el oviducto proteínas de interés farmacéutico, como el interferón- β , que se incorporan a la clara del huevo (Kwon et al., 2010).

Al hablar de transgénesis y productos de alto valor añadido, no se puede olvidar la modificación genética de animales de granja con el fin de obtener una fuente alternativa de órganos que puedan utilizarse en trasplantes humanos (xenotrasplantes). La investigación se ha centrado, principalmente, en el cerdo, ya que su anatomía y fisiología es compatible con la humana, y presenta ciclos reproductivos cortos y camadas numerosas. Los mayores obstáculos para el éxito de los xenotrasplantes son de tipo inmunológico: la reacción hiperaguda de rechazo (HAR), minutos después del trasplante, y el rechazo vascular agudo (AVR), en los días siguientes. La HAR es desencadenada por la presencia del disacárido galactosa- α (1,3) galactosa. La síntesis de este epitopo en la superficie celular está catalizada por la enzima α (1,3) galactosil transferasa, la cual está presente en todos los mamíferos y monos del nuevo mundo, y ausente en la especie humana y monos del viejo mundo. Por este motivo, se han realizado numerosos estudios para conseguir la inactivación de este gen, obteniéndose animales en los que los dos alelos están inactivados (**Fig. 7**). Sin embargo, y aunque bioprótesis derivadas de estos animales estén dando resultados satisfactorios, todavía existen problemas inmunológicos por resolver para poder trasplantar experimentalmente órganos de los cerdos GalT-KO (Bottino et al., 2014). En combinación con las investigaciones descritas, se están abordando estrategias para controlar el AVR.



Figura 7. Primer cerdito heterocigótico (izda.) y cerdos homocigóticos (dcha.) α 1,3 gal-KO (Lai et al., 2002 y *PPL Therapeutics*).

Mejora de la producción animal

El primer carácter que fue manipulado en animales de granja transgénicos fue la producción cárnica, mediante transferencia del gen de la hormona del crecimiento -GH-, con la intención de producir cerdos con mejores índices de crecimiento y con una canal más magra. Estos incrementos fueron modestos si se considera los obtenidos en acuicultura transgénica, uno de cuyos productos, el salmón *AquAdvantage*[®] (**Fig. 8**), se encuentra en espera para su comercialización. Durante los últimos años, el interés se ha centrado en obtener canales de composición más “cardiosaludable” para el consumidor (Tang et al., 2014), mediante la expresión de desaturasas de ácidos grasos procedentes de espinacas o de nematodos.



Figura 8. Salmón *AquAdvantage*[®] comparado con un ejemplar no transgénico de su misma edad (*Aquabounty Technologies*).

Sin duda, la aplicación de mayor relevancia ha sido la manipulación de la composición de la leche, con el fin de mejorar sus propiedades nutricionales o tecnológicas. Uno de los objetivos ha sido la obtención de leche hipoalérgica, con bajo contenido en lactosa o en β -lactoglobulina. Con el fin de incrementar el rendimiento quesero, también se han obtenido vacas transgénicas que sobreexpresan en la leche copias adicionales de las proteínas lácteas β - y κ -caseína, originando un incremento del 13% en el contenido proteico de la leche (Laible y Wells, 2006).

“Humanizar” la leche bovina o caprina también puede suponer beneficios importantes para la salud humana. Un ejemplo es la expresión de lactoferrina humana (hLF) en la leche de vaca (Yang et al., 2008). Se ha demostrado que esta proteína tiene propiedades antibacterianas, antivirales e inmunomoduladoras entre otras y, por consiguiente, existe una demanda creciente para su utilización como nutraceutico. Otro ejemplo, en el que se tienen puestas grandes expectativas, es la producción de lisozima humana en la leche de cabras transgénicas, leche que podría utilizarse para paliar las diarreas infantiles en los

países en vías de desarrollo, debido a las propiedades antibacterianas de esta proteína. Maga y colaboradores desarrollaron una estirpe de cabras transgénicas que producen niveles adecuados de lisozima en la leche y, posteriormente, han demostrado que su administración a lechones tiene un efecto beneficioso frente a las diarreas producidas por *E. coli* (Cooper et al., 2013).

La generación de animales resistentes a enfermedades es otra de las áreas de aplicación de gran interés en Producción Animal, tanto por el beneficio para la Sanidad y Bienestar Animal, como por su impacto económico sobre la producción, o sus repercusiones sobre la salud humana y sobre el medio ambiente (reducción del uso de antibióticos). Entre las estrategias que se han abordado se encuentran tanto la introducción de genes que incrementan la resistencia a enfermedades o la inmunidad innata, como la inactivación de genes asociados a susceptibilidad a enfermedades. Por ejemplo, la generación de ovejas, cabras y vacas en las que se ha inactivado o silenciado el gen de la proteína priónica PRNP ha abierto la puerta para la creación de animales no susceptibles a las encefalopatías espongiformes. Además, en vacas transgénicas se ha demostrado la eficacia de la expresión de genes de proteínas anti-bacterianas en la glándula mamaria, como la lisostafina (**Fig. 9**), efectiva frente a mastitis causadas por *S. aureus* (Wall et al., 2005).



Figura 9. Vaca transgénica que produce lisostafina en la leche (Wall et al., 2005).

Otro modelo de interés, por su repercusión medioambiental, es el *EnviroPig*TM (Golovan et al., 2001). Se trata de cerdos transgénicos que expresan una fitasa bacteriana en la glándula salivar, lo que les permite metabolizar los fitatos del pienso. Estos animales utilizan eficientemente el fósforo de la dieta, lo que se traduce en mejores índices de crecimiento y en purines menos contaminantes, ya que excretan hasta un 75% menos de fosfato. Esto supone una

reducción significativa de la contaminación procedente de la industria porcina y su impacto medioambiental

Finalmente, aunque sin implicar transgénesis, el uso de la tecnología SCNT puede permitir la clonación de individuos élite con el fin de utilizarlos como sementales, así como la clonación de genotipos de interés o de animales con valor sentimental. La transferencia nuclear también puede ser una herramienta que ayude a la conservación de razas o especies, como ha demostrado la clonación del único ejemplar existente de la raza *Enderby Island* en Nueva Zelanda, o los intentos de clonación del toro salvaje asiático “gaur” (*Bos gaurus*) o del bucardo, subespecie extinta de cabra pirenaica.

Conclusiones

Como se ha expuesto, la capacidad de modificar el genoma de los animales de manera precisa es fundamental para el desarrollo de una gran variedad de aplicaciones en Biomedicina y en Producción Animal. Aunque las tecnologías para la obtención de animales de granja transgénicos han ido perfeccionándose a través de los años, el control espacio-temporal preciso de la expresión de transgenes continúa siendo un aspecto a mejorar. Por otro lado, la aplicación de la tecnología de gene targeting para la generación de animales transgénicos no está exenta de dificultades, debidas principalmente a la senescencia replicativa de las células somáticas y la menor frecuencia de recombinación homóloga en estas células, en comparación con las células ES. Para contrarrestar estas limitaciones, las líneas de iPS obtenidas en las especies ganaderas constituyen una opción prometedora, y las nuevas técnicas de edición del genoma, que están dando ya sus frutos en estos animales, se perfilan como las herramientas de elección en el ámbito de la transgénesis animal; tanto es así que la revista *Nature Methods* las ha considerado, recientemente, como una de las metodologías más relevantes de la última década.

Es previsible que la revolución genómica observada desde la secuenciación del genoma humano, en combinación con el uso de estas metodologías (sobre todo del sistema CRISPR/Cas9), permitirá generar en los próximos años nuevos modelos de gran relevancia en animales de granja, así como conseguir avances biomédicos relacionados con lo que algunos autores ya denominan la *microcirugía de los genes*.

Bibliografía

- Al-Mashhadi, R.H., Sorensen, C.B., Kragh, P.K., Christoffersen, C., Mortensen, M.B. et al. 2013. Familial hypercholesterolemia and atherosclerosis in cloned minipigs created by DNA transposition of a human *PCSK9* gain-of-function mutant. *Science Translational Medicine* 5: 166ra1.
- Blash, S., Schofield, M., Echelard, Y. y Gavin, W. 2012. Update on the first cloned goats. *Nature Biotechnology* 30: 229-230.
- Bottino, R., Wijkstrom, M., Windt D.J., Hara, H., Ezzelarab, M., Murase, N., Bertera, S., He., J., Phelps, C., Ayares, D., Cooper, D.K.C. y Trucco., M. 2014. Pig-to-monkey islet xenotransplantation using multi-transgenic pigs. *American Journal of Transplantation* 14: 2275-2287.
- Campbell, K.H., McWhir, J., Ritchie, W.A. y Wilmut, I. 1996. Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. *Nature* 380: 64-66.
- Capecchi, M.R. 2005. Gene targeting in mice: functional analysis of the mammalian genome for the twenty-first century. *Nature Reviews Genetics* 6: 507-512.
- Cooper, C.A., Garas Klobas, L.C., Maga, E.A. y Murray, J.D. 2013. Consuming transgenic goats' milk containing the antimicrobial protein lysozyme helps resolve diarrhea in young pigs. *PloS One* 8: e58409.
- Dyck, M.K., Lacroix, D., Pothier, F., y Sirard, M.A. 2003. Making recombinant proteins in animals--different systems, different applications. *Trends in Biotechnology* 21: 394-399.
- Evans, M.J. y Kaufman, M.H. 1981. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 292: 154-156.
- Gaj, T., Gersbach, C.A., y Barbar, C.F. 2013. ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. *Trends in Biotechnology* 31: 397-405.
- Golovan, S.P., Meidinger, R.G., Ajakaiye, A., Cottrill, M. et al. 2001. Pigs expressing salivary phytase produce low-phosphorus manure. *Nature Biotechnology* 19: 741-745.
- Gordon, J.W., Scangos, G.A., Plotkin, D.J., Barbosa, J.A. y Ruddle, F.H. 1980. Genetic transformation of mouse embryos by microinjection of purified DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 77: 7380-7384.
- Hammer, R.E., Pursel, V.G., Rexroad, C.E., Wall, R.J., Bolt, D.J., Ebert, K.M., Palmiter, R.D. y Brinster, R.L. 1985. Production of transgenic rabbits, sheep and pigs by microinjection. *Nature* 315: 680-683.
- Hauschild-Quintern, J., Petersen, B., Cost, G.J. y Niemann, H. 2012. Gene knockout and knockin by zinc-finger nucleases: current status and

- perspectives. *Cellular and Molecular Life Sciences* 70: 2969-2983.
- Ivics, Z., Garrels, W., Mátés, L., Yau, T.Y., Bashir, S., Zideck, V., Landa, V., Geurts, A., Ravenec, M., Rüllicke, T., Kues, W.A. y Izsváck, Z. 2014. Germline transgenesis in pigs by cytoplasmatic microinjection of sleeping beauty transposons. *Nature Protocols* 9: 810-827.
- Jacobsen, J., Bawden, C.S., Rudiger, S.R., McLaughlan, C.J., Reid, S.J., Waldovogel, H.J., MacDonald, M.E. et al. 2010. An ovine transgenic Huntington's disease model. *Human Molecular Genetics* 19: 1873-1882.
- Kwon, S.C., Choi, J.W., Jang, H.J., Shin, S.S., Lee, S.K. et al. 2010. Production of biofunctional recombinant human interleukin 1 receptor antagonist (rhIL1RN) from transgenic quail egg white. *Biology of Reproduction* 82: 1057-1064.
- Lai, L., Kolber-Simonds, D., Park, K.W., Cheong, H.T., Greenstein, J.L., Im, G-S., Samuel, M., Bonk, A., Rieke, A., Day, B. et al. 2002. Production of alpha-1,3-galactosyltransferase knockout pigs by nuclear transfer cloning. *Science* 295: 1089-10926.
- Laible, G. y Wells, D.N. 2006. Transgenic cattle applications: the transition from promise to proof. *Biotechnology & Genetic Engineering Reviews* 22: 125-150.
- Lillico, S.G., Proudfoot, C., Carlson, D.F., Stverakova, D., Neil, C., Blain, C., King, T.J., Ritchie, W.A., Tan, W., Mileham, A.J., McLaren, D.G., Fahrenkrug, S.C. y Whitelaw, C.B. 2013. Live pigs produced from genome edited zygotes. *Scientific Reports* 3:2847.
- Liu, H., Li, Y., Wei, Q., Liu, C., Bolund, L., Vajta, G., Dou, H., Yang, W., Xu, Y., Wang, J., Yang, H., Satunstrup, N.H., y Du, Y. 2013. Development of transgenic minipigs with expression of antimorphic human crytochrome 1. *PLoS One* 10: e76098.
- Moghaddassi, S., Eyestone, W. y Bishop, C.E. 2014. TALEN-mediated modification of the bovine genome for large-scale production of human serum albumin. *PLoS One* 9: e89631.
- Ni, W., Qiao, J., Zhao, X., Regouski, M., Yang, M., Polejaeva, I.A. y Chen, C. 2014. Efficient gene knockout in goats using CRISPR/Cas9 system. *Plos One* 9: e106718.
- Palmiter, R.D., Brinster, R.L., Hammer, R.E., Trumbauer, M.E., Rosenfeld, M.G., Birnberg, N.C. y Evans, R.M. 1982. Dramatic growth of mice that develop from eggs microinjected with metallothionein-growth hormone fusion genes. *Nature* 300: 611-615.

- Park, F. 2007. Lentiviral vectors: are they the future of animal transgenesis? *Physiological Genomics* 31: 159-173.
- Renner, S., Fehlings, C., Herbach, N., Hofmann, A., Waldthausen, D.G., Kessler, B. et al. 2010. Glucose intolerance and reduced proliferation of pancreatic beta-cells in transgenic pigs with impaired glucose-dependent insulinotropic polypeptide function. *Diabetes* 59: 1228-1238.
- Rogers, C.S., Hao, Y., Rokhlina, T., Samuel, M., Stoltz, D.A., Li, Y., Petroff, E., Vermeer, D.W., Kabel, A.C., Yan, Z., Spate, L., Wax, D. et al. 2008. Production of CFTR-null and CFTR-DeltaF508 heterozygous pigs by adeno-associated virus-mediated gene targeting and somatic cell nuclear transfer. *Journal of Clinical Investigation* 118: 1571-1577.
- Schnieke, A.E., Kind, A.J., Ritchie, W.A., Mycock, K., Scott, A.R., Ritchie, M., Wilmut, I., Colman, A., y Campbell, K.H. 1997. Human factor IX transgenic sheep produced by transfer of nuclei from transfected fetal fibroblasts. *Science* 278: 2130-2133.
- Tang, M., Qian, L., Jiang, S., Zhang, J., Song, P., Chen, Y., Cui, W. y Li, K. 2014. Functional and safety evaluation of transgenic pork rich in omega-3 fatty acids. *Transgenic Research* 23: 557-571.
- Wall, R.J., Powell, A.M., Paape, M.J., Kerr, D.E., Bannerman, D.D., Pusell, V.G., Wells, K.D., Talbot, N. y Hawk, H.W. 2005. Genetically enhanced cows resist intramammary *Staphylococcus aureus* infection. *Nature Biotechnology* 23: 445-451.
- Wilmut, I., Schnieke, A.E., McWhir, J., Kind, A.J. y Campbell, K.H. 1997. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 385: 810-813.
- Yang, P., Wang, J., Gong, G., Sun, X., Zhang, R., Du, Z., Liu, Y., Li, R., Ding, F. et al. 2008. Cattle mammary bioreactor generated by a novel procedure of transgenic cloning for large-scale production of functional human lactoferrin. *PLoS One* 3: e3453.



Margarita M. Marqués es licenciada y doctora en Veterinaria por la Universidad de León. En el año 2000 se incorporó al grupo del Dr. Jim McWhir en el Roslin Institute, donde disfrutó de una beca Marie Curie para caracterizar la expresión de transgenes en células ovinas destinadas a transferencia nuclear. En el año 2003 regresó a la ULE como investigadora del Programa Ramón y Cajal y, desde el 2009, es Profesora Contratada Doctor Permanente. Actualmente, imparte docencia en el Grado en Biotecnología y colabora en proyectos de investigación en los que aporta su experiencia en técnicas de manipulación genética, y en el cultivo y diferenciación de células troncales.

Marta F. Baro y **Silvia Nicolás** se licenciaron en Biología y Veterinaria (respectivamente), y ambas desarrollaron su Tesis Doctoral en el Dpto. de Producción Animal de la Universidad de León. El trabajo de la Dra. F. Baro (*in memoriam*) se centró en la modificación genética de células somáticas para la integración dirigida de transgenes. El proyecto de la Dra. Nicolás consistió en analizar la eficiencia de aisladores genómicos en cultivos primarios ovinos. Desde el año 2011, la Dra. Nicolás pertenece al Cuerpo Superior de Veterinarios de la Junta de Castilla y León.



Yolanda Bayón es licenciada y doctora en Veterinaria por la Universidad de León (anteriormente Universidad de Oviedo) y profesora de la misma desde 1979, siendo en la actualidad Titular de Universidad. Está integrada en el Departamento de Producción Animal e imparte materias en el ámbito de la Genética y Mejora Animal, en el cual está también circunscrita sus líneas de investigación.

BIOTECNOLOGÍA INDUSTRIAL

El catabolón del fenilacetil-CoA: Un paradigma de convergencia metabólica con múltiples aplicaciones biotecnológicas

José María Luengo¹, Elías Rodríguez-Olivera.

Área de Bioquímica y Biología Molecular. Dpto. Biología Molecular. Facultad de Veterinaria. Universidad de León. 24071 León

jmluer@unileon.es

El término catabolón ha sido acuñado para definir una unidad funcional compleja integrada por varias rutas catabólicas independientes (rutas periféricas) que confluyen en una ruta central o ruta de convergencia (núcleo del catabolón) y que sirve para la degradación de diferentes compuestos relacionados estructuralmente. La ruta central es la encargada de transformar el intermediario común (compuesto que da nombre al catabolón) en metabolitos generales. Todas las rutas que componen los catabolones suelen regularse coordinadamente, de tal forma que la afluencia de catabolitos a la ruta central está sometida a un estricto control jerárquico. Los catabolones pueden considerarse como el primer estadio de integración metabólica por lo que su comprensión es básica para entender cómo han evolucionado las rutas catabólicas en microorganismos.

El primer modelo descrito, de ahí su calificación de paradigma, fue el catabolón del fenilacetil-CoA, que incluye todas aquellas rutas mediante las cuales se consigue la transformación de distintos compuestos aromáticos (el ácido fenilacético, sus precursores, sus derivados y algunos de sus análogos estructurales) en fenilacetil-CoA (intermediario común). Posteriormente, las enzimas que constituyen la ruta central transforman este tioéster en metabolitos generales (acetil-CoA y succinil-CoA). En este artículo describiremos la organización genética bioquímica de ese catabolón y analizaremos sus interesantes aplicaciones biotecnológicas.

Palabras clave:

fenilacético, catabolismo, aromáticos, integración metabólica, biotecnología.

Introducción

La degradación microbiana de compuestos aromáticos se lleva a cabo a través de diferentes rutas catabólicas que permiten la mineralización de esas moléculas (Timmis y Pieper, 1995). El estudio de esos procesos ha permitido la descripción de organizaciones genéticas muy particulares; la caracterización de enzimas que catalizan reacciones muy poco comunes; la identificación de nuevos

Forma de mencionar este artículo: Luengo, J.M., Rodríguez-Olivera, E. 2014, El catabolón del fenilacetil-CoA: un paradigma de convergencia metabólica con múltiples aplicaciones biotecnológicas. *AmbioCiencias*, 12, 50-69. Revista de divulgación científica editada por la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad de León, ISBN: 1998-3021 (edición digital), 2147-8942 (edición impresa). Depósito legal: LE-903-07.

intermediarios catabólicos, así como la existencia de mecanismos de regulación desconocidos hasta ese momento (Luengo et al., 2004). La importancia de todos esos hallazgos ha hecho surgir nuevas disciplinas (Biodegradación e Ingeniería Metabólica) en las que se recopilan tanto los nuevos conocimientos como aquellos otros que subsistían dispersos en otras ciencias (Genética, Microbiología) (Luengo et al., 2001).

Características de las distintas rutas catabólicas

Todas estas rutas, a pesar de ser muy diferentes entre sí, comparten una serie de propiedades comunes. Son rutas inusuales, específicas, con localización subcelular variable e independientes.

Decimos que son inusuales o poco convencionales, porque: (i) en ellas participan enzimas, o complejos enzimáticos, con actividades poco comunes; (ii) poseen intermediarios catabólicos con estructuras químicas poco frecuentes; y/o (iii) muchas de ellas están sometidas a mecanismos de regulación sensiblemente diferentes a los descritos hasta la fecha.

Al decir que son específicas, no sólo nos referimos a que esas rutas sirven para degradar exclusivamente un determinado compuesto y no otro (u otros relacionados estructuralmente), sino a que han sido descritas en una especie concreta, o, como sucede muchas veces, en una cepa determinada. El grado de especificidad alcanzado es tan alto que, en algunos casos, esas rutas podrían ser consideradas como marcadores taxonómicos (marcadores metabólicos de estirpes) (Olivera et al., 1998).

Otra característica diferencial es que tanto los genes catabólicos como los que codifican los elementos reguladores, suelen poseer una localización subcelular variable. Así, mientras que en una determinada bacteria todos los genes son cromosómicos, en otra son plasmídicos, y en una tercera pueden aparecer tanto en el cromosoma como en plásmidos.

Finalmente, una característica adicional es su independencia. Es bastante común que las rutas responsables de la asimilación de compuestos con estructuras semejantes, no aparezcan juntas en una misma bacteria. Tanto es así que, a veces, podría llegar a pensarse que la posesión de una de ellas actúa como factor determinante de la exclusión de la otra (Luengo et al., 2001).

Integración funcional de esas rutas catabólicas: los catabolones

Ciertas bacterias han conseguido organizar algunas de esas rutas aisladas en unidades catabólicas complejas que funcionan como un único elemento al que, por poseer una función eminentemente asimiladora, se ha denominado

catabolón. En él, los mecanismos reguladores que controlaban el flujo de intermediarios a través de las vías originales han sufrido un proceso de jerarquización muy acusado, lo que facilita su coordinación e interconexión metabólica. Esto es, una vez encadenadas unas cuantas rutas, se establece en la bacteria una tendencia o polarización metabólica concreta que va a determinar su potencialidad catabólica futura. Como consecuencia de ello la bacteria que ha logrado encadenar adecuadamente toda esa información, adquiere una mayor, cuando no nueva, capacidad catabólica potenciando su capacidad degradadora. Esa especialización catabólica es tan marcada que, a veces, dos estirpes bacterianas podrían llegar a considerarse especies diferentes si sólo se analizase ese carácter metabólico concreto (Arcos et al., 2010).

Una ventaja adicional, surgida como consecuencia de la integración metabólica de varias vías, es que las bacterias que lo han logrado pueden asimilar un mayor número de productos y por consiguiente colonizar nuevos hábitats, o sobrevivir en aquellos otros en los que las condiciones físico-químicas (reducciones, oxidaciones, descarboxilaciones etc.) han favorecido la transformación de un producto en otro. Más aún, algunos estudios han puesto de manifiesto que aquellas bacterias que poseen catabolones, incorporan en su maquinaria metabólica nuevas actividades (genes y enzimas catabólicos) con más facilidad que aquellas otras bacterias en las que las rutas existen aisladamente (Arias et al., 2008).

En este artículo analizaremos el catabolón del fenilacetil-CoA, un modelo de integración catabólica que puede servir como ejemplo para entender como diferentes rutas catabólicas pueden llegar a convergir. Además, describiremos las interesantes aplicaciones biotecnológicas de las enzimas que pertenecen al mismo.

Organización estructural y análisis funcional del catabolón del fenilacetil-CoA

El catabolón del fenilacetil-CoA es una unidad funcional compleja que incluye todas aquellas rutas metabólicas responsables de la transformación de diferentes compuestos aromáticos en fenilacetil-CoA (**Fig. 1**). Todas estas vías catabólicas, denominadas rutas periféricas, convergen en una ruta central (núcleo del catabolón) que asegura la conversión del metabolito común (fenilacetil-CoA) en intermediarios generales (acetil-CoA y succinil-CoA) (**Fig. 2**).

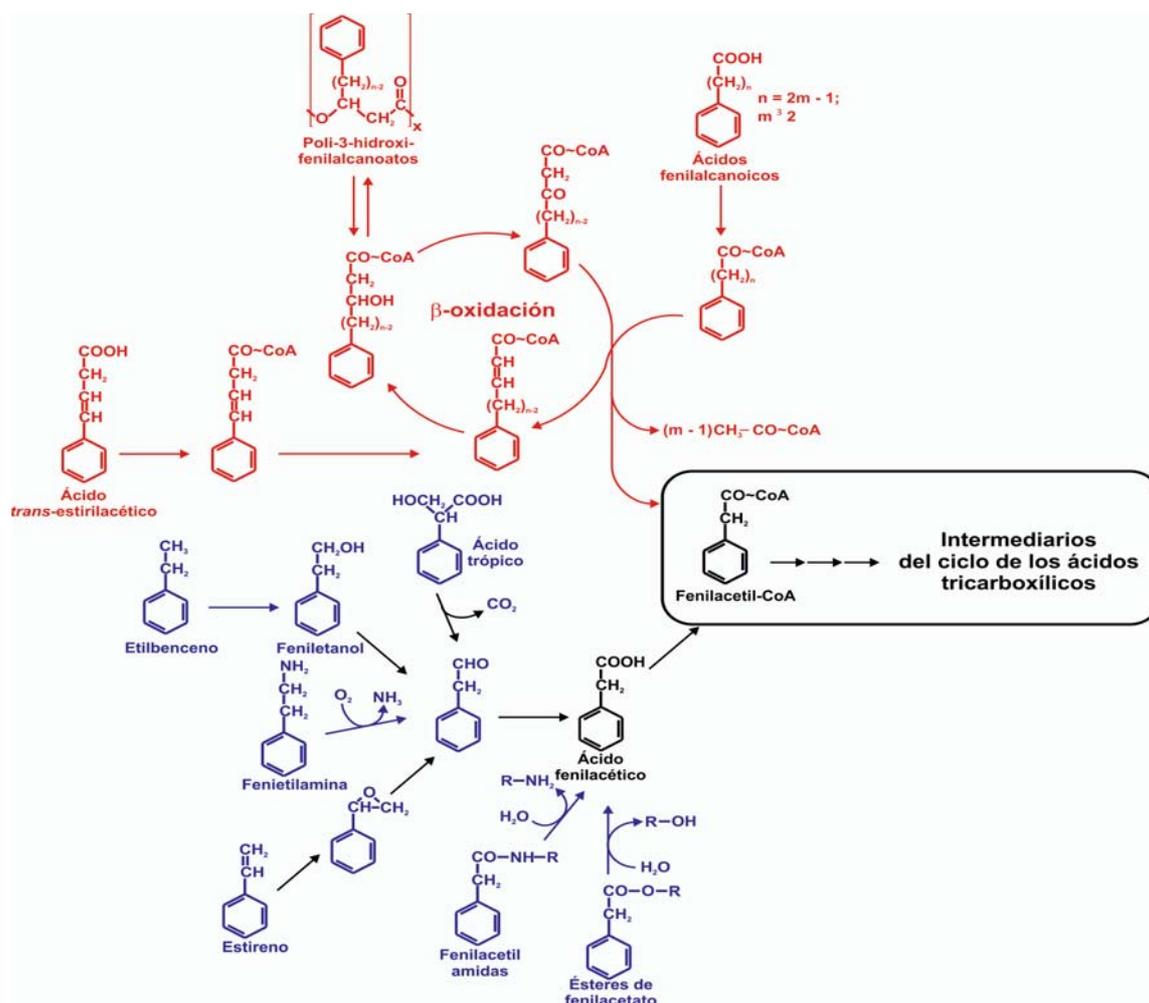


Figura 1. Estructura del catabolón del fenilacetil-CoA. Representación esquemática de todas las rutas catabólicas que componen esta unidad funcional.

Ruta central del catabolón

Los primeros estudios que abordaron la degradación bacteriana del ácido fenilacético proponían que la degradación de este compuesto requería la hidroxilación del anillo aromático generando 2-hidroxi-, 3-hidroxi-, 4-hidroxi-, 2,5-dihidroxi- o 3,4-dihidroxifenilacético) (Olivera et al., 1994). Sin embargo, nuestro grupo de investigación puso de manifiesto que en *Pseudomonas putida* U (CECT 4848), una bacteria con una enorme versatilidad metabólica, la degradación del ácido fenilacético requería, en primera instancia, su conversión en fenilacetil-CoA (PhAc-CoA). Esta reacción se catalizaba por la enzima fenilacetil-CoA ligasa (en adelante denominada PCL) en presencia de Mg²⁺, ATP, CoA y de ácido fenilacético (Martínez-Blanco et al., 1990).

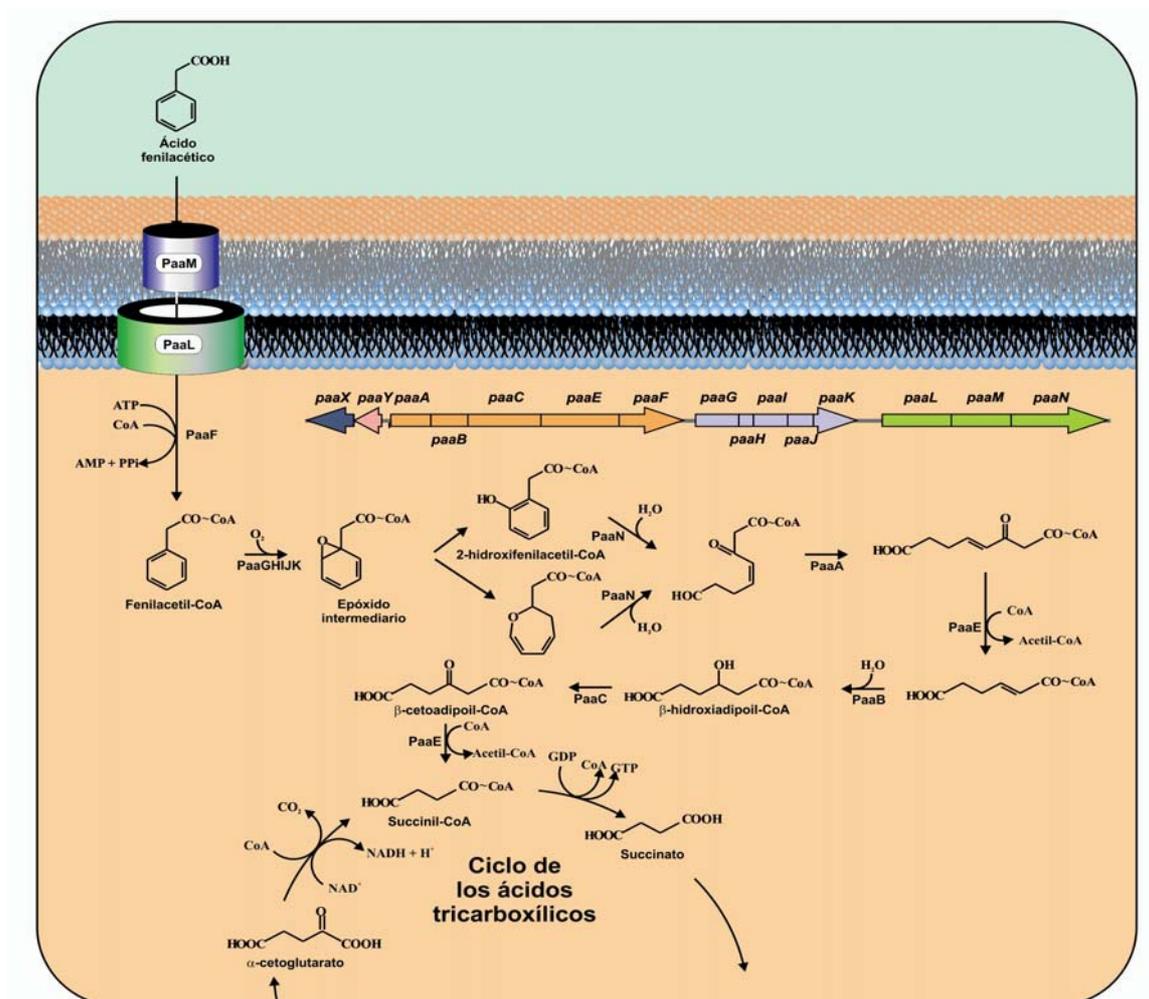


Figura 2. Organización de los genes que codifican la ruta central del catabolón del fenilacetil-CoA y descripción de las diferentes etapas requeridas para su transformación en metabolitos generales.

Estudios realizados con diferentes mutantes (obtenidos tras mutagénesis con el transposón Tn5) incapaces de degradar el ácido fenilacético (PhAc) revelaron que todos ellos eran capaces de crecer en medios de cultivo en los que las únicas fuentes de carbono eran derivados hidroxilados del ácido fenilacético lo que sugería que, al menos en esa bacteria, la ruta de degradación del PhAc era diferente a las propuestas en otros microorganismos. Adicionalmente, se comprobó que la enzima PCl se inducía sólo cuando *P. putida* U crecía en medios que contenían como fuentes de carbono PhAc o moléculas a partir de las cuales se obtuviera PhAc o PhAc-CoA (Olivera et al., 1998).

Los estudios genéticos realizados con mutantes incapaces de degradar PhAc (PhAc-) permitieron identificar el punto de inserción del transposón en

cada uno de ellos, lo que condujo a la localización de todos los genes requeridos para la degradación del PhAc en un fragmento continuo de DNA de 18 Kb. Su análisis en *P. putida* U reveló que esta agrupación genética (*cluster paa*) estaba integrada por 15 genes diferentes organizados en cinco operones contiguos denominados *paaABCEF*, *paaGHIJK*, *paaLMN*, *paaY* y *paaX* (**Fig. 3**). Estos genes codifican 15 proteínas diferentes que se agrupan en las seis unidades funcionales siguientes: (i) un sistema de transporte (PaaL y PaaM); (ii) una ligasa que sintetiza PhAc-CoA (PaaF); (iii) un sistema que hidroxila el anillo bencénico del fenilacético en posición orto (PaaGHIJK); (iv) una proteína que cataliza la apertura del anillo (PaaN); (v) una ruta de β -oxidación (PaaABCE) que degrada el producto generado tras la apertura del anillo (**Fig. 2**) y dos proteínas reguladoras, un represor transcripcional (PaaX) y una acetiltransferasa (PaaY) que podría modular la actividad de la ligasa (PaaF) mediante acetilación de residuos de lisina.

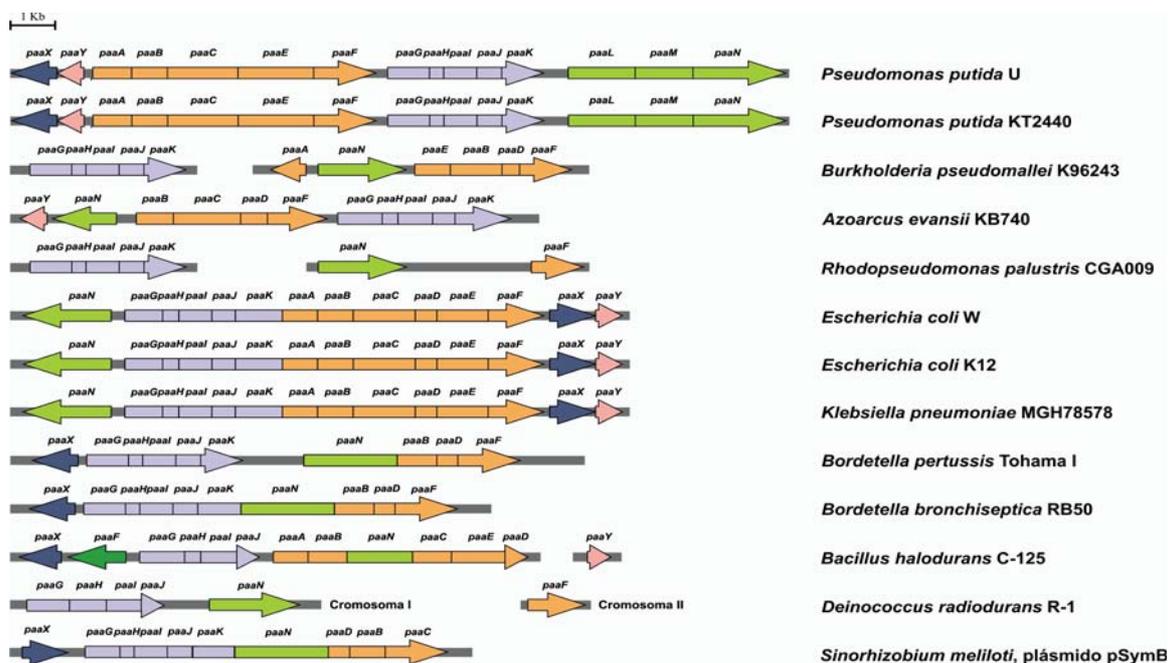


Figura 3. Organización de los genes que codifican las enzimas requeridas para la asimilación del ácido fenilacético en diferentes microorganismos. Los genes responsables de una misma función aparecen con el mismo color.

El análisis genético de diferentes genomas bacterianos reveló que estos genes aparecen en otros muchos microorganismos (**Fig. 3**), siendo su organización similar en unos casos y muy diferentes en otros (Ferrández et al., 1998).

Estos resultados sugieren que la capacidad para degradar PhAc no es una característica específica de una estirpe bacteriana concreta, sino que se trata de un proceso mucho más general, que ha sido conservado evolutivamente debido, probablemente, a que su existencia confiere a las bacterias que lo poseen una mayor versatilidad catabólica y, por lo tanto, una mayor capacidad para sobrevivir y para colonizar nuevos hábitats.

Rutas catabólicas periféricas

En este apartado describiremos someramente la información que se posee sobre aquellas rutas, denominadas periféricas, responsables de la transformación de diferentes compuestos aromáticos en PhAc o en PhAc-CoA.

Ruta catabólica del estireno

La región cromosómica implicada en la transformación de estireno en PhAc ha sido caracterizada en diferentes especies de *Pseudomonas* (Beltrametti et al., 1997; Velasco et al., 1998). Esta región contiene dos operones, uno catabólico constituido por los genes *styABCD* y otro regulador integrado por los genes *stySR* (**Fig. 4**). Los genes *styAB* codifican las dos subunidades de una monooxigenasa que transforma el estireno en epóxido de estireno. Este compuesto, muy tóxico, es sustrato de una isomerasa (StyC) que lo transforma en fenilacetaldehído, que posteriormente es oxidado a PhAc por una fenilacetaldehído deshidrogenasa (StyD). Esta ruta es inducida por estireno y en ese proceso participa un sistema de transducción de señales de dos componentes (*stySR*). StyS es un sensor que responde a estireno y StyR es un activador transcripcional que potencia la expresión de los genes *styABCD* (Velasco et al., 1998).

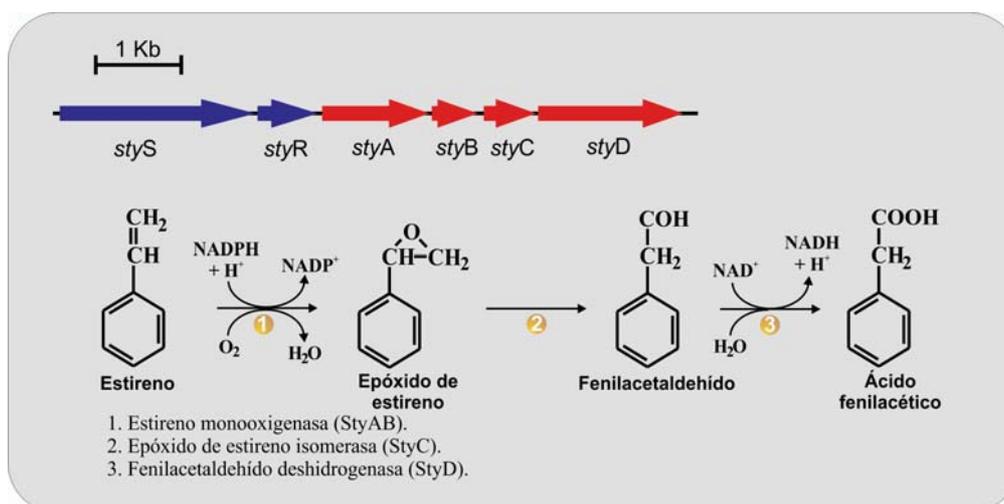


Figura 4. Representación esquemática de los genes y de la ruta requerida para la transformación de estireno en ácido fenilacético.

Ruta responsable de la degradación de 2-feniletilamina

La degradación de 2-feniletilamina en *P. putida* U es un proceso mucho más complicado de lo que se creía y del que había sido descrito en *E. coli* (Ferrández et al., 1997). En *Pseudomonas* la degradación de esta amina requiere una ruta constituida por nueve proteínas diferentes (PeaABCDEFGHR) que catalizan el transporte (PeaHR), su desaminación a fenilacetaldehído (por acción de una quinohemoproteína amino deshidrogenasa, PeaABCD) y la oxidación de este compuesto a PhAc por una fenilacetaldehído deshidrogenasa (PeaE). Otras dos proteínas (PeaF y PaaG) se requieren también para la degradación de 2-feniletilamina. Aunque su función aún no ha sido esclarecida, los genes que las codifican aparecen, en todos los microorganismos en que han sido descritos, ligados siempre a los *peaABCD* (**Fig. 5**), lo que sugiere que deben participar, probablemente como proteínas colaboradoras, en las reacciones de desaminación de aminas primarias (Arias et al., 2008).

Degradación de 2-feniletanol

El catabolismo del feniletanol en *P. putida* U requiere el transporte de este compuesto desde el medio de cultivo, su oxidación a fenilacetaldehído y su oxidación ulterior a PhAc. La ruta completa (Ped) requiere la participación de trece genes diferentes (*pedS₁R₁ABCS₂R₂DEFGHI*, **Fig. 5**) que codifican dos sistemas de transducción de señales de dos componentes (PedS₁R₁ y PedS₂R₂); una proteína periplásmica de unión (PedG) que participa en el transporte de ese alcohol; una quinoproteína alcohol deshidrogenasa (PedEH); un citocromo c (PedF); una aldehído deshidrogenasa (PedI) responsable de la transformación de fenilacetaldehído en PhAc (y que es diferente a la que participa en la ruta de degradación de 2-feniletilamina) y un sistema de eflujo (PedABC) perteneciente a la familia ABC y que asegura la eliminación intracelular de feniletanol cuando se alcanzan concentraciones inusualmente altas o potencialmente tóxicas en el interior de la bacteria. Otra proteína, PedD, parece jugar un papel estructural importante, ya que es esencial para la organización del complejo responsable de la oxidación de diferentes alcoholes. Adicionalmente, la degradación de 2-feniletanol requiere la participación de dos rutas adicionales. Una de ellas (PqqABCDEF) es la responsable de la síntesis del grupo prostético requerido por algunas alcohol-deshidrogenasas, mientras que la otra (CcmABCDEFGHI) se precisa para las modificaciones post-traduccionales implicadas en la maduración y correcta localización de los citocromos. En resumen, la oxidación de 2-feniletanol a ácido fenilacético es un proceso complejo en el que participan tres rutas metabólicas y 28 proteínas diferentes (Arias et al., 2008).

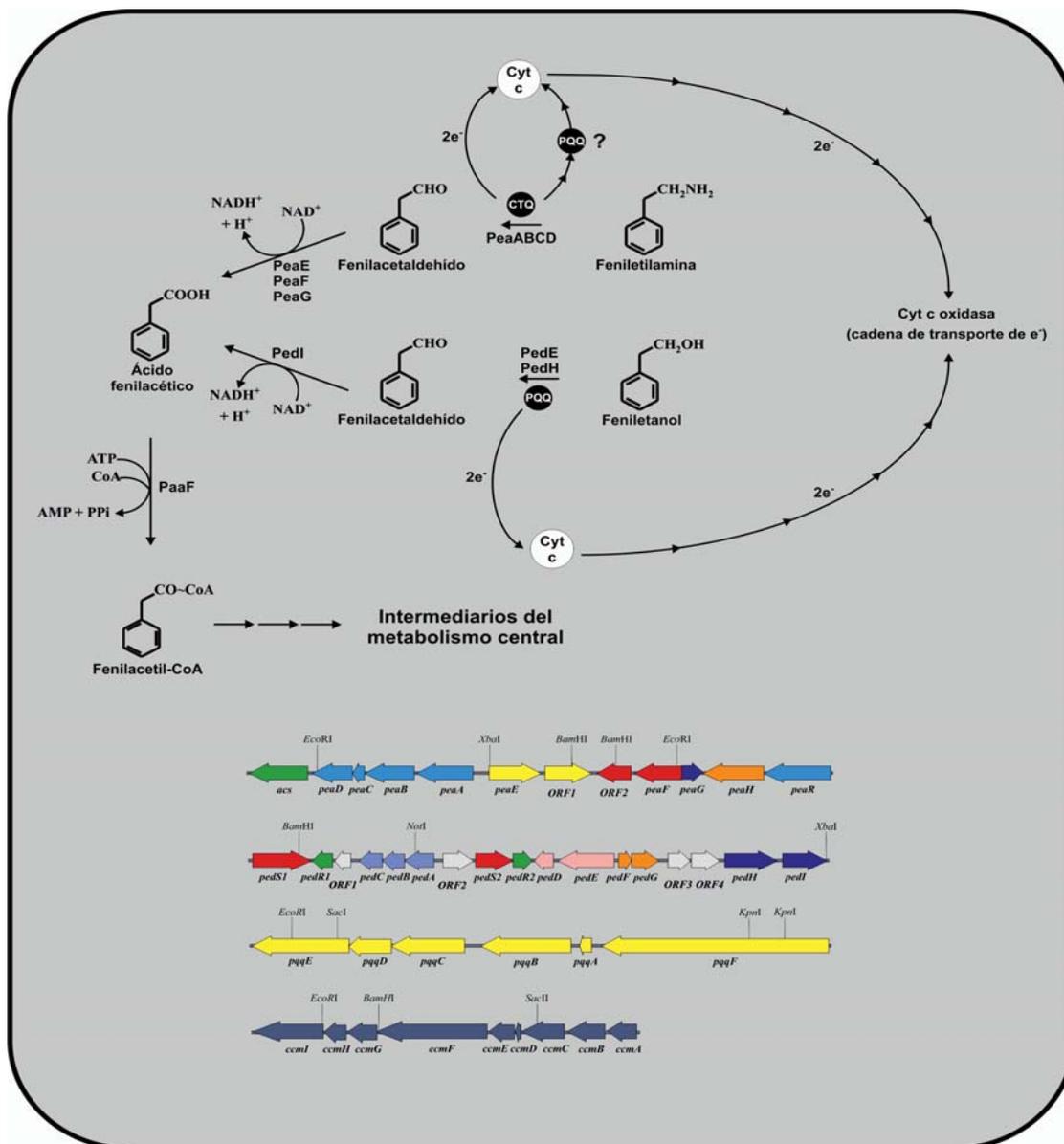


Figura 5. Representación esquemática de los genes y de las rutas requeridas para la transformación de 2-feniletilamina y 2-feniletanol en ácido fenilacético.

Ruta catabólica requerida para la degradación de n-fenilalcanoatos

La degradación de los ácidos n-fenilalcanoicos (n-PhAs) en *P. putida* U requiere las mismas enzimas que participan en la β -oxidación de los ácidos grasos (García et al., 1999). Una vez que los PhAs son tomados por la bacteria, se activan con CoA mediante una reacción catalizada por una acil-CoA ligasa (FadD). Posteriormente, una acil-CoA deshidrogenasa (FadF) cataliza la introducción de un doble enlace en la posición 2 de la cadena alifática.

Finalmente, el complejo FadBA, formado por dos proteínas (FadB y FadA) cataliza la liberación de unidades de acetil-CoA. Las proteínas FadBA poseen cinco actividades enzimáticas, cuatro de ellas (enoil-CoA hidratasa, 3-OH-acil-CoA-deshidrogenasa, *cis*-D3-*trans*-D2-enoil-CoA isomerasa y, 3-OH-acil-CoA epimerasa) corresponden a FadB, mientras que la actividad 3-cetoacil-CoA tiolasa (que conduce a la liberación de un resto de acetil-CoA tras el ataque nucleofílico del SH del CoA sobre el carbonilo del 3-cetoacil-CoA) es inherente a la proteína FadA. La degradación de n-PhAs en los que n es un número par, conducen a PhAc-CoA, mientras que aquellos otros en los que n es un número impar generan *trans*-cinamoil-CoA (un derivado catabólico del 3-fenilpropionil-CoA) que al no poder ser catabolizado es hidrolizado por tioesterasas liberándose al medio de cultivo como ácido cinámico (Olivera et al., 2001a y 2001b).

Degradación del ácido *trans*-estirilacético

Este compuesto es degradado hasta PhAc-CoA mediante la ruta de β -oxidación. En primer lugar, el ácido *trans*-estirilacético es activado a *trans*-estiril-CoA, que sufre una isomerización del doble enlace (pasa de la posición 2 a la 3) generando 4-fenilbutanoil-CoA (**Fig. 1**). Este tioéster se degrada tal y como se indicó en el apartado anterior.

Ruta catabólica del ácido trópico

El ácido trópico es un derivado de la atropina, un alcaloide topánico sintetizado por la planta solanácea *Atropa belladonna*. Cuando se añade atropina a cultivos de algunas *Pseudomonas sp.* AT3 o de *Flavobacterium sp.*, estas bacterias son capaces de transformar ese compuesto en tropina y en ácido trópico (van den Twell et al., 1988; Long et al., 1997). El ácido trópico es oxidado a semialdehído fenilmalónico, que tras sufrir una descarboxilación para dar fenilacetaldehído, es oxidado a PhAc (**Fig. 1**).

Catabolismo de amidas y ésteres derivados del fenilacético

Los ésteres y amidas derivadas del PhAc son hidrolizados por diferentes enzimas entre las que cabe destacar la penicilina G acilasa (Pac), un miembro de las enzimas conocidas como β -lactama-acilasas, por ser frecuentemente utilizadas en la semisíntesis de diferentes antibióticos β -lactámicos (Luengo et al., 1998). Aunque Pac cataliza la hidrólisis de la bencilpenicilina (penicilina G) a ácido 6-aminopenicilánico (6-APA) y PhAc, puede hidrolizar también diferentes ésteres tanto del PhAc como los de otros ácidos aromáticos o alifáticos (tienilacético, hexanoico, etc.).

Ruta catabólica responsable de la degradación de etilbenceno

El etilbenceno suele ser usado como disolvente y es un precursor del estireno. Este compuesto se obtiene como residuo durante la producción de gasolinas de elevado octanaje. El estudio de la degradación de este compuesto por diferentes *Pseudomonas* (*P. fluorescens* CA-4 y *Pseudomonas sp.* Y2) reveló que en primera instancia el etilbenceno era oxidado a 2-feniletanol, compuesto que posteriormente era transformado en PhAc, vía fenilacetaldehído (Corkey et al., 1994).

Aplicaciones biotecnológicas

Como hemos indicado anteriormente, el catabolón del PhAc-CoA lo integran numerosas rutas metabólicas en las que participan enzimas que catalizan reacciones particulares, intermediarios catabólicos poco frecuentes y reguladores inusuales. Esto hace que algunos de esos elementos puedan tener interesantes aplicaciones biotecnológicas. A continuación se describen alguna de las más importantes.

Síntesis enzimática de penicilinas

La etapa final en la biosíntesis de bencilpenicilina (penicilina G) en el hongo *P. chrysogenum* está catalizada por tres enzimas diferentes. En primer lugar el PhAc, cadena lateral de la bencilpenicilina, es incorporada por el hongo, desde el medio de cultivo, mediante un sistema de transporte (PhAcTS). Posteriormente, el PhAc es activado a PhAc-CoA por una fenilacetil-CoA ligasa (PCL) y, finalmente, una aciltransferasa (AT) es capaz de acilar el grupo amino del 6-APA (o intercambiar el residuo de α -aminoadípico de la isopenicilina N, -IPN-) para generar penicilina G (**Fig. 6**). Dado que la PCL de *Pseudomonas putida* (PCLps) es una enzima que cataliza la misma reacción que la de *Penicillium*, su acoplamiento con la AT de *Penicillium* (ATpen) permitió, por primera vez, reproducir *in vitro* la etapa la etapa final de biosíntesis de penicilina. Adicionalmente, dado que ambas PCLps y ATpen poseen una amplia especificidad de sustrato, el sistema enzimático PCLps/ATpen condujo a la síntesis de más de 60 penicilinas diferentes entre las que se incluían todas las naturales, muchas semi-sintéticas y otras, que como la ticarcilina, hasta ese momento sólo se obtenían mediante síntesis química (Luengo, 1998).

Manipulación genética de *P. chrysogenum*: mejora de su capacidad biosintética

El hecho de que el sistema enzimático PCLps/ATpen funcionase eficazmente *in vitro* sugería que la expresión del gen que codifica PCLps en

Penicillium, podría incrementar la capacidad de producción de bencilpenicilina en este hongo. El análisis de los recombinantes que expresaban el gen de *Pseudomonas* reveló que todos ellos producían entre un 150 y un 300 % más penicilina que la cepa parental (Miñambres et al., 1996). Estos resultados demostraron por primera vez que podía incrementarse la biosíntesis de penicilina G en *Penicillium chrysogenum* mediante la expresión de genes procedentes de otro microorganismos.

Biotransformación de PhAc en 2'-OH-PhAc

El ácido 2'-OH-PhAc es un compuesto químico que suele utilizarse para la síntesis de muchas otras moléculas, y que, además, tiene importantes aplicaciones. El 2'-OH-PhAc se obtiene mediante síntesis química y aunque en algún caso se ha conseguido por fermentación (Staudenmaier et al., 1998), el uso de microorganismos para producir esta molécula es poco frecuente. En *P. putida* la mutación del gen *paaN* impide que el 2'-OH-PhAc-CoA sea transformado en un tioéster alifático (Fig. 2) y, por lo tanto, al acumularse, sería hidrolizado, excretándose 2'-OH-PhAc. La delección del gen *paaN* nos permitió obtener un mutante que en presencia de PhAc y de otra fuente de carbono que asegurase el crecimiento acumulaba en el caldo de cultivo 2'-OH-PhAc. Adicionalmente, cuando una cepa de *E. coli* en la que se expresaba un plásmido en el que habíamos clonado los genes *paaFGHIJK*, se cultivaba en medios que contenían PhAc, más del 85% de ese compuesto era transformado en 2'-OH-PhAc y acumulado en el caldo de cultivo (Luengo et al., 2001). El interés biotecnológico de esta biotransformación no sólo radica en el hecho de obtener 2'-OH-PhAc por fermentación, sino en que también podían obtenerse otras moléculas. Así, la expresión del gen que codifica la benzoil-CoA sintetasa de *Rhodopseudomonas palustris* junto a los *paaGHIJK* de *Pseudomonas*, podría conducir a la síntesis de 2-OH-benzoico (ácido salicílico), un precursor de la aspirina.

Degradación y biotransformación del estireno

El estireno (Sty) es un producto aromático obtenido por síntesis química que posee numerosas aplicaciones industriales. Este compuesto es muy tóxico incluso a concentraciones bajas, por lo que debe evitarse la exposición o inhalación de sus gases ya que puede ser mortal para el hombre y para animales. Con objeto de eliminar el estireno de aquellos ambientes en los que se genera, el aire de esos recintos se pasa a través de biofiltros que contienen atrapadas, sobre distintos soportes, bacterias que por poseer las rutas periféricas (Sty) de este

catabolón (**Fig. 4**) son capaces de metabolizar el estireno. De este modo el aire a la salida del filtro está exento de estireno o de su derivado más tóxico (epóxido de estireno).

También se han diseñado biosensores muy específicos útiles para detectar trazas de estireno en un ambiente concreto. En estos casos, el aire de esos lugares se hace pasar a través de columnas que poseen bacterias inmovilizadas en las que se ha clonado un gen testigo (por ejemplo el que codifica la luciferasa u otra enzima capaz de generar una señal luminiscente) bajo el control de proteínas sensoras que responden específicamente a estireno.

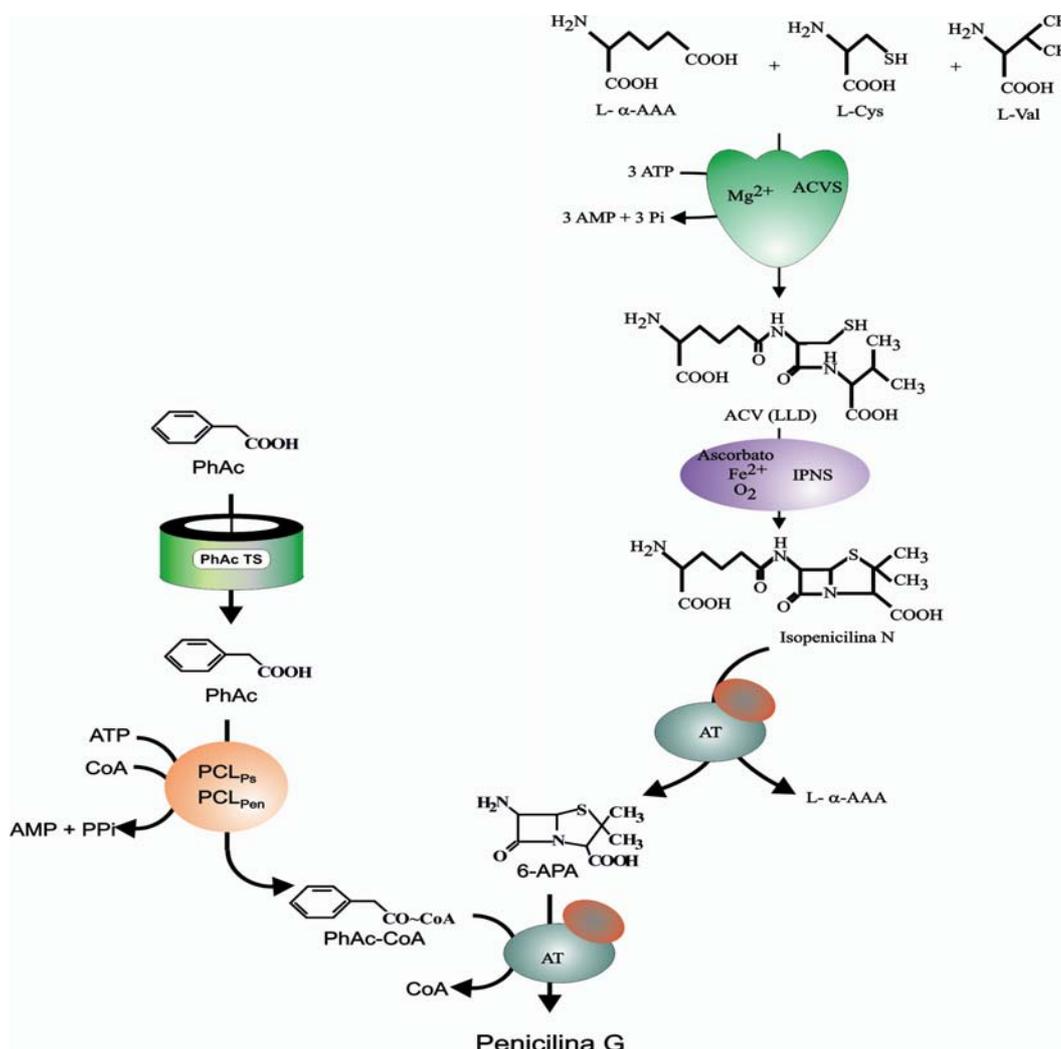


Figura 6. Etapa final de biosíntesis de penicilina G (bencilpenicilina) en *Penicillium chrysogenum*. ACVS, aminoadipoil-L-cisteinil-D-valina sintetasa; IPNS, Isopenicilina N sintetasa (ciclasa); AT, acil-CoA:IPN(6-APA) aciltransferasa; PhAcTS, transportador del ácido fenilacético; PCL, fenilacetil-CoA ligasa (PCLpen de *Penicillium*; PCLps de *Pseudomonas*).

Producción de nuevos bioplásticos

Cuando especies pertenecientes al género *Pseudomonas* se cultivan en diferentes medios que contienen ácidos alcanoicos como fuentes de carbono, esas bacterias acumulan en su interior unos polímeros constituidos por poli-3-OH-alcanoatos (PHAs) que les sirve como material de reserva y que poseen características muy semejantes a los plásticos de origen petroquímico. Sin embargo, a diferencia de ellos, estos poseen dos ventajas que les hacen particularmente interesantes: son biodegradables y biocompatibles.

Estudios acerca de la capacidad de producción de PHAs en *P. putida* U nos permitieron concluir que esta especie era capaz de sintetizar también otro tipo de poliésteres constituidos por monómeros aromáticos (poli-3-OH-fenilalcanoatos, PhHAs) lo que les dotaba de unas características físico-químicas y de una propiedades muy interesantes (García et al., 1999). Más aún, cuando a los caldos de cultivo se añadían ácidos alcanoicos y arilalcanoicos conjuntamente, *P. putida* U acumulaba PHAs en los que se alternaban monómeros alifáticos y aromáticos (Olivera et al., 2001a y 2001b).

El análisis genético de la ruta responsable de la síntesis de estos polímeros en *P. putida* U reveló la existencia en una agrupación génica que contenía cinco genes (*phaC1ZC2DFI*) que codificaban las proteínas específicas requeridas para la síntesis y organización estructural de estos polímeros. PhaC1 y PhaC2 son dos polimerasas que catalizan la condensación de acil-CoA derivados generando poli-3-OH-alcanoatos y CoA. PhaD es una proteína con función reguladora, mientras que PhaF y PhaI (dos proteínas denominadas phasinas) se requieren para la formación de los gránulos de PHAs. La otra proteína, PhaZ, es una despolimerasa que libera residuos de 3-OH-(aril)alcanoatos desde el polímero de PHA. Estos monómeros, una vez activados a tioéster de CoA sufren una β -oxidación en la que participan otras dos proteínas (FadBA) tal y como se explicó anteriormente.

Aunque *P. putida* U es capaz de sintetizar PHAs constituidos exclusivamente por monómeros de naturaleza alifática (PHAs), aromática (PhHAs) o aquellos otros que contienen los dos (PHA/PhHAs, polímeros mixtos), la cantidad de polímero de naturaleza (PhHAs) es mucho menor que la de PHAs. Por esta razón y con el fin de superproducir estos nuevos polímeros, se procedió a aislar diferentes tipos de mutantes mediante: (i) mutación/delección del gen *phaZ*; mediante mutación/delección de los genes que codifican alguna de las enzimas responsables de la ruta del glioxílico o mediante la eliminación de los genes *fadBA* responsables de cinco de las actividades requeridas para la β -oxidación de los ácidos grasos. Los mutantes pertenecientes a este último grupo

acumulaban en su interior una gran cantidad de polímero (más del 90% del citoplasma estaba ocupado por gránulos de PhHAs) y sufrían unas modificaciones morfológicas muy acusadas (el grosor de las bacteria incrementaba unas 5 veces y su longitud era más de 10 veces superior al de la cepa silvestre) (**Fig. 7**). Con estos mutantes ha sido posible obtener un gran número de polímeros diferentes, cuya estructura puede ser controlada a voluntad simplemente modificando la proporción de monómeros (alifáticos y/o aromáticos) añadidos al caldo de cultivo. En función de la proporción y naturaleza de los monómeros polimerizados, las características físico-químicas de los PHAs/PhHAs obtenidos eran diferentes y, por lo tanto, también sus aplicaciones. Algunos de ellos están siendo utilizados en la industria farmacéutica para la elaboración de microesferas (**Fig. 8**) que serán empleadas como vehículos de drogas.

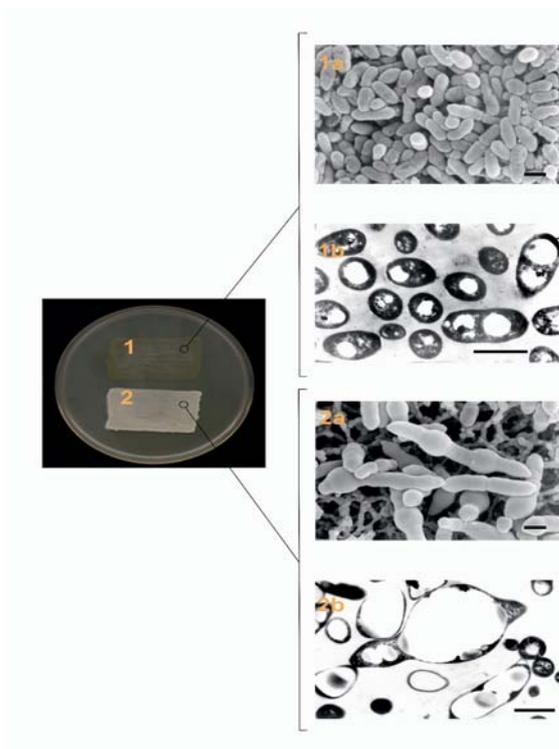


Figura 7. Aspecto morfológico de *Pseudomonas putida* U (cepa parental, 1) y de un mutante superproductor (2) en el que se han deletado los genes *fadBA* que codifican el complejo enzimático responsable de la β -oxidación de los ácidos grasos. Microfotografías realizadas con microscopio de rastreo (1a y 2a) y de transmisión (1b y 2b) de esas dos cepas. En todos los casos las cepas se cultivaron en medios de composición definida que contenía 4-OH-PhAc (10 mM) como fuente de carbono y 7-fenilheptanoico (5 mM) como precursor de bioplásticos. Todas las barras equivalen a 1 μ m (tomado de Luengo et al., *Curr. Opin. Microbiol.*, 6:251-260, 2003).

Otros mutantes han sido empleados para la obtención por fermentación del ácido cinámico (3-fenilpropenoico).

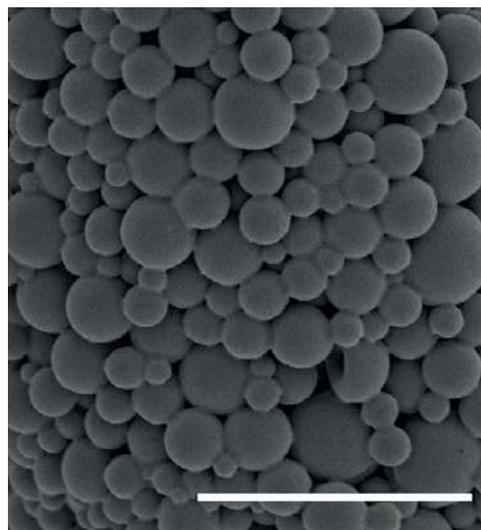


Figura 8. Fotografía de las microsferas obtenidas a partir de bioplásticos para ser utilizadas como vehículos de fármacos. La barra corresponde a 10 μm .

Otras aplicaciones del catabolón del PhAc-CoA y perspectivas de futuro

El hecho de que ciertas bacterias hayan logrado constituir una unidad catabólica compleja, a partir de rutas individuales específicas, ha hecho posible que esos microorganismos sean capaces de degradar un gran número de compuestos estructuralmente semejantes y que puedan, mediante la incorporación de nuevos genes, ampliar su potencial metabólico de una manera sencilla. Así por ejemplo, al disponer de los genes que permiten la transformación del ácido trópico en fenilacético, es más sencillo degradar atropina (un compuesto que no puede ser catabolizado) ya que sólo se requerirá la incorporación del gen/genes requeridos para la conversión de atropina en ácido trópico. De modo análogo, clonando en *P. putida* U los genes requeridos para la degradación del cinámico (3-fenilpropenoico) en otras bacterias, podría asimilarse completamente los ácidos n-arilalcanoicos que contienen un número impar de átomos de carbono.

Por otra parte, la manipulación genética de los genes reguladores que controlan la expresión de la vía central o la de las periféricas puede tener importantes repercusiones ecológicas. Así por ejemplo, la delección del gen *paaX* que codifica un represor de la ruta central (Paa) y la del gen *crc* responsable de la represión catabólica, hace posible que la ruta responsable de la transformación de PhAc en succinil-CoA y en acetil-CoA se exprese constitutivamente incluso en presencia de concentraciones elevadas de azúcares y otras fuentes de carbono. Estos mutantes pueden ser utilizados para eliminar ácido fenilacético de aquellos ambientes (vertidos a depuradoras de fábricas de producción de penicilina) en los que exista una concentración elevada de esa molécula.

La localización de los diferentes genes que componen el catabolón del PhAc-CoA en diferentes microorganismos (incluso en especies alejadas

filogenéticamente) revela la ubicuidad del mismo lo que pone de manifiesto su importancia metabólica.

En la actualidad, además del aquí descrito, se han identificado varios catabolones: el del 4-OH-PhAc, el del colesterol y el del imidazolacético. El análisis molecular de estos modelos está permitiendo establecer la relación existente entre convergencia metabólica y potencial evolutivo en bacterias.

Bibliografía

- Arias, S., Olivera, E. R., Arcos, M., Naharro, G. y Luengo, J. M. 2008. Genetic analyses and molecular characterization of the pathways involved in the conversión of 2-phenylethylamine and 2-phenylethanol into phenylacetic acid in *Pseudomonas putida* U. *Environmental Microbiology* 10:6920-6926.
- Arcos, M., Olivera E. R., Arias, S., Naharro, G. y Luengo, J. M. 2010. The 3,4-dihydroxyphenylacetic acid catabolon, a catabolic unit for degradation of biogenic amines tyramine and dopamine in *Pseudomonas putida* U. *Environmental Microbiology* 12:1684-1704.
- Beltrametti, F., Marconi, A. M., Bestetti, G., Colombo, C., Galli, E., Ruzzi, M. y Zennaro, E. 1997. Sequencing and functional analysis of styrene catabolism genes from *Pseudomonas fluorescens* ST. *Applied Environmental Microbiology* 63:2232-2239.
- Corkery, D. M., O'Connor, K. E., Buckley, C. M. y Dobson, A. D. W. 1994. Ethylbenzene degradation by *Pseudomonas fluorescens* strain CA-4. *FEMS Microbiology Letters* 124:23-28.
- Ferrández, A., Miñambres, B., García, B., Olivera, E. R., Luengo, J. M., García, J. L. y Díaz, E. 1998. Catabolism of phenylacetic acid in *Escherichia coli*. Characterization of a new aerobic hybrid pathway. *Journal of Biological Chemistry* 273:25974-25986.
- Ferrández, A., Prieto, M. A., García, J. L. y Díaz, E. 1997. Molecular characterization of PadA, a phenylacetaldehyde dehydrogenase from *Escherichia coli*. *FEBS Letters* 406:23-27.
- García, B., Olivera, E. R., Miñambres, B., Fernández-Valverde, M., Cañedo, L. M., Prieto, M. A., García, J. L., Martínez, M. y Luengo, J. M. 1999. Novel biodegradable aromatic plastic from a bacterial source. Genetic and biochemical studies on a route of the phenylacetyl-CoA catabolon. *Journal of Biological Chemistry* 274:29228-29241.
- Long, M. T., Bartholomew, B. A., Smith, M. J., Trudgill, P. W. y Hopper, D. J. 1997. Enzymology of oxidation of tropic acid to phenylacetic acid in

- metabolism of atropine by *Pseudomonas* sp. strain AT3. *Journal of Bacteriology* 179:1044-1050.
- Luengo, J. M. 1998. Enzymatic synthesis of penicillins. In *Comprehensive Natural Products Chemistry* (eds. Barton, D., and Nakanishi, K.). Vol. 4, pp 239-274. Pergamon Press, New York.
- Luengo, J. M., Arias, S., Sandoval, A., Arias-Barrau, E., Arcos, M., Naharro, G. y Olivera, E. R. 2004. From aromatics to bioplastics: The phenylacetyl-CoA catabolon as a model of catabolic convergence. In *Recent Research Developments in Biophysic and Biochemistry* (ed. Gayathri A.). Vol. 4, pp. 257-292 Research Signpost, Kerala, India
- Luengo, J. M., García, J. L. y Olivera, E. R. 2001. The phenylacetyl-CoA catabolón: a complex catabolic unit with broad biotechnological applications. *Molecular Microbiology* 39:1434-1442.
- Martínez-Blanco, H., Reglero, A., Rodríguez-Aparicio, L. B. y Luengo, J. M. 1990. Purification and biochemical characterization of phenylacetyl-CoA ligase from *Pseudomonas putida*. A specific enzyme for the catabolism of phenylacetic acid. *Journal of Biological Chemistry* 265:7084-7090.
- Miñambres, B., Martínez-Blanco, H., Olivera, E. R., García, B., Díez, B., Barredo, J. L., Moreno, M. A., Schleissner, C., Salto, F. y Luengo, J. M. 1996. Molecular cloning and expression in different microbes of the DNA encoding *Pseudomonas putida* phenylacetyl-CoA ligase. Use of this gene to improve the rate of benzylpenicillin biosynthesis in *Penicillium chrysogenum*. *Journal of Biological Chemistry* 271:33531-33538.
- Olivera, E. R., Carnicero, D., García, B., Miñambres, B., Moreno, M. A., Cañedo, L., DiRusso, C. C., Naharro, G. y Luengo, J. M. 2001a. Two different pathways are involved in the b-oxidation of n-alkanoic and n-phenylalkanoic acids in *Pseudomonas putida* U: Genetic studies and biotechnological applications. *Molecular Microbiology* 39:863-874.
- Olivera E. R., Carnicero, D., Rodrá, R., Miñambres B., García, B., Abraham, G. A., Gallardo, J., San Román, J., García J. L., Naharro, G. y Luengo, J. M. 2001b. Genetically engineered *Pseudomonas*: a factory of new bioplastics with broad applications. *Environmental Microbiology* 3:612-618.
- Olivera, E. R., Miñambres, B., García, B., Muñiz, C., Moreno, M. A., Ferrández, A., Díaz, E., García J. L. y Luengo, J. M. 1998. Molecular characterization of the phenylacetic acid catabolic pathway in *Pseudomonas putida* U: The phenylacetyl-CoA catabolon. *Proceedings of National Academy of*

- Sciences USA* 95:6419-6424.
- Olivera, E. R., Reglero, A., Martínez-Blanco, H., Fernández-Medarde, A., Moreno, M. A. y Luengo, J. M. 1994. Catabolism of aromatics in *Pseudomonas putida* U. Formal demonstration that phenylacetic acid and 4-hydroxyphenylacetic acid are catabolized by two unrelated pathways. *European Journal of Biochemistry* 221:375-381.
- Staudenmaier, H. R., Meyer, J., Hauer, B., Ladner, W., Mueller, U. y Pressler, U. 1998. Preparation of 2-hydroxyphenylacetic acid by fermentation. US Patent 5739017.
- Timmis, K. N. y Pieper, D. H. 1999. Bacteria designed for bioremediation. *Trends Biotechnology* 17:201-204.
- Utkin, I. B., Yakimov, M. M., Matveeva, L. N., Kozlyak, E. I., Rogozihin, I. S., Solomon, Z. G. y Bezborodov, A. M. (1991) Degradation of styrene and ethylbenzene by *Pseudomonas* species Y2. *FEMS Microbiology Letters* 77:237-242.
- van den Tweel, W. J. J., Smits, J. P. y de Bont, J. A. M. (1988) Catabolism of DL- α -phenylhydracrylic, phenylacetic and 3- and 4-hydroxyphenylacetic acid via homogentisic acid in *Flavobacterium* sp. *Archives of Microbiology* 149: 207-213.
- Velasco, A., Alonso, S., García, J. L., Perera, J. y Díaz, E. (1998). Genetic and functional analysis of the styrene catabolic cluster of *Pseudomonas* sp. strain Y2. *Journal of Bacteriology* 180:1063-1071.



José María Luengo Rodríguez es Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de León. Ha dirigido 36 Proyectos de Investigación financiados por diferentes Organismos e Instituciones públicas y privadas. Ha publicado más de 100 artículos en las revistas más prestigiosas de Bioquímica, Microbiología y Biología Molecular. Es autor de 15 capítulos de libros publicados todos ellos en obras especializadas. Ha realizado más de un centenar de ponencias y comunicaciones en diversos congresos nacionales e internacionales. Es autor de 17 patentes de invención y ha dirigido 22 Tesis Doctorales. Director de un Grupo de Excelencia de la Junta de Castilla y León. Se le han reconocido seis Complementos de Investigación (Sexenios) por el Consejo General de Universidades. Fue galardonado con el Premio XXV Aniversario de la Universidad de

León a la Investigación Científica en el Área de Ciencias Experimentales y de la Salud. Ha formado parte de diferentes Comités de Expertos Nacionales e Internacionales para la Evaluación Científica y Tecnológica. Miembro del Comité Editorial de diferentes revistas internacionales punteras en el campo de la Biotecnología, Biología Molecular y Genética. Cofundador de la empresa biotecnológica BIOGES STARTERS dedicada a la producción industrial de cultivos iniciadores. Académico de Número de la Academia de Farmacia de Castilla y León.



Eliás Rodríguez Olivera es Profesor Titular del Área de Bioquímica y Biología Molecular del Departamento de Biología Molecular de la Universidad de León. Tras la realización de su Tesis Doctoral en el Área de Bioquímica permaneció en la Universidad de León realizando labores de investigación. Tras una estancia de dos años en la Universidad de Massachusetts en Amherst (MA, USA) se reincorporó en la Universidad de León en 2009 como Profesor Titular de la misma. Imparte docencia en los Grados de Enfermería, Fisioterapia e Industrias Agroalimentarias en el Campus del Bierzo y participa en la docencia del Máster "Metodología de investigación en biología

fundamental y biomedicina" y en el correspondiente programa de Doctorado asociado al Departamento de Biología Molecular. Su actual línea de investigación, incluida en el Grupo de Excelencia dirigido por el Profesor José María Luengo, está centrada en aspectos metabólicos, genómicos y proteómicos de especies del género *Pseudomonas*, así como en las aplicaciones biotecnológicas derivadas de éstos. Fruto de su labor investigadora ha publicado más de 35 artículos científicos en revistas y libros de relevancia internacional en su ámbito de trabajo.

BIOTECNOLOGÍA VEGETAL

La Biotecnología Vegetal en el entorno europeo

Pere Puigdomènech

Centre de Recerca en Agrigenòmica. CSIC-IRTA-UAB-UB. Campus UAB. Bellaterra. Barcelona

Podemos considerar la Biotecnología Vegetal tan antigua como la misma acción de los humanos sobre los vegetales con el objetivo de obtener de ellos productos para la alimentación u otros usos, por tanto tan antigua como la Agricultura. Sin embargo ha sido en el siglo XX con la introducción de la Genética primero y de la Biología Molecular después, que se ha desarrollado esta disciplina en su forma actual. Desde 1983 ha sido posible obtener plantas con modificaciones genéticas obtenidas con métodos moleculares. Estas plantas han sido el objeto de regulaciones especiales y de un intenso debate. El desarrollo de la Genómica permite la extensión de estas aplicaciones y de otras que no requieren de técnicas de transformación. En cualquier caso, la Biotecnología Vegetal ha demostrado su utilidad para responder a los retos que la producción agrícola tiene en el próximo futuro. La producción de alimentos y otros materiales en un entorno de crecimiento de la población y de cambios en el clima está necesitando utilizar todo el conocimiento disponible en la actualidad.

Palabras clave:

Modificación genética, mejora genética, genómica, regulaciones europeas, debate social.

El contexto

La acción de los humanos sobre los vegetales para obtener de ellos alimento y otros productos ha sido constante desde el inicio mismo de las sociedades sedentarias y posiblemente desde mucho antes. Por ello puede argumentarse que al domesticar plantas y al tratar los productos vegetales con microorganismos en las fermentaciones se iniciaba la Biotecnología Vegetal, milenios antes de que la palabra misma fuese inventada. Sin embargo, el desarrollo en el siglo XX primero de la Genética y después de la Biología Molecular han dado paso a maneras distintas de actuar sobre los vegetales para obtener de ellos lo que necesitamos dando lugar a lo que llamamos la Biotecnología Vegetal moderna o la Biotecnología Vegetal propiamente dicha. Europa ha estado siempre en la vanguardia del desarrollo de las Biotecnologías pero en este momento es también el lugar donde los debates y conflictos sobre su uso se dan de forma más intensa.

Forma de mencionar este artículo: Puigdomènech, P. 2014, La Biotecnología Vegetal en el entorno europeo. AmbioCiencias, 12, 70-80. Revista de divulgación científica editada por la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad de León, ISBN: 1998-3021 (edición digital), 2147-8942 (edición impresa). Depósito legal: LE-903-07.

La sociedad humana tal como la conocemos actualmente no sería posible sin una acción de los humanos de modificación intensa y continuada sobre las plantas. En el proceso que denominamos domesticación, los humanos que vivían hace unos diez mil años aplicaron su inteligencia para identificar un conjunto de especies que pudieran ser cultivadas y de las que pudieran obtenerse productos para la alimentación y otros usos como vestido, construcción de alojamientos, vehículos o armas, o como fuente de energía para iluminación, cocción o calefacción. El número de especies domesticadas fue muy reducido y también lo fue el número de variedades que acabaron utilizándose en la agricultura. Esto acabó produciendo una concentración de la actividad agrícola en pocas plantas. La FAO (Food and Agriculture Organization) de Naciones Unidas calcula que nuestras actividades agrícolas están basadas en algo más de un centenar de plantas frente al medio millón de especies cultivadas que existen en nuestro planeta.

Las variedades que se cultivan son aquellas que contienen variantes genéticas que permiten un mejor cultivo, por ejemplo, que no se dispersan tras madurar o que producen un fruto de mayores dimensiones. El hecho es que la domesticación de plantas fue un proceso en el que se acumularon variantes genéticas en un pequeño número de especies vegetales que dieron lugar a los cultivos que conocemos. Estos se fueron expandiendo por el planeta en un proceso que se aceleró durante los grandes descubrimientos del Renacimiento. La llegada de la Genética a principios del siglo XX proporcionó una nueva oportunidad al desarrollo de las mejores variedades posibles de plantas para su uso en agricultura. Gracias a la aplicación de la mejora de plantas y de técnicas agronómicas, abonos y fitosanitarios, el fantasma de la gran hambruna prevista por los malthusianos desde el siglo XVIII no llegó a producirse.

Es en este contexto en el que las técnicas del DNA recombinante, cuyo desarrollo sucedió en el último tercio del siglo XX, demuestran su utilidad para la mejora de las plantas, principalmente a través de la modificación genética. Precisamente el año pasado se celebró el 30 aniversario de las dos primeras publicaciones (Barton et al., 1983; Herrera-Estrella et al., 1983) sobre esta aplicación tan relevante, en Gante, ciudad en la que se llevaron a cabo algunos de los trabajos más importantes en esta dirección. La ocasión sirvió para recordar que Europa estuvo por delante, o al menos en primera línea, en el desarrollo de las tecnologías moleculares y en su aplicación a los sistemas vegetales.

Aplicaciones de la Biotecnología Vegetal y su marco normativo

La primera planta modificada genéticamente (GMP) se cultivó con fines comerciales en 1994, once años después de que esta posibilidad fuera demostrada en el laboratorio. Durante este período se desarrollaron las tecnologías que hicieron posibles las aplicaciones de interés para la agricultura, se pusieron en el campo GMPs de algunas de las especies más cultivadas y, además, se pusieron en marcha los marcos regulatorios para la experimentación y comercialización de los organismos modificados genéticamente (GMOs). Desde aquel momento la superficie cultivada con GMPs no ha dejado de crecer y las regulaciones existentes han ido cambiando y han sido objeto de debate en la mayoría de los países.

Aquella primera GMP cultivada fue un tomate (Flavr Savr) cuyos frutos presentaban maduración retardada. Fue producido por Calgene, una compañía de California, y este tomate junto con otro parecido desarrollado por Astra Zeneca en Gran Bretaña estuvieron a la venta en Estados Unidos y Europa hasta 1998, cuando las campañas en contra de estos cultivos provocaron una bajada en las ventas que llevó a su retirada del mercado. Sin embargo, en el año 2013 la superficie cultivada con GMPs ha llegado a más de 175 millones de hectáreas (Clive, 2013), distribuidas principalmente en los grandes países agrícolas de América (Estados Unidos, Brasil, Argentina o Canadá), de África o de Asia (India y China) para algunos cultivos (**Fig. 1**).

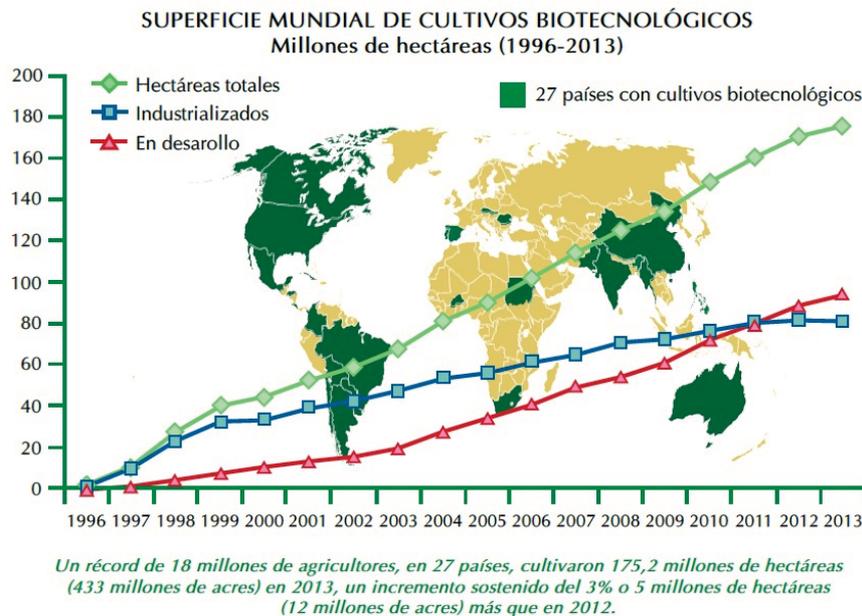


Figura 1. Progresión mundial de la superficie cultivada con GMPs durante los últimos 17 años. Se muestra también un mapa en el que se destacan los 27 países con cultivos biotecnológicos. Tomado de Clive (2013).

En Europa los cultivos de GMPs se restringen esencialmente a España y Portugal por diferentes razones. Éstas tienen que ver con el hecho de que la Península Ibérica no es autosuficiente en maíz, el cultivo modificado que se cultiva (maíz Bt), y por tanto los agricultores se enfrentan a la importación de grano americano y europeo con el que compiten. También, a diferencia de otros países europeos, en ciertas regiones como el Valle del Ebro o Cataluña se presentan invasiones de taladro, insecto contra el que no existe una resistencia conocida en el maíz y frente al cual, sin embargo, sí está protegido el maíz Bt como consecuencia de su modificación genética. Éstas y otras causas de tipo político o sociológico pueden explicar que en la Península Ibérica se cultive maíz modificado genéticamente de forma casi exclusiva en Europa.

El maíz Bt (evento MON810) ha sido el único que en Europa ha superado todos los requerimientos para la aprobación de una modificación genética para su cultivo y consumo. Desde el mismo momento en que en 1983 se publicó que sería posible obtener GMPs, se pusieron en marcha reflexiones en diferentes países para diseñar sistemas reguladores que aseguraran que estas plantas pudieran utilizarse sin producir problemas de salud humana o animal ni para el medio ambiente. En los Estados Unidos se dictó en 1986 el llamado “Marco Regulatorio para la Aplicación de la Biotecnología”, que preveía la implicación de la FDA (Food and Drug Administration), la EPA (Environment Protection Agency) y el USDA (United States Department of Agriculture) y que ha ido siguiendo el tema desde entonces. En Europa, un proceso similar dio lugar a la aprobación en 1990 de una Directiva, la 90/220 sobre liberación voluntaria de GMOs en el medio ambiente. Otros países como Canadá o Japón desarrollaron sistemas que tienen características específicas.

Desde aquel momento, el entorno legislativo ha cambiado en Europa de forma notable en diferentes aspectos. Se han aprobado dos nuevas directas, la 2001/18 que estuvo destinada a modificar la de 1990, y la Regulación 1829/2003 que legisla sobre los procedimientos para permitir la entrada de nuevos alimentos que contienen productos derivados de GMOs en el mercado europeo. Las dos son aplicables a las plantas modificadas genéticamente y tienen puntos en común aunque el procedimiento es distinto. Algo común es que se reconoce a la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria, la EFSA, y en particular en su Panel de GMOs, la función de análisis científico de las demandas de aprobación de una nueva modificación genética para su cultivo o su consumo en Europa. Ha habido también una Directiva, la 1830/2003, que regula el etiquetado de los productos que contienen derivados de GMPs y que entran en el mercado de alimentos para humanos o animales.

El Panel de GMOs de la EFSA (<http://www.efsa.europa.eu/en/panels/gmo.htm>) es una institución clave en el proceso de aprobación de una GMP en Europa. Está formado por unos 20 científicos escogidos por su experiencia profesional específica y analiza los diferentes aspectos que constituyen una demanda de aprobación de un evento de modificación genética en una planta, animal o microorganismo que se desee liberar al medio ambiente. El análisis incluye la modificación genética, la composición de los derivados alimentarios y sus efectos para el consumo y los efectos sobre el medio ambiente. Desde el inicio de su constitución el Panel ha trabajado en el marco de una guía orientativa para solicitantes que tiene en cuenta que el análisis debe ser caso por caso y que ha ido siendo modificada por los cambios normativos y la experiencia (European Food Safety Authority, 2013). El análisis está basado también en la comparación de los datos obtenidos con los de variedades no modificadas genéticamente. En conjunto los datos requeridos para una solicitud son muy complejos y costosos y se evalúan alrededor de los 10 o 15 millones de euros. Se ha dicho que el gasto requerido para la aprobación de una modificación genética puede llegar hasta los 100 millones de euros en el entorno europeo. Este coste es sin duda uno de los factores limitantes para el posible desarrollo de nuevas GMPs ya que el solicitante debe tener una potencia industrial suficiente para cubrir la inversión y las aplicaciones esperadas deben hacerse en cultivos con mercados lo suficientemente grandes para recuperar la inversión (**Fig. 2**).

Uno de los elementos clave en el proceso de aprobación de una GMP es que en algún momento del proceso los diferentes Estados Miembros de la Unión Europea pueden plantear preguntas u objeciones a una solicitud determinada (**Fig. 2**), lo que representa un trabajo adicional al Panel de GMOs de la EFSA. Por otra parte, la opinión científica de la EFSA no implica la aprobación de la modificación genética. El procedimiento implica que los países miembros deben votar la aprobación con mayoría cualificada que en general no se alcanza. En estas circunstancias es la Comisión Europa la que debe tomar una decisión. La experiencia reciente demuestra que la Comisión tiene dificultades para tomar este tipo de decisiones hasta el punto que la empresa Pioneer tuvo que recurrir al Tribunal Europeo de Justicia para forzarles a tomar una decisión sobre un maíz, el 1507 que había sido revisado en el Panel de la EFSA en el año 2005.

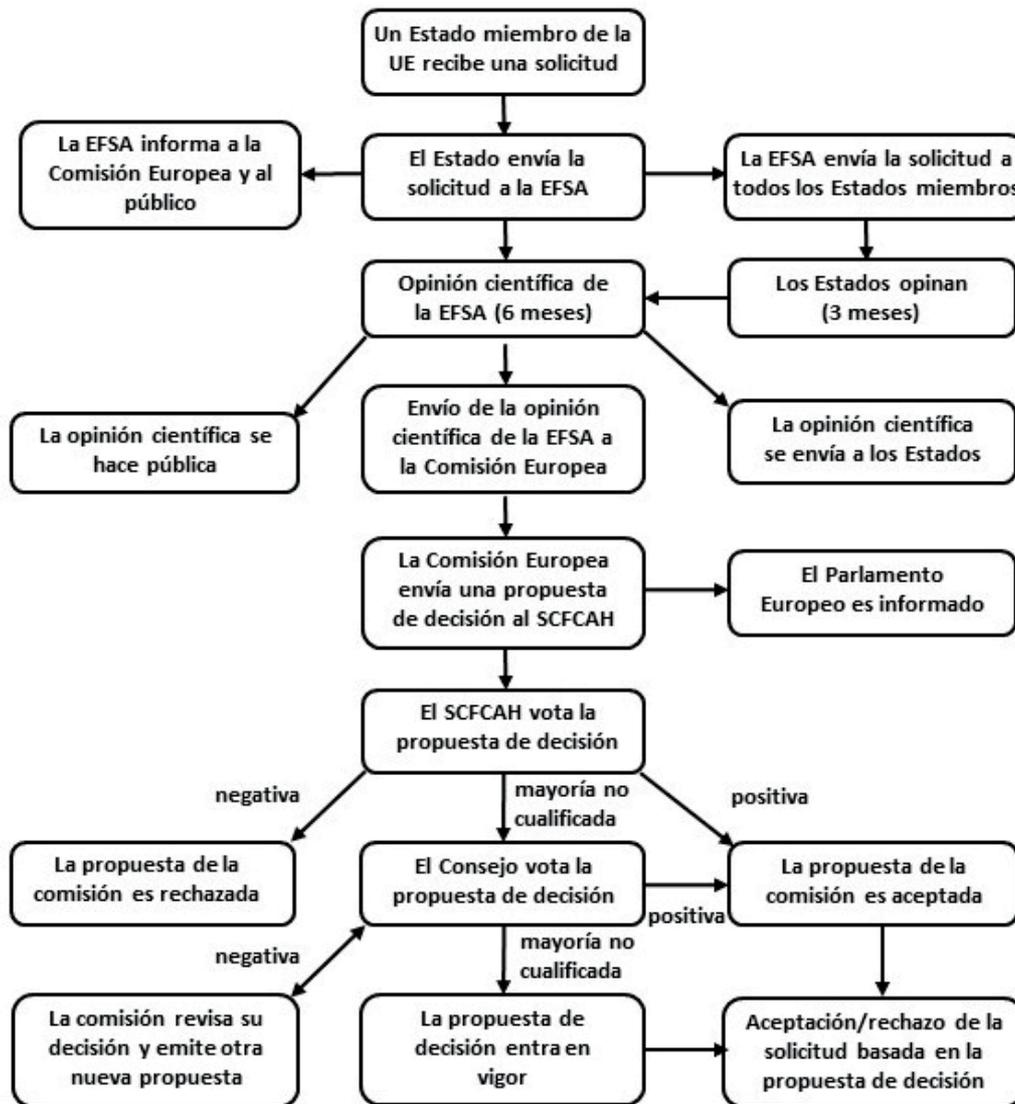


Figura 2. Representación esquemática del proceso de aprobación y autorización de un GMO en Europa (SCFCAH: Standing Committee on the Food and Animal Authority). Modificado del esquema que figura en la web de la AGES (Agencia Estatal Austriaca para la Salud y la Seguridad Alimentaria), www.ages.at/ages/en/ages-austrian-agency-for-health-and-food-safety/

La diferente percepción que tienen sobre las GMPs los diferentes países europeos ha sido una constante en los últimos años. Las situaciones son muy diferentes en cada uno de ellos. En algunos países, la agricultura tiene un peso económico muy bajo mientras que otros son potencias agrícolas importantes. En

algunos no se cultivan las principales especies para las que existen variedades modificadas o para las que los caracteres que se han introducido no tienen interés. El peso de las concepciones políticas y sociales de carácter ecologista es también diferente en los distintos países y sus historias en relación con fraudes alimentarios también. Por ello las posiciones políticas y sociales son muy diferentes. Por esta razón el Consejo Europeo ha aprobado recientemente un borrador de Directiva (http://www.consilium.europa.eu/uedocs/cms_data/docs/pressdata/en/envir/144116.pdf) que modifica la anteriormente vigente y que permite a los países miembros prohibir el cultivo de GMPs por razones distintas de las puramente científicas.

Elementos para una reflexión de futuro

El uso de lo que podemos llamar Biotecnología Vegetal en sentido amplio está en la base de la transformación de las plantas que hemos llevado a cabo para desarrollar lo que conocemos como agricultura. Estos desarrollos se aceleraron con la aplicación sistemática de la Genética y de la Biología Molecular que ha dado lugar a la Biotecnología Vegetal moderna con sus nuevas aplicaciones y sus debates intensos. En 2014 estos debates mantienen su intensidad sobretodo en Europa, lo no quiere decir que no haya conflictos en otros países. En Estados Unidos hay una fuerte batalla política en diferentes estados entorno al etiquetado de los alimentos que contienen GMOs, en África o la India la discusión sobre el tema sigue siendo activa, en Rusia se legisla en contra, en Brasil se apuesta a favor y en China hay una cierta vacilación.

La situación en Europa viene dictada por factores distintos que tienen un impacto diferente en los distintos países miembros. Se trata de factores económicos, sociológicos, económicos o incluso ideológicos. En la literatura científica van apareciendo estudios sobre los efectos de las modificaciones genéticas y de forma periódica aparece algún estudio que crea una cierta alarma. Analizar la importancia de los resultados es trabajo de las comisiones de bioseguridad de los diferentes países o del panel de GMOs de la EFSA. Sin embargo, el impacto de los costes regulatorios va a seguir siendo decisivo para el desarrollo de nuevas GMPs. Se ha propuesto que en algunos casos, como cuando se usan secuencias de la misma especie o de una especie cercana, lo que se ha llamado cisgénesis o intragénesis, podría ser necesario un menor número de datos para su aprobación. Lo mismo se ha dicho en el caso de que se usen metodologías que permiten una modificación genética de forma más dirigida. Todo ello implicaría un coste inferior, pero la presión de algunos estados miembros puede hacer difícil que esto ocurra. En cualquier caso, la presión de los

grupos opositores a estas metodologías y la ejercida por algunos países miembros hace que el análisis científico, base de los sistemas regulatorios, se vuelva cada vez más complejo y que se aleje de criterios objetivos por la necesidad de responder a preguntas muy hipotéticas o carentes de toda base.

La realidad es que las compañías de semillas, incluso las europeas, están trasladando sus laboratorios de investigación a países como Estados Unidos, donde la investigación no tiene las barreras existentes en Europa, sobre todo para la experimentación en el campo. También algunas compañías han desistido en sus intentos por conseguir la aprobación del cultivo de sus semillas modificadas en Europa, mientras que sí la tienen para su importación para alimentación humana o animal. En este sentido, Europa sigue importando millones de toneladas de grano de GMPs cuyo etiquetado no plantea problemas insolubles, sobre todo para piensos y usos industriales, y que además necesita, como es el caso de la soja en la alimentación de animales de granja por su alto aporte proteico. Junto a estos temas se están planteando también otros ligados a los procedimientos de protección de la propiedad intelectual. En plantas ha existido desde mediados del siglo pasado un sistema de protección de las variedades agrícolas basadas en el convenio UPOV. Sin embargo, en los tiempos recientes algunas compañías han utilizado el sistema de protección mediante patentes tanto en genes como en plantas con características específicas que han creado una discusión intensa incluso en las mismas compañías de semillas.

Por otra parte, todo el interés que puedan tener las GMPs, que en un contexto global puede considerarse un éxito extraordinario, no hay que olvidar que la Biotecnología Vegetal ofrece unas perspectivas muy amplias. Cualquier aplicación nueva de la Mejora de Plantas requiere disponer de una variabilidad genética lo más amplia posible y de herramientas para aprovecharse de ella. Las técnicas moleculares están permitiendo las dos cosas de forma creciente. El espectacular incremento en el conocimiento de los genomas vegetales (Michael y Jackson, 2013) está permitiendo acumular una información sobre las bases genómicas de las plantas cultivadas en una cantidad enorme y de un interés que irá extrayéndose en los próximos años. Se desarrollan al mismo tiempo metodologías que permiten correlacionar estos datos con datos de análisis masivo de metabolismo o fenotipado y metodologías para la identificación de caracteres genéticos complejos. Con estos datos se han desarrollado aproximaciones de mejora asistida por marcadores moleculares cada vez más precisos y por selección genómica. Ésta se está ya usando en la mejora animal y puede ir desarrollándose también en plantas. Si juntamos las aproximaciones de secuenciación masiva de conjuntos de variedades de plantas con la creación de

nueva variabilidad por ejemplo por mutagénesis al azar o dirigida, tenemos un conjunto de perspectivas que evitan el uso de las técnicas de modificación genética con sus polémicas y sus costes. Es probable que estas alternativas sean las más empleadas para cultivos como los hortícolas o frutícolas en los que no tiene sentido hacer las inversiones que sí son factibles en los grandes cultivos.

El conjunto de metodologías que dan lugar a la moderna Biotecnología Vegetal ya está respondiendo a la demanda de innovación de sector agroalimentario. Lo está haciendo utilizando aproximaciones de modificación genética, que probablemente seguirán siendo importantes para los grandes cultivos, y las basadas en genómica y marcadores moleculares, que irán siendo utilizadas en la mayoría de cultivos. Con ello las nuevas aproximaciones moleculares ayudarán a responder a los retos que se presentan en el próximo futuro. La demanda de alimentos para una población creciente (**Fig. 3**) y con una demanda cualitativamente más exigente, el cambio climático y la necesidad de desarrollar una agricultura lo menos agresiva posible con el medio ambiente implican la necesidad de aplicar cualquier aproximación eficaz para responder a estos retos. Las distintas aproximaciones de la Biotecnología Vegetal estarán sin duda presentes en las respuestas que deben y vayan a darse.

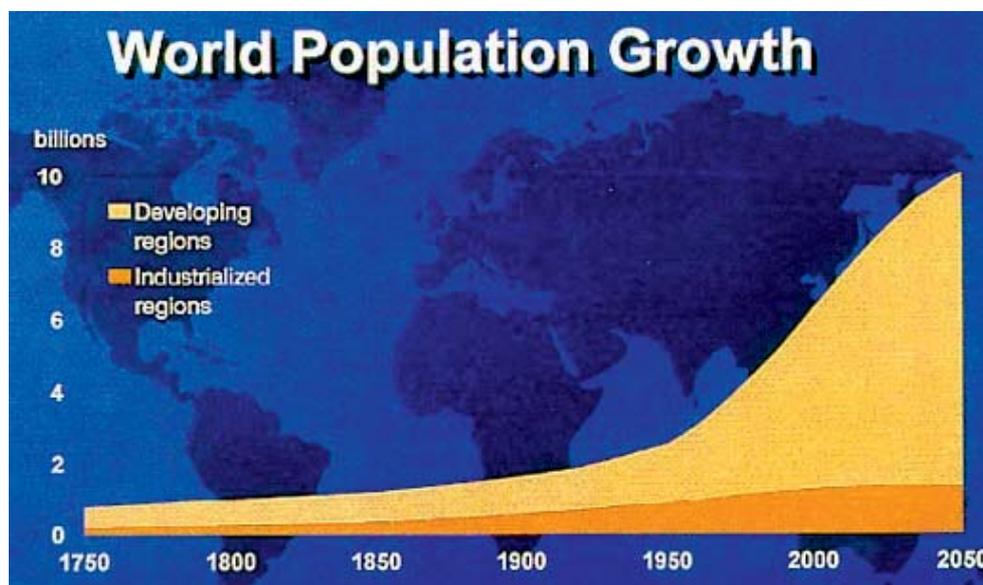


Figura 3. Evolución real y estimada de la población mundial. Gráfico basado en datos recogidos por la División de Población del departamento de Economía y Asuntos Sociales de Naciones Unidas (<http://www.un.org/en/development/desa/population/>) y la Oficina sobre Población (<http://www.prb.org/>) así como en estimaciones realizadas por ambos organismos. Imagen tomada de http://www.coolgeography.co.uk/GCSE/Year%2010/Human%20World/Population%20Growth/Population_change.htm

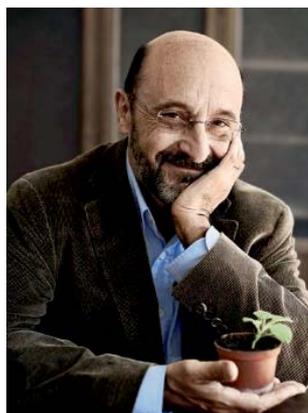
Todas estas cuestiones han sido objeto de reflexiones a diferentes niveles en los últimos años. Algunas instituciones, como la Royal Society de Londres (2009), el Comité Asesor de las Academias de Ciencias Europeas (EASAC) (2013) o el Grupo Europeo de Ética de las Ciencias y las Nuevas Tecnologías (2008), han formulado reflexiones sobre las condiciones en que se puede utilizar el conjunto de tecnologías que se derivan del enorme progreso en el conocimiento que estamos adquiriendo sobre los procesos biológicos, en particular de los que tienen relación con las especies vegetales y animales en las que basamos nuestra alimentación. El debate va a continuar estando presente por razones económicas o ideológicas entre otras. La función del científico es estar presente en ellos y proporcionar a los ciudadanos y a quienes los representan los datos y los análisis que pueden permitir a todos tomar las decisiones que definirán la agricultura del próximo futuro.

Bibliografía

- Barton, K.A., Binns, A.N., Matzke, A.J., Chilton, M.D. 1983. Reiteration of intact tobacco plants containing full length copies of genetically engineered T-DNA, and transmission of T-DNA to R1 progeny. *Cell* 32:1033-43.
- Clive, J. 2013. Global status of commercialized biotech/GM crops: 2013. International Service for the Acquisition of Agro-Biotech Applications (ISAAA). <http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/46/executivesummary/pdf/Brief%2046%20-%20Executive%20Summary%20-%20English.pdf>
- European Academies Science Advisory Council 2013. Planting the future: opportunities and challenges for using crop genetic improvement technologies for sustainable agriculture. http://www.easac.eu/fileadmin/Reports/Planting_the_Future/EASAC_Planting_the_Future_FULL_REPORT.pdf
- European Food Safety Authority 2013. EFSA guidance on the submission of applications for authorisation of genetically modified plants under regulation (EC) No 1829/2003. *EFSA Journal* 11(12): 3491, doi:10.2903/j.efsa.2013.3491. www.efsa.europa.eu/efsajournal
- European Group of Ethics of Sciences and New Technologies 2008. Ethics of modern technologies in agriculture. http://ec.europa.eu/bepa/european-group-ethics/docs/publications/opinion24_en.pdf
- Herrera-Estrella, L., Depicker, A., Van Montagu, M., Schell, J. 1983. Expression of chimaeric genes transferred into plant cells using a Ti-plasmid-derived vector. *Nature* 303: 209-213.

Michael, T.P., Jackson, S. 2013. The First 50 Plant genomes. *The plant genome*. 6:1-7

Royal Society 2009. Reaping the benefits: science and the sustainable intensification of global agriculture. https://royalsociety.org/~media/Royal_Society_Content/policy/publications/2009/4294967719.pdf



Pere Puigdomènech es Profesor de Investigación del CSIC en el Centro de Investigación en Agrigenómica (CRAG) CSIC-IRTA-UAB-UB. Licenciado en Ciencias Físicas (UB, 1970). Doctor en Ciencias Biológicas (UAB, 1975). Trabajó en el CNRS, Montpellier; Portsmouth Polytechnic, Gran Bretaña; Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik, Berlín; y fue Profesor del Departamento de Bioquímica de la UAB (1977-79). El año 2013 ha efectuado una estancia de sabático a la Universidad de Cambridge donde ha sido Visiting Fellow del Trinity College. Trabaja en Biología Molecular de Plantas, ha publicado más de 180 artículos científicos en revistas y libros internacionales y más de 500 artículos de divulgación en periódicos y revistas. Es miembro de

EMBO, del Institut d'Estudis Catalans, de la Real Academia de Ciencias y Artes de Barcelona, de la Academia Europea y miembro extranjero de la Académie d'Agriculture de France y de la Academia de Ciencias de Hungría. Es miembro del Grupo Europeo de Ética de las Ciencias y las Nuevas Tecnologías de la Comisión Europea y ha sido Presidente del Comité de Ética del CSIC y miembro del Panel de Organismos Modificados Genéticamente de la EFSA. Ha tenido la Medalla Narcís Monturiol de la Generalitat de Catalunya, el premio de la Fundación Catalana de la Investigación, el Vicent Andrés y Estellés de Novela Científica, el de Amigos de la UAB y el COSCE por sus actividades de divulgación.

BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

Biotecnología Ambiental, ¿la cenicienta de la Biotecnología?

Eloy Bécares

Área de Ecología, Departamento de Biodiversidad y Gestión Ambiental.

Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales, Universidad de León, 24071. León

La biotecnología ambiental suele entenderse como la aplicación de las herramientas y métodos biotecnológicos a la resolución de los problemas ambientales, sin embargo para muchos biotecnólogos también debe incluir aquellas biotecnologías que utilizan la naturaleza como origen o destino de sus productos (vegetal, acuicultura, etc.). En su primera definición la biotecnología ambiental puede considerarse la unión de dos grandes disciplinas, la biotecnología, con sus procesos y herramientas (ingeniería genética, metagenómica, metabolómica, biocinética, etc.) y de la ecología (autoecología, competencia, depredación, ciclos biogeoquímicos, etc). La combinación de ambas disciplinas tiene un prometedor futuro debido, desgraciadamente, al rápido incremento de los problemas medioambientales. En este trabajo se aborda, desde un punto de vista personal, los aspectos más interesantes de la biotecnología ambiental y se incide en la pertinaz resistencia del biotecnólogo para ocupar nichos ambientales que le son propios.

Palabras clave:

Biotecnología, biotecnología ambiental, ecología microbiana, biodiversidad, biorreactores, tratamiento de aguas.

Biotechnología ambiental. Definición del campo de estudio

La OCDE define la biotecnología como “la aplicación de la ciencia y la tecnología en organismos vivos, sus productos o modelos, para alterar materiales vivos o muertos para la producción de conocimiento, bienes y servicios” (OCDE, 2002). Pese a esta amplia definición, la biotecnología parece estar todavía dominada por su naturaleza al servicio del sector médico o farmacéutico. Mientras que la “biotecnología convencional”, entendida como la aplicada a dichos sectores, sigue siendo considerada como la dominante y más atractiva por buena parte de la sociedad, las aplicaciones medioambientales son sin embargo consideradas como ramas secundarias, aún marginales, en un mundo en el que la sensibilidad por el deterioro ambiental, aunque creciente, sigue siendo insuficiente. Por ello, algunos autores proponen que la

Forma de mencionar este artículo: Bécares, E. 2014, La Biotecnología Ambiental, ¿la cenicienta de la Biotecnología? AmbioCiencias, 12, 81-94. Revista de divulgación científica editada por la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad de León, ISBN: 1998-3021 (edición digital), 2147-8942 (edición impresa). Depósito legal: LE-903-07.

biotecnología ambiental es aún la “cenicienta de las biotecnologías” (Evans & Furlong, 2011).

La rápida industrialización, el continuo incremento de la urbanización, el aumento de la producción agroganadera intensiva o la explotación industrial del medio han provocado un aumento evidente y preocupante de la calidad del medioambiente. Según la ISEB (Sociedad Internacional de la Biotecnología Ambiental), la biotecnología ambiental se define como la integración de la ciencia y la ingeniería para el desarrollo, uso y regulación de los sistemas biológicos para la descontaminación del medio ambiente (tierra, aire, agua) y para el desarrollo de procesos amigables con el medioambiente (tecnologías verdes y desarrollo sostenible). La biotecnología ambiental se entiende de forma general como la aplicación de los procesos biológicos modernos para la protección y recuperación de la calidad del medioambiente (Scragg, 1999), pero como se verá más adelante, existen otros aspectos que también pueden considerarse dentro de su ámbito.

¿Por qué utilizar microorganismos para tratar problemas ambientales en vez de métodos no biológicos? Simplemente porque en la mayoría de los casos es mucho más barato, económica y ambientalmente hablando (Grommen y Verstraete, 2002). La incineración de 1 kg de materia orgánica (seca) cuesta diez veces más que su eliminación biológica en un reactor. La segunda razón es que los microorganismos son adaptables y pueden degradar una inmensa diversidad de moléculas bajo condiciones muy diferentes.

El interés por la Biotecnología Ambiental y su impacto sobre la actividad económica es obviamente creciente dado el continuo incremento de la contaminación ambiental y el paralelo incremento en las normativas ambientales, que convierten procesos productivos contaminantes, antes permitidos, en procesos económicamente prohibitivos. Un ejemplo es el de la biorremediación de suelos. Mientras que en 1994 era infinitamente más barato llevarse los suelos contaminados a un vertedero que descontaminarlos, la legislación europea en vertidos de residuos ha revertido esa situación haciendo económica y ambientalmente más favorable la descontaminación, y mucho más económico evitarla.

En términos económicos el mercado medioambiental global es el que mayor crecimiento está desarrollando en comparación con otros mercados convencionales. En el 2001 el 15-20% del mercado medioambiental estaba basado en la biotecnología ambiental, pero se prevé que se triplique en el 2025 (Evans y Furlong, 2011). Como ejemplo de la importancia de la biotecnología ambiental en el mercado del medio ambiente, el tratamiento de las aguas residuales suponía en el 2009 el 25% del mercado medioambiental global. Los

crecientes problemas ambientales y sanitarios relacionados con la contaminación y la creciente sensibilidad ambiental hacen de la biotecnología ambiental una de las actividades con mayor proyección e interés para la sociedad. La cenicienta de las biotecnologías puede terminar convirtiéndose, desgraciadamente, en la princesa de las mismas.

Campos de la biotecnología ambiental

La biotecnología ambiental cubre un espectro más amplio que el meramente relacionado con el control de la contaminación. De hecho, para algunos autores (Scraag, 2005), una buena parte de la biotecnología convencional debe ser considerada “ambiental”, dado que una importante cantidad de recursos farmacéuticos, y de otro interés económico, proceden de la existencia y mantenimiento de la biodiversidad de la tierra, aspecto que se aborda más adelante. Por otra parte, la búsqueda de métodos de producción de moléculas por vías biológicas en sustitución de la síntesis química, uno de los objetivos de la biotecnología, no sólo puede ser industrialmente necesario, sino también puede reducir el uso de reactivos y subproductos, y ser por tanto económica y ambientalmente preferible. Muchos otros aspectos de la biotecnología: médica, agrícola, acuicultura, ganadería, etc. dependen de la naturaleza o tienen en mayor o menor medida importantes implicaciones ambientales.

Por ejemplo, para varios autores (Marin et al., 2005; Castillo, 2005, Mohapatra, 2006; Fulekar, 2010; Jain, 2014), la agrobiotecnología también forma parte de la biotecnología ambiental (**Tabla 1**). Por un lado, la agricultura depende de numerosas especies de organismos que pueden ayudar a controlar y mejorar la producción, por lo que la agrobiotecnología depende del conocimiento sobre las relaciones entre especies, y del mantenimiento y conocimiento de la biodiversidad y de los procesos que la mantienen. Pero por otra parte la ingeniería genética relacionada con las mejoras de los cultivos debe minimizar el riesgo medioambiental.

La humanidad ha estado manipulando animales y vegetales durante siglos, adaptándolos a sus necesidades. Aunque los beneficios son claros, la manipulación genética puede tener también consecuencias negativas desde el punto de vista ambiental y de la salud. Según algunos autores (Rittman y McArty, 2001; Sraag, 2005; Vallero, 2010) la biotecnología ambiental debe ocuparse del balance entre el coste y el beneficio de dichas manipulaciones. El control de mareas rojas, la lucha contra las bacterias resistentes a antibióticos, o el estudio de las comunidades microbianas del rúmen, por poner algunos ejemplos, son otros de los numerosos aspectos que algunos autores incluyen dentro de la

biotecnología ambiental (Marin et al., 2005; Agarwal, 2005; Verstraete, 2007; Marandi, 2009) (**Tabla 1**).

Tabla 1: Revisión de contenidos en libros de biotecnología ambiental. Se indica la frecuencia con la que dichos contenidos aparecen en los índices de 12 libros de texto y generales sobre Biotecnología Ambiental.

Contenidos	%
Biorremediación y fitorremediación	100
Tratamiento de aguas residuales	92
Tratamientos de residuos sólidos	75
Bioenergía	67
Biominería	58
Biosensores y biomonitorización	58
Control de plagas y enfermedades	50
Organismos genéticamente modificados	42
Biodegradación	42
Tratamiento de gases	42
Biotecnología agrícola	42
Compostaje	25
Biodiversidad y biotecnología	25
Impacto ambiental de la biotecnología	25
Métodos en biotecnología	25
Bioplásticos y biopolímeros	17
Biotecnología marina	17
Ciclos biogeoquímicos	17
Principios ecológicos en biotecnología	17
Nanotecnología ambiental	17
Biocorrosión y biodeterioro	8
Microalgas	8

El alto grado de contaminación ambiental originado por las industrias y las importantes consecuencias para la salud, ha exigido la adopción de medidas de obligado cumplimiento como las directivas europeas en medio ambiente y control integrado de la contaminación. Ello ha fomentado la aparición de nuevos enfoques en los procesos productivos de la biotecnología industrial en los que las consecuencias ambientales, o la búsqueda de las opciones técnicas ambientalmente más adecuadas, sean consideradas como uno de los objetivos de la actividad productiva. La biotecnología ambiental está de esta forma incrementando su campo de influencia a todas las actividades productivas, basadas o no en la biotecnología convencional. Cualquier aspecto de la biotecnología convencional en el que el componente ambiental deba ser considerado como recurso, proceso o subproducto, pasa a formar parte de la

biotecnología ambiental en un sentido amplio.

Importancia de la biodiversidad en la biotecnología

La descripción de nuevas especies y el estudio de su biología y relaciones ecológicas, está favoreciendo el desarrollo de productos de alto valor biotecnológico como el desarrollo de sustancias que evitan la formación de biopelículas, el descubrimiento de sustancias de interés en el control de enfermedades, etc. (**Fig. 1**). Desde el punto de vista microbiológico, el desarrollo de técnicas de ecología molecular como la secuenciación masiva están permitiendo el descubrimiento de numerosas especies de microorganismos y abren el camino para descubrir nuevas propiedades de los mismos que puedan ser de interés biotecnológico.

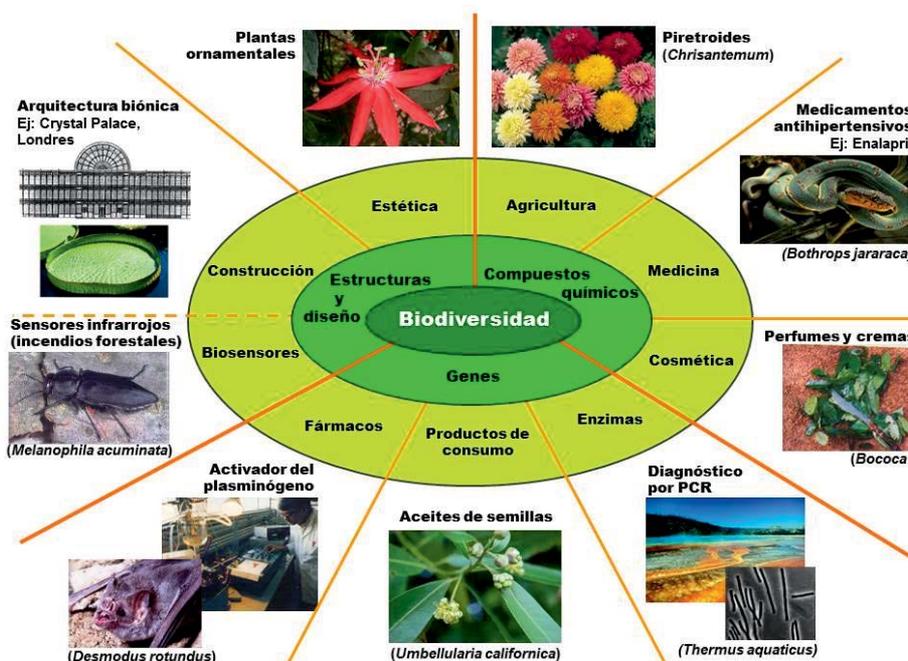


Figura 1. Importancia de la biodiversidad como recurso para diferentes campos de la biotecnología. Adaptado del Helmholtz Zentrum für Infektionsforschung (Dr. Heinrich Lünsdorf, com.pers.)

La biodiversidad ha sido y sigue siendo una de las fuentes más importantes de recursos para la biotecnología, nuevos medicamentos, principios activos y organismos dependen del mantenimiento de la biodiversidad de la tierra. En este aspecto, el biotecnólogo debe considerar los potenciales riesgos ambientales de la modificación genética de las especies, entender los

mecanismos que favorecen el mantenimiento de la biodiversidad, y gestionar la biodiversidad microbiana para optimizar los procesos relacionados con la descontaminación, aspecto que es uno de los objetivos aplicados de la ecología microbiana, o lo que es casi lo mismo, de la biotecnología ambiental.

Biotecnología ambiental y ecología microbiana

Uno de los campos con los que la biotecnología ambiental está íntimamente ligada es el de la ecología, especialmente el de la ecología microbiana. La ecología microbiana aporta las bases científicas de muchos de los procesos que se desarrollan en la biotecnología ambiental, y a la inversa, la resolución de los problemas ambientales mediante la biotecnología aporta importantes avances en procesos, nuevas especies, y métodos para los ecólogos microbianos. La biotecnología ambiental también puede definirse como la “gestión de las comunidades microbianas para proporcionar servicios a la sociedad y el medio ambiente” (Rittmann, 2006).

La mayor parte de la biotecnología ambiental se basa en la gestión de los residuos y de la contaminación, bien evitándola o reduciéndola, o bien intentando recuperar los hábitats contaminados. Al contrario que la llamada “biotecnología convencional”, enfocada a trabajar con un único organismo cada vez, los biotecnólogos ambientales deben trabajar simultáneamente con un amplio rango de organismos, que varía desde virus hasta organismos superiores como plantas o animales. La biotecnología ambiental debe trabajar con la ecología de los organismos y por tanto, además de los procesos biológicos intrínsecos a cada organismo (metabolismo), debe abordar los procesos que regulan la abundancia de dichos organismos en el medio ambiente (autoecología). Otros aspectos que son de necesaria aplicación en la biotecnología ambiental son los del estudio de las interacciones inter e intraespecíficas (ecología de poblaciones), los procesos que favorecen la biodiversidad de una comunidad o la estabilidad de la misma frente a las perturbaciones (ecología de comunidades), o el conocimiento de los principios que regulan los ciclos de materia y energía (ecología de ecosistemas).

El futuro de la biotecnología ambiental está por tanto íntimamente relacionado con el estudio y gestión de las comunidades de microorganismos. La visión reduccionista, monoespecífica, de la microbiología convencional aislando microorganismos, seleccionándolos o modificándolos para la degradación de contaminantes, ha debido ser modificada por una visión ecológica en la que son las comunidades naturales, no las especies aisladas o las manipuladas genéticamente, las responsables de tratar los problemas ambientales (Swannell

et al., 1996). El concepto de “consorcio” bacteriano, como el gremio de bacterias que solo en simbiosis son capaces de degradar los contaminantes, concepto familiar entre los ingenieros sanitarios, empieza a ser común en la biotecnología ambiental.

Un concepto recientemente utilizado en la biotecnología ambiental es el del Manejo de los Recursos Microbiológicos (MRM) (Verstraete et al., 2007), es decir la adecuada gestión de las comunidades microbianas naturales para ser utilizadas en la resolución de los problemas ambientales. El desafío de la biotecnología en los próximos años será su capacidad para poder gestionar estos recursos microbianos, favoreciendo su biodiversidad y utilizándolos para resolver estos problemas.

Biología del tratamiento de aguas residuales. El nicho vacío del biotecnólogo

La biotecnología ambiental no es una disciplina nueva, muchos de sus temas de trabajo como el tratamiento de efluentes, compostaje, etc. ya habían sido abordadas y desarrolladas desde siempre por otras disciplinas como la ingeniería química o la ingeniería civil, quienes consideraban los reactores de tratamiento de aguas residuales como “cajas negras”. Otros profesionales como microbiólogos, ecólogos, etc. fueron entrando posteriormente, pero frecuentemente obligados por la imperiosa e insistente demanda de los ingenieros, ávidos de conocer el interior de dichas cajas negras para seguir optimizando los procesos. El desinterés inicial de los microbiólogos fue tan evidente que durante décadas tuvieron que ser los propios ingenieros sanitarios y químicos quienes se encargaran de la investigación biológica de los reactores.

La revisión de los libros de texto sobre Biotecnología Ambiental evidencia que los aspectos considerados propios de la ingeniería química o sanitaria, como las bases biológicas del tratamiento de aguas residuales, son ahora considerados naturalmente ligados a la biotecnología ambiental y están presentes en todos los libros de texto sobre esta disciplina (**Tabla 1**). Sin embargo, la orientación de estos aspectos es todavía muy superficial en los libros de biotecnología, limitándose a copiar lo ya existente en los libros de ingeniería sanitaria. Falta todavía una profundización real en los principios descriptivos y funcionales de los reactores biológicos y un enfoque realmente adaptado a las demandas formativas del biotecnólogo ambiental.

La biotecnología, dadas las herramientas y procesos que aborda, es la principal disciplina para el estudio del tratamiento biológico de las aguas residuales. Las dinámicas poblacionales, interacciones entre especies, y las

rápidas tasas de crecimiento y de reacción, hacen del tratamiento de aguas residuales el proceso apropiado para la aplicación de todas las herramientas biotecnológicas (**Fig. 2**).

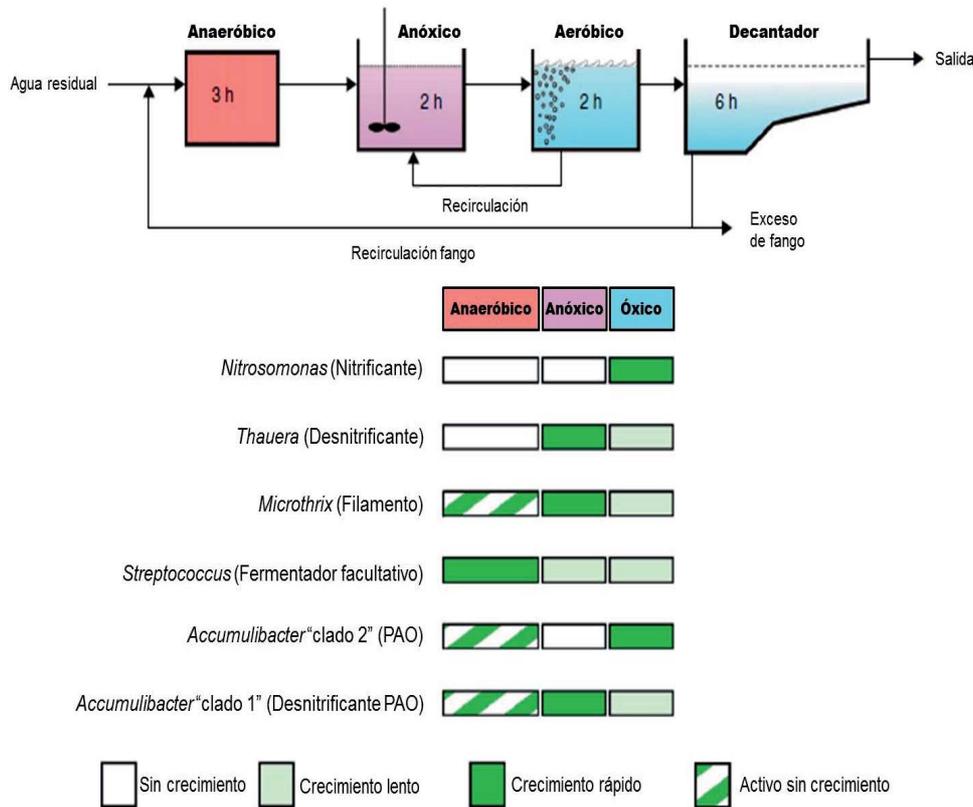


Figura 2. Esquema de un reactor para la eliminación biológica de nitrógeno y fósforo. Se indican tiempos de retención hidráulicos de cada compartimento y actividades metabólicas de los principales grupos de bacterias presentes en dichos reactores. PAO: organismo que acumula fósforo. Adaptado de Nielsen et al. (2012).

La actual Secretaria de Estado de Investigación y presidenta de la Sociedad Española de Biotecnología, Carmen Vela, reconoció al presente autor en una de las jornadas organizadas por la Asociación ABLE, que la Biotecnología aún ignora los grandes reactores, como los de tratamiento de aguas residuales, como parte de su ámbito de trabajo. El biotecnólogo no ha asumido todavía su obligación de apropiarse de un campo que le pertenece por naturaleza.

A diferencia de los biorreactores convencionales, como podría ser el de una industria productora de antibióticos, donde se trabaja con cultivos axénicos, los biorreactores de tratamiento de la contaminación son sistemas biológicamente abiertos, hay una continua entrada de propágulos que es incluso necesaria para el buen funcionamiento del proceso, y existe por lo tanto una fuerte interacción entre especies y complejas relaciones ecológicas entre ellas (competencia, depredación, mutualismo, etc.).

En contraste con la abundancia de biorreactores convencionales, sólo presentes en determinadas industrias, los reactores de aguas residuales están presentes en todas las ciudades, pueblos y casas aisladas, y además en todas las industrias, incluidas las biotecnológicas. Son por tanto los biorreactores más abundantes en cualquier país. Sin embargo la biotecnología los continúa ignorando como objeto de enseñanza e investigación.

Aunque el tratamiento biológico de aguas residuales involucra tecnologías muy diversas, desde la electrónica hasta la ingeniería civil, el proceso fundamental es el correcto funcionamiento del reactor biológico. El fallo de un espesador, un decantador primario, o el secado de los fangos, procesos habituales en una depuradora, no tiene importancia en comparación con el hecho de que el efluente de la depuradora tenga una alta concentración de materia orgánica como consecuencia de problemas de degradación por las bacterias del reactor. El reactor biológico es por lo tanto el elemento básico y fundamental de una depuradora de aguas residuales.

Así como el dimensionado y la construcción de la instalación pertenece a oficios diferentes de los del biotecnólogo, la explotación, diseño, dimensionado y optimización del reactor biológico es un nicho propio del biotecnólogo, un nicho que aún se desprecia por la poca importancia y prestigio social relacionado con el tratamiento de aguas y desechos. Un nicho que aún no está considerado en los planes docentes, ni ha sido incluido en el Libro Blanco de la Biotecnología (ANECA, 2005). Aunque el biotecnólogo tiene en su formación, según dicho documento, una asignatura sobre biorreactores, no hay referencia explícita al tratamiento de aguas. En contraste con lo observado en los libros de texto sobre la disciplina (**Tabla 1**), el Libro Blanco cita muy someramente el campo medioambiental dentro de las orientaciones profesionales de la Biotecnología y solo la biorremediación, biorrecuperación y el control de plagas aparecen explícitamente como objetivos medioambientales propios en la formación del biotecnólogo. La formación ambiental es todavía un campo de interés secundario en el currículo del biotecnólogo.

El reactor biológico de tratamiento de aguas como nicho natural de trabajo para el biotecnólogo

En un reactor biológico de tratamiento de aguas conviven numerosas especies de microorganismos, desde virus hasta rotíferos o nematodos, aunque el grupo más importante es el de las bacterias (**Fig. 3**). El objetivo del reactor biológico es el de degradar adecuadamente los contaminantes (macro y microcontaminantes) por lo que el primer objetivo del biotecnólogo es el de optimizar la biodegradación/eliminación de, sobre todo, los compuestos

difícilmente biodegradables y de aquellos contaminantes especialmente peligrosos como disruptores endocrinos, antibióticos o metales pesados.

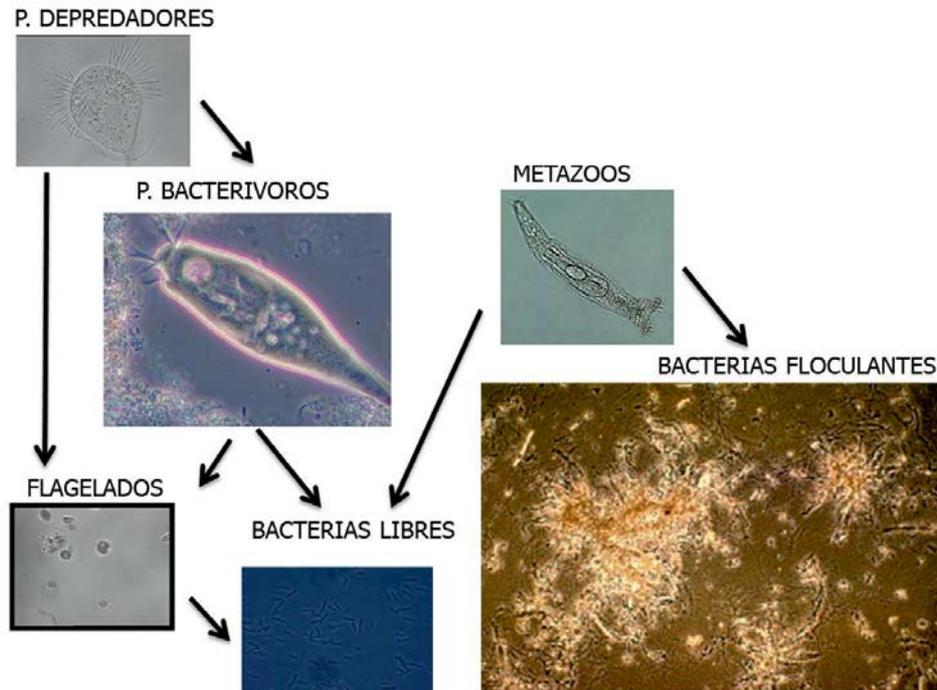


Figura 3. Red trófica de un reactor biológico de tratamiento de aguas residuales. La materia orgánica es eliminada por las bacterias flocculantes. La comunidad bacterívora (flagelados, ciliados, amebas, rotíferos, etc.) se encarga de eliminar las bacterias libres que no flocculan. Algunos grupos de protozoos ejercen además una presión depredadora sobre otros protozoos.

Es el biotecnólogo el especialista adecuado para identificar y cuantificar los microorganismos presentes en los reactores (**Fig. 4**), aislar, secuenciar, identificar e introducir genes que maximicen la biodegradación, analizar los mecanismos de intercambio genético que optimicen la actividad degradadora, caracterizar las rutas metabólicas involucradas en la eliminación de los contaminantes y en resumen, optimizar el rendimiento biológico de los reactores de tratamiento de aguas residuales

Otros aspectos que el biotecnólogo puede abordar, dada su formación académica, es el conocer las variables que pueden limitar la biodegradación o eliminación de los contaminantes, la eliminación de patógenos o bacterias resistentes a antibióticos en el medio ambiente, o el desarrollo de modelos cinéticos que simulen las dinámicas poblacionales.

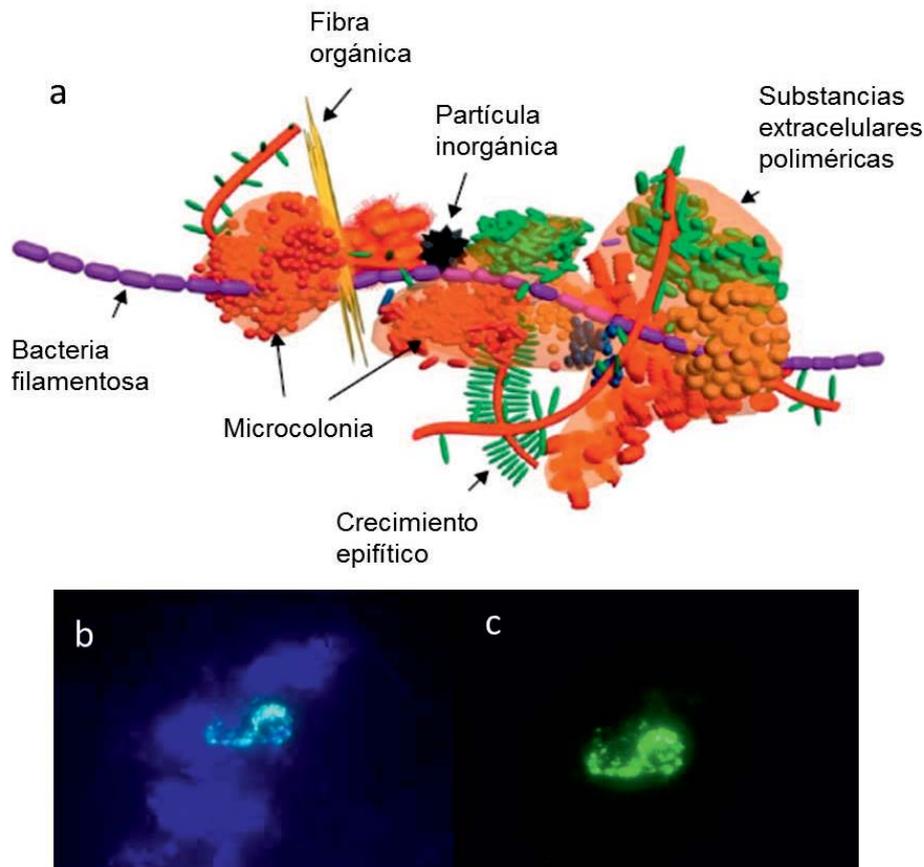


Figura 4. a) El flóculo es la unidad funcional del biorreactor de fangos activados. Las bacterias filamentosas sirven de soporte para la adhesión de diferentes especies de bacterias que forman colonias en función de las características de sus polímeros extracelulares (glicocálix). **b y c)** El estudio de la composición de las bacterias presentes puede realizarse mediante técnicas de microscopía de fluorescencia (FISH), por ejemplo para cuantificar eubacterias (hibridación con sonda EUB 338) (**b**) o un tipo o actividad específica (betaproteobacterias) (**c**). Adaptado de Nielsen et al. (2012) y Alvarez (2013).

El biotecnólogo ambiental debería aplicar los principios básicos de la ecología de comunidades que permiten reconocer y controlar las interacciones entre especies (competencia, depredación, mutualismo, antagonismo, etc.). Otros aspectos que solo pueden abordarse desde la ecología de comunidades aplicada a la biotecnología, son los del control de las bacterias de los ciclos de nutrientes, favoreciendo la ventaja competitiva de las más adecuadas, controlar el equilibrio poblacional entre bacterias floculantes y filamentosas, o mantener la estabilidad de los consorcios bacterianos en reactores anaerobios. El biotecnólogo también debe entender la dinámica sucesional que permite

optimizar la diversidad biológica de un reactor para maximizar su rendimiento. Por el hecho de trabajar con sistemas jerárquicamente complejos, debe aprender a trabajar con grados de incertidumbre mayores de los de la biotecnología convencional. Sin embargo, el todavía escaso interés de los biotecnólogos en el tratamiento de aguas sigue favoreciendo que otros especialistas como ingenieros químicos, industriales o ingenieros civiles se vean obligados a cubrir las deficiencias de conocimiento biológico y las necesidades tecnológicas más urgentes.

Conclusiones

La biotecnología ambiental es un campo en continua expansión y con un creciente interés social, interés que es paralelo al incremento de la contaminación y la degradación medioambiental. Los biotecnólogos, debido al histórico desinterés de la microbiología en la investigación sobre algunos aspectos ambientales, no se han concienciado todavía de que su formación es la adecuada para abordar ámbitos profesionales que todavía siguen siendo ocupados por otras disciplinas. Esta situación está cambiando y cambiará mucho más en el futuro, pero la formación del biotecnólogo todavía carece de las bases conceptuales suficientes para abordar dichos ámbitos.

La mayoría de las biotecnologías tienen implicaciones ambientales o necesitan el medioambiente como recurso. Es por tanto necesario una mayor implicación de la biotecnología en los desafíos ambientales, no sólo como herramienta para resolver los crecientes problemas del medioambiente, sino también para evitar aquellos que pueden originarse como consecuencia de su ámbito de actuación.

Agradecimientos

A Anna Pedescoll, Irena Fernández-Montiel y María del Carmen Polanco por su ayuda en la edición del manuscrito.

Bibliografía

- Alvarez-Fernández, V. 2013. Desarrollo de un protocolo de hibridación fluorescente “in situ” específico para fangos activados y su aplicación para la caracterización de subclases de proteobacterias. Trabajo final del Grado, Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales, León.
- Amils, R. 2005. Importancia de la biotecnología aplicada al medioambiente. En: Biotecnología y medioambiente (eds. Marin, I., Sanz, J.L., Amils, R.), pp. 27-37, Ephemera, Madrid.

- ANECA. 2005. Libro Blanco. Bioquímica y Biotecnología. Agencia Nacional de Evaluación de la Calidad y Acreditación. Madrid
- Evans G.M., Furlong J.C. 2011 Environmental Biotechnology. Wiley-Blackwell, Chichester, UK.
- Grommen R., Verstraete W. 2002 Environmental technology. *Journal of Biotechnology* 98: 113-123.
- Marín, I., Sanz J.L., Amils, R. (eds) 2005. Biotecnología y medioambiente. Ephemera, Madrid.
- Nielsen P.H., Saunders A.M., Hansen, A.A., Larsen P., Nielsen J-L., 2012. Microbial communities involved in enhanced biological phosphorus removal from wastewater- a model system in environmental biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology* 23:452-459.
- OCDE 2002. Frascati manual: Proposed standard practice for surveys on research and development, OCDE, Paris.
- Rittmann B.E. 2006 Microbial ecology to manage processes in environmental biotechnology. *Trends Biotechnology* 24(6): 261-266.
- Rittmann, B.E., McCarty, P.L. 2001. Biotecnología del medio ambiente. Principios y aplicaciones. McGraw-Hill, Madrid.
- Scragg, A. 1999. Biotecnología medioambiental. Acirbia, Zaragoza.
- Swannell, R.P.J., Lee, K., McDonagh, M. 1996. Field evaluation of marine oil spill bioremediation. *Trends Biotechnology* 11: 344-352.
- Verstraete W. 2007. Microbial ecology and environmental biotechnology. *ISME J.* 1:4-8
- Verstraete W., Wittebolle L., Heylen K., Vanparys B., de Vos P., van de Wiele T., Boon N. 2007. Microbial resource management: the road to go for environmental biotechnology. *Engineering in Life Sciences* 7(2): 117-126.

Monografías de biotecnología ambiental

- Agarwal S.K. 2005. Advanced Environmental Biotechnology. APH Publishing. NewDehli.
- Castillo F. (Ed.), 2005. Biotecnología ambiental. Tebar Flores, Madrid.
- Evans, G.E., Furlong, J. 2011. Environmental biotechnology: theory and application. John Wiley and Sons.
- Fulekar, M.H., 2010. Environmental Biotechnology. CRC Press.
- Jain, M., 2014. Environmental biotechnology. Alpha Science, New Dehli.
- Jordering H.J., Winter, J. (ed.) 2004. Environmental biotechnology. Wiley-Blackwell.
- Marandi, R., Shaeri, A. 2009. Environmental biotechnology. SBS Publishers.

- Mohapatra P.K. 2006. Textbook of environmental biotechnology. I.K. International Pvt.
- Seraag, A. 2005. Environmental microbiology. Oxford University Press, Oxford.
- Vallero D.A. 2010. Environmental biotechnology: a biosystems approach. Academic Press.
- Wang, L.K., Ivanov, V. y otros 2010. Environmental Biotechnology. Handbook of Environmental Engineering. Humana Press.



El Dr. **Eloy Bécares Mantecón** es Licenciado en Biología por la Universidad de León, Magister en Ingeniería Ambiental por la Universidad de Cantabria y Diplomado en contaminación ambiental por el CIEMAT. Su Tesis Doctoral la realizó en 1995 en el Área de Ecología de la Universidad de León sobre la microbiología de reactores de fangos activados que trataban aguas residuales de la industria farmacéutica. Ha realizado numerosas estancias pre y posdoctorales en centros de investigación (Prague Institute of Chemical Technology, República Checa; University of Salzburg, Austria; Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Cuba; University of Liverpool, Reino Unido; University of Lund, Suecia; Environmental Research Institute of Denmark, Institute for Chemistry and Biology of the Marine Environment, Alemania). Sus trabajos de investigación se han centrado en aspectos básicos y aplicados de la limnología como son el funcionamiento y biodiversidad de humedales naturales, el estudio de indicadores de calidad en sistemas acuáticos y la ecología microbiana de sistemas naturales para el tratamiento de la contaminación (lagunajes y humedales contruidos).

ASOCIACIONES DE BIOTECNOLOGÍA

León, cuna de la Biotecnología española

Ángela Bernardo

Estudiante del master Experto en Gabinetes de Comunicación de Empresas e Instituciones. Facultad de Ciencias de la Información. Universidad Complutense de Madrid. Avda. Complutense s/n. E- 28040 Madrid

Corría 1973. El año en el que *Aerosmith* debutaría sobre los escenarios. La época de la paz entre Estados Unidos y Vietnam. El momento en el que el inventor Martin Cooper de *Motorola* realizaría la primera llamada desde un teléfono celular. **Y por fin, también el despegue de la biotecnología.**

Definida por la *Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico* (OCDE) como “la utilización de organismos vivos y sus partes para la obtención de bienes y servicios”, la **biotecnología** había caminado de la mano de las primeras civilizaciones, gracias a los avances en la fermentación de los alimentos.

Un artículo científico en la revista *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)* iba a cambiar la historia. La **técnica del ADN recombinante**, desarrollada por los investigadores Stanley Cohen, Herbert Boyer, Annie Chang y Robert Helling, revolucionaría la investigación biológica en 1973. A partir de aquellos resultados, seríamos capaces de obtener las primeras bacterias modificadas genéticamente, capaces de producir insulina recombinante y así cambiar la vida de millones de personas en todo el mundo.

El crecimiento exponencial de la biotecnología vino acompañado de una sólida transferencia de conocimiento entre los sectores público y privado. **Genentech**, la mítica empresa nacida en un garaje, haría su aparición en San Francisco. Por otro lado, las patentes sobre la técnica del ADN recombinante, concedidas sólo en Estados Unidos, generarían cientos de millones de dólares de beneficio a las Universidades de Stanford y California.

La amplificación de la investigación e innovación biotecnológicas, como si de muestras de ADN sometidas a una PCR se tratara, se expandió a nivel internacional. La revolución estaba presente en pequeñas compañías y laboratorios repartidos por todo el mundo. La comunidad científica tenía claro el potencial de la biotecnología en el desarrollo económico y social.

Forma de mencionar este artículo: Bernardo, A. 2014, León, cuna de la Biotecnología en España *AmbioCiencias*, 12, 95-100. Revista de divulgación científica editada por la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad de León, ISBN: 1998-3021 (edición digital), 2147-8942 (edición impresa). Depósito legal: LE-903-07.

En 1978, el mismo año que Werner Arber, Daniel Nathans y Hamilton Smith recibían el Premio Nobel de Fisiología o Medicina por sus contribuciones sobre la ingeniería genética, nacía la **Federación Europea de Biotecnología**. Esta entidad sería fundamental para que sólo unos años después se creara en España la primera sociedad científica relacionada con el sector biotecnológico.

Biotecnología, pilar fundamental de la I+D en España

Conocedores del prometedor futuro que tenía la biotecnología, los responsables de la política científica nacional de la época (entre los que se encontraba el **Prof. Emilio Muñoz**, ex-Presidente del CSIC) establecieron en 1985 el Programa Movilizador de Biotecnología. Aquel proyecto sería el precedente de una iniciativa mucho más ambiciosa: el **primer Plan Nacional de I+D en España (1986-1990)**, que incluiría el Programa Nacional de Biotecnología.

De la mano del **Prof. Juan Francisco Martín**, Catedrático de la Universidad de León, se convocó en el Campus de Vegazana la primera Reunión Nacional sobre Biotecnología, más conocida como “**Biotecnología 86**”. Nuestra Facultad sería testigo del acuerdo para impulsar definitivamente la **Sociedad Española de Biotecnología**, formada por investigadores de ramas muy diversas (bioquímica, biología molecular, microbiología o ingeniería química, entre otras). La idea se consolidó dos años después en Barcelona, en el congreso “**BIOTEC 88**” bajo la dirección del Prof. **Ricard Guerrero**, hoy presidente de la Sociedad Española de Microbiología.



Figura 1. Algunos de los ex Presidentes de la Sociedad Española de Biotecnología, en el homenaje celebrado durante el congreso BIOTEC 2014 en Madrid. Fuente: Ángela Bernardo.

En 1989 nacería oficialmente SEBiot, que durante sus veinticinco años de existencia ha contado con la dirección de otros grandes nombres del panorama biotecnológico español (**Fig. 1**), como el Prof. Armando Albert, el Prof. Rafael Pérez Mellado, el Dr. José Luis García o la emprendedora, y hoy Secretaria de Estado de Investigación, Desarrollo e Innovación, Carmen Vela.

Sin duda, el trabajo de la Sociedad no se entiende sin los esfuerzos realizados en educación y divulgación de la biotecnología. En ese sentido, y de la mano del **Prof. Carles Solà**, Rector de la Universitat Autònoma de Barcelona y Presidente de la Conferencia de Rectores de las Universidades Españolas (CRUE) y del **Prof. Francesc Gòdia**, Catedrático de la UAB, se impulsó la creación del **título propio de Graduado en Biotecnología** durante el curso académico 1998-1999.

La nueva generación de biotecnólogos

Bajo el paraguas de la formación especializada, fueron surgiendo en el territorio español diversas asociaciones de jóvenes que pretendían “no sólo dar a conocer, sino también reconocer” el papel y la labor de estos profesionales.

En el Campus de Bellaterra, estudiantes de la Universitat Autònoma de Barcelona se organizaron para lograr en 2002 la **homologación de los estudios de la Licenciatura en Biotecnología**. De aquellas reuniones nacería años después la Asociación de Biotecnólogos de Cataluña (ASBTEC), entidad que también impulsó en 2006 la organización del **I Congreso Interuniversitario para la Promoción de la Biotecnología**. Jóvenes como David Gallardo, Isa Troytiño, David Peris, Alba Olivares, Anna Riera, Alejandro Sarrión, Albert Almasqué, Joaquina Delás, Roi Villar, Clara García, Alejandra Fernández, Alba Timón, Arturo Blázquez, Roberto Flores o María José Conde, entre otros, han sido fundamentales para que el sector biotecnológico siguiera creciendo y fuera alimentado de savia nueva.

Tras la fundación de ASBTEC nacerían nuevas entidades como la Asociación de Biotecnólogos de Andalucía (organizadora de la segunda edición de aquel Congreso), la Asociación de Biotecnólogos de la Comunidad Valenciana y en 2007, la **Asociación de Biotecnólogos de León (ABLE)**.

Y es que la provincia no sólo ha sido testigo del desarrollo industrial y del potencial económico de la biotecnología, con empresas como Antibióticos, Laboratorios Syva, Instituto Biomar o León Farma. El Campus de Vegazana, tras acoger el encuentro del que nacería el primer embrión de SEBiot, vio cómo esa nueva generación de jóvenes se encontraba en el **III Congreso Interuniversitario de Biotecnología**, celebrado en julio de 2008.

Aquella cita, organizada por estudiantes de primer, segundo y tercer curso de la ULE, fue todo un éxito, superando los 400 participantes. Supuso también el nacimiento de la Federación Española de Biotecnólogos, que pretendía representar y defender los intereses y derechos de los profesionales del sector. León fue, de nuevo, cuna de la biotecnología en España. Hoy en día, FEBiotech está formada por las Asociaciones de Biotecnólogos de Cataluña, Madrid, Comunidad Valenciana, Andalucía, León, Salamanca, Murcia y Asturias, y ha logrado grandes avances para los profesionales de la biotecnología, como su inclusión en las convocatorias de la Formación Sanitaria Especializada, en las áreas de Biólogo Interno Residente (BIR) y Químico Interno Residente (QIR).

FEBiotech se debe al trabajo de decenas de personas, que han aportado su tiempo en seguir haciendo crecer el sector biotecnológico en España. **Son muchos los estudiantes y egresados de la Universidad de León que han contribuido con su esfuerzo**, como Marcos José Fernández, Diego Balboa, Elena Senís, Blanca Torroba, Laura Giner, Santos Domínguez, David Álvarez, Rodrigo Lombraña, Borja Garnelo, Israel Salcedo, Lucía Rodríguez, Sara García, África Sanchiz, Silvia González, Sara Monzón, Sandra Ciudad, Silvia Caballero, Jesús Rodríguez, Diana Galván, Sandra Elena Pérez o Belén Calvo, entre otros muchísimos nombres.

ABLE ha sido clave para el éxito logrado por FEBiotech durante estos años, con la organización de diversas iniciativas, como el Proyecto DEBE, INVINOTEC 2010, Biotechnofarm (FEBiotech Divulga), las Jornadas ConCiencia o el Biotech Annual Congress – BAC (**Fig. 2**).



Figura 2. Los biotecnólogos de FEBiotech en la última edición de su congreso anual, BAC 2014, celebrado en Barcelona. Fuente: Adriana Sanz (Asociación de Biotecnólogos de Cataluña).

Creciente peso de la biotecnología en la economía española

El potencial del sector, ya vislumbrado en la década de los setenta, está extendiéndose también en nuestro país. Los últimos datos ofrecidos por el “Informe sobre la situación y tendencias de la biotecnología en España” destacan que su peso actualmente representa el 7,8% del PIB.

Este documento ha sido elaborado por la **Asociación Española de Bioempresas (ASEBIO)**, entidad que ha sido fundamental en el crecimiento económico del sector. Fundada en 1999, ASEBIO ha servido en estos quince años como nexo de las empresas biotecnológicas, impulsando su representación ante administraciones regionales, nacionales y europeas, fomentando puntos de encuentro del negocio biotech y colaborando en la generación de empleo cualificado.

Actualmente, la presidenta de ASEBIO es la **Dra. Regina Revilla** (Directora de Relaciones Internacionales y Comunicación de Merck, Sharp & Dohme, y anteriormente responsable en varias áreas de los Ministerios de Agricultura, Sanidad e Industria), y cuenta en su Junta Directiva con el apoyo de representantes de algunas de las biotecnológicas más importantes, como José María Fernández Sousa-Faro (Grupo Zeltia), Antonio José Vallespir (Abengoa) o Antonio Parente (GP Pharm).



Figura 3. La Dra. Regina Revilla, presidenta de ASEBIO, durante la rueda de prensa en la que se presentó oficialmente Biospain 2014. Fuente: Biospain 2014 <http://biospain2014.org/photo-gallery>

El trabajo de ASEBIO, impulsado por figuras como Jorge Barrero (Adjunto a la Presidencia) o Isabel García (Secretaria General), se ha materializado en eventos importantísimos para el sector, como Biospain o Biolatam (**Fig. 3**). Estas dos citas se han convertido en un auténtico referente internacional, sirviendo como escaparate de la biotecnología española hacia el mundo.

Tres pilares para un objetivo común: promover la biotecnología

No hay duda de que los últimos veinticinco años han sido cruciales para el **despegue definitivo de la biotecnología en España**, en los que nuestra Universidad, y en particular, la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales, han jugado un papel protagonista.

Los esfuerzos de SEBiot, FEBiotec y ASEBIO, consideradas como los tres pilares del sector biotecnológico, han sido muy importantes para promover la investigación, el reconocimiento profesional y su desarrollo económico y social.

Gracias al impulso de la Federación, y el apoyo del resto de entidades, junto con la Sociedad Española de Microbiología y la Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología (FECYT), celebramos ahora el **Año de la Biotecnología**, una efeméride que vuelve a unir esfuerzos para lograr un objetivo común: promover y difundir el sector entre la sociedad.

Como dijera **Carl Sagan**, “*no explicar la ciencia parece perverso, pues cuando estás enamorado, quieres contárselo al mundo*”. Ojalá podamos difundir en este 2014 nuestra pasión por la biotecnología, y mostrar así las aplicaciones de la I+D+i en relación con la salud, la agricultura, la ganadería o el medio ambiente.

Bibliografía

- Albert, A. La Sociedad Española de Biotecnología (SEBiot): desde sus inicios hasta 2004. Disponible en: http://www.sebiot.org/userfiles/files/Los_inicios_de_SEBIOT.pdf (Último acceso, 2 de septiembre de 2014).
- Cohen, S.N., Chang, A.C., Boyer, H.W., Helling, R.B. 1973. Construction of biologically functional bacterial plasmids in vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* 70: 3240-3244.
- Informe ASEBIO 2013: “Situación y tendencias del sector de la biotecnología en España”. Disponible en: http://www.asebio.com/es/documents/InformeASEBIO2013_web.pdf (Último acceso, 4 de septiembre de 2014).
- Villatoro, F.R. Las patentes como fuente de financiación de las universidades. Disponible en: <http://francis.naukas.com/2009/03/24/las-patentes-como-fuente-de-financiacion-de-las-universidades/> (Último acceso, 2 de septiembre de 2014).

ABLe: promoviendo la Biotecnología en León desde el 2007

Diego Balboa, Blanca Torroba, M^a Ángela Bernardo, Laura Giner, Santos Domínguez, David Álvarez

“Creo que todos tenemos un poco de esa bella locura que nos mantiene andando cuando todo alrededor es tan insanamente cuerdo”.

Así describía Julio Cortázar en Rayuela qué era la locura. Y probablemente parte de esa 'bella locura' fue la que nos impulsó a seguir el camino emprendido por estudiantes de Cataluña y Andalucía. ¿Por qué no crear una Asociación de Biotecnólogos de León?

Tras muchas reuniones, ideas, cafés en la Facultad y un sinnúmero de documentos, nacía ABLe. Entre nuestros propósitos: divulgar la biotecnología y promover nuestra profesionalización. Como solía repetir Marcos José Fernández, Vicepresidente de ABLe, *“los jóvenes biotecnólogos empezábamos a ser conocidos, pero necesitábamos ser reconocidos”*. Era la época en la que, cuando alguien te preguntaba por la titulación que estudiabas, la respuesta solía ser *“¿bioqué?”*

Mucho tiempo ha pasado desde aquel lejano 2007. Siete años después, el sector biotecnológico no sólo ha fortalecido su potencial económico, sino que además es protagonista del **Año Nacional de la Biotecnología**, promovido por la Federación Española de Biotecnólogos. Esta entidad, nacida también en León en julio de 2008, fue creada en el seno del III Congreso Interuniversitario de la Biotecnología, organizado por ABLe.

Y es que cuando nuestro mundo se volvía tan insanamente cuerdo, en el momento en el que la crisis económica y social comenzaba a acechar como un fantasma, nuestra bella locura daba sus primeros pasos, de la mano de estudiantes que no superaban los 20 años. Han sido, sin duda, siete años de trabajo común, proyectos escritos en servilletas, reuniones, alegrías, ilusión y muchísimo esfuerzo. Ésta es la pequeña gran historia de la Asociación de Biotecnólogos de León.

Los inicios

(Por Diego Balboa, primer Presidente de ABLe)

Era el año 2006. Las dos primeras promociones de biotecnólogos de la

Forma de mencionar este artículo: AA.VV. 2014, ABLe, promoviendo la Biotecnología en León desde 2007 *AmbioCiencias*, 12, 101-111. Revista de divulgación científica editada por la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad de León, ISBN: 1998-3021 (edición digital), 2147-8942 (edición impresa). Depósito legal: LE-903-07.

ULe terminaban los exámenes de la recién creada licenciatura.

La acogida en la Facultad de los nuevos estudios había sido buena, y el profesorado era optimista con unos estudiantes trabajadores y que demostraban buen rendimiento en los exámenes. Los nuevos planes de estudio, de los cuales las primeras promociones fuimos los conejillos de indias, definían un perfil profesional nuevo y prácticamente inexistente en el mercado laboral hasta el momento, el del licenciado en biotecnología.

Precisamente ésta era una de nuestras mayores preocupaciones, estábamos estudiando una licenciatura que nadie tenía muy claro qué salidas profesionales podría tener cuando acabásemos la carrera. ¿Cuál era el “nicho ecológico” del licenciado en biotecnología? Esta inquietud que flotaba amenazante sobre nuestro futuro laboral, condensó en un proyecto para dar a conocer y reivindicar nuestro perfil profesional.



Figura1. Comité organizador y logo del III Congreso Interuniversitario de Biotecnología, organizado en León en 2008.

La idea de crear una asociación de estudiantes rondaba nuestras cabezas cuando, muy oportunamente, nuestros compañeros de las asociaciones de Andalucía y Cataluña nos contactaron para invitarnos al I Congreso Interuniversitario de Biotecnología que se organizaba ese año en Barcelona.

Con su apoyo y recomendaciones, se organizaron las primeras asambleas informativas y grupos de trabajo. Rápidamente se formó un equipo de gente motivada que se implicó de lleno en el proyecto y, con mucha ilusión y trabajo, hicieron posible que ABLe diera sus primeros pasos. Era el 14 de marzo de 2007 y ABLe se fundaba en un aula de la Facultad abarrotada de estudiantes,

estrenándose la primera junta directiva de la asociación.

En julio de ese año, una expedición de estudiantes de biotecnología viajó a Sevilla para asistir al II Congreso Interuniversitario, dónde nos reunimos con nuestros compañeros de toda España durante una semana. Esta fue una experiencia reveladora donde quedó clara la necesidad de este tipo de eventos para dar a conocer la biotecnología a la sociedad y el perfil del biotecnólogo a las empresas.

Por eso, cuando nos ofrecieron organizar el III Congreso Interuniversitario en León, no pudimos decir que no y aceptamos el reto (**Fig. 1**). La organización del III congreso fue un claro ejemplo de coordinación y trabajo en equipo que constituyó un auténtico éxito: unos 400 asistentes de todos los puntos del país, ponentes nacionales e internacionales y una amplia difusión en los medios de comunicación.

Estos primeros congresos interuniversitarios fueron cruciales para la interacción entre las juntas directivas de las asociaciones nacionales, compuestas por estudiantes muy emprendedores que supieron detectar la necesidad de crear una entidad de ámbito nacional. De esta manera, a la clausura del III Congreso en León, se fundaba la Federación Española de Biotecnólogos.

Nuestra asociación acababa de empezar, pero fue el éxito del congreso y la fundación de la Federación la que la consolidó como una organización activa y capaz de organizar todo tipo de eventos. Esto quedó demostrado en noviembre de 2008, cuando ABLé organizó las jornadas divulgativas Mujer y Ciencia. En ellas se reivindicó el papel de la mujer en la ciencia, contando con ponentes de la talla de Margarita Salas y Carmen Vela, que llenaron el salón de actos de la Facultad.

ABLe y Darwin

(Por Blanca Torroba, segunda Presidenta)

En el año 2009, se celebraba el segundo centenario del nacimiento de Charles Robert Darwin y 150 años de la publicación del "Origen de las Especies". Alguien podría pensar que la biotecnología y la evolución no van de la mano, pero unos cuantos biotecnólogos locos a los que les gustan los retos decidieron demostrar que no son campos tan alejados entre sí, y que la biotecnología como ciencia, herramienta y como forma de pensar realmente puede ayudar a desentrañar algunas de las cuestiones sobre "dónde venimos" y "adónde vamos". De aquí brotó el proyecto DEBE (Divulgación de la Evolución y la Biología Evolutiva) (**Fig. 2**), que no sólo quiso abrir debate en el ámbito universitario con un ciclo de conferencias para estudiantes y profesores donde se dieron enfoques

médicos, biotecnológicos, bioinformáticos, antropológicos, sino que también se expandió al público de la calle con conferencias de carácter menos técnico y más divulgativo en colaboración con la Fundación Sierra-Pambley. Asimismo, se llevaron a cabo actividades dirigidas a los niños en varios colegios públicos, como cuentacuentos, presentaciones y gymkanas. Estas tuvieron un gran éxito entre los pequeños, que constantemente te sorprendían con preguntas que no sabías responder o puntos de vista algo alternativos, y los no tan pequeños que volvimos a trasladarnos a un aula de colegio, pero esta vez en el lado contrario.



Figura 2. Comité organizador de las jornadas DEBE y logo.

Biotecnología y alimentación, un *vinomio* posible

(Por María Ángela Bernardo, tercera Presidenta).

Tras las dos primeras Juntas directivas, caracterizadas por la puesta en marcha de la Asociación y la realización de dos proyectos tan importantes como el Congreso, Mujer y Ciencia y DEBE, un grupo de jóvenes vinculados con la 'segunda generación' de biotecnólogos comenzábamos una nueva aventura.

La tercera etapa de ABLe estuvo marcada, sin duda, por la organización de INVINOTEC 2010, el I Congreso de la Biotecnología del Vino (**Fig. 3**). Nuestros objetivos eran sin duda ambiciosos: aunar la investigación en biotecnología, tecnología de los alimentos e ingeniería agraria para crear un punto de encuentro entre científicos, emprendedores y apasionados del sector vitivinícola.

Llama la atención que, de nuevo, la iniciativa de ABLe nacía donde surgen los buenos proyectos: en una cafetería, pensando qué nuevos retos asumíamos y teníamos por delante. Fue allí donde decidimos que era clave "mirar hacia fuera", y embarcarnos en la aventura de introducirnos en un mundo desconocido para nosotros, bastante tradicional y alejado, por lo menos a priori, de la I+D+i en biotecnología.



Figura 3. Comité organizador y logo de INVINOTEC.

Nada de aquello hubiera sido posible sin la colaboración de la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales, la FGULEM, la Facultad de Veterinaria, el Instituto de la Viña y el Vino o la Fundación Centro de Supercomputación de Castilla y León. En estos meses de trabajo, reuniones, ilusión y esfuerzo, logramos pedir una ayuda FECYT en tiempo récord, y contar con la colaboración de la Denominación de Origen Tierra de León y el Ayuntamiento de León.

Aunque sobre la servilleta nuestra idea consistía también en montar la primera Feria del Vino en la ciudad, finalmente no fue posible. Tal vez fuimos demasiado ambiciosos. Quizás no logramos los apoyos necesarios. Pero lo cierto es que un par de años después, se celebraba en León un encuentro de estas características, ¿puede que lográramos llamar la atención de alguien?

INVINOTEC tuvo lugar del 24 al 26 de octubre, y combinó las sesiones científicas de las Jornadas Vinomio con un concurso de investigación, catas de vino y visitas a bodegas y centros de interés, como el superordenador Caléndula.

Más de 120 asistentes vinieron a León, y aquel congreso se clausuró con la celebración en León de la asamblea de FEBiotec. Junto con el resto de Asociaciones miembro, ABLe debatió el futuro de nuestro colectivo, combinando las intensivas reuniones con un maridaje de setas y vino (organizado con el apoyo de la Asociación Micológica Berciana Cantharellus) y una visita a Valdevimbre.

Durante esos meses, también apoyamos una iniciativa de divulgación de FEBiotec, *Biotechnofarm*, que pronto se convertiría en un referente de la difusión de la biotecnología. Acudimos, de la mano de FGULEM, al Congreso de Biotecnología Alimentaria organizado por Vitartis en Valladolid e hicimos

nuestros primeros pinitos en comunicación, lanzando la idea del boletín trimestral para socios y creando nuestros canales en Twitter y Facebook.

Fórmate y ConCiencia - los

(Por Laura Giner, cuarta Presidenta)

Nuestra cuarta junta directiva nació después de ceder a nuestra presidenta a la Federación Española de Biotecnólogos, momento en el que se dio una reorganización de la Junta Directiva. Con aires renovados, y después de dejar atrás el éxito de Invinotec emprendimos la marcha con nuevos y emocionantes proyectos.



Figura 4. Mesa de clausura y logo de las primeras Jornadas ConCiencia.

En marzo de 2011, en paralelo a las jornadas de orientación profesional organizadas por la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad de León, se llevaron a cabo una serie de talleres titulados “YDQ: ¿Y Después Qué?” dirigidos a la formación y mejora de la salida profesional de nuestros compañeros biotecnólogos a un paso de terminar sus estudios. En estos talleres, nutrimos el pequeño espíritu emprendedor que todo buen biotecnólogo lleva dentro en un taller titulado “Cómo crear tu bioempresa en 10 pasos”. Para aquellos socios cuya la faceta emprendedora está más escondida, organizamos un taller de búsqueda de empleo específico para el perfil técnico y científico que nos caracteriza, con el objetivo de mejorar la incorporación de nuestros nuevos biotecnólogos al mercado laboral.

En mayo de 2011, con la divulgación científica como uno de los principales designios, llevamos la ciencia al Museo de León. Durante una serie de charlas

desarrolladas a lo largo de varias semanas, científicos de gran renombre de nuestro país nos hablaron de temas tan complejos como las vacunas, el cáncer, la biorremediación o la nanobiotecnología, de una forma sencilla y apta para todos los públicos, llegándose a crear verdaderos debates científicos en torno al tema expuesto gracias a las aportaciones de los cientos de asistentes que nos acompañaron.

Después del agitado curso, retomamos fuerzas en una jornada de hermanamiento con la Asociación de Biotecnólogos de Madrid (AsBioMad) en la que visitamos algunos centros de investigación situados en la capital de España. De aquel encuentro surgió “BAC: Biotech Annual Congress”, el VI Congreso de la Federación Española de Biotecnólogos, celebrado en julio de 2012 en Madrid y organizado por primera vez de manera coordinada por dos asociaciones miembro de FEbiotec: ABLe y AsBioMad.

Un paso adelante: Biotech Annual Congress

(Por Santos Domínguez, quinto Presidente)

En marzo de 2012, y tras un año lleno de proyectos y ambiciones, surgió la quinta Junta Directiva de la Asociación de Biotecnólogos de León como una transición, por así decirlo, entre antiguos estudiantes de Licenciatura y los ahora cada vez más implicados estudiantes de Grado en Biotecnología.

En estos momentos ABLe se encontraba participando activamente en la organización de BAC2012, congreso que tendría lugar en julio de 2012, y que llevaba siendo organizado de forma conjunta con la Asociación de Biotecnólogos de Madrid (AsBioMad) desde el verano de 2011. BAC2012 supuso un ambicioso proyecto que finalmente resultó en un gran éxito, no sólo a nivel de asistencia (cerca de 300 participantes), sino también a nivel de la calidad de las ponencias (asistencia de la Dra. Ada Yonath, premio Nobel de Química en 2009) y talleres de formación (bioinformática, citometría de flujo, comunicación en ciencia y bio-emprendimiento).

Tras finalizar el verano de 2012, ABLe se enfrentaba a un nuevo curso académico, en el que el objetivo inicial principal era conseguir la atención y ofrecer a los nuevos alumnos algo que les pudiera ser de utilidad al principio de su formación. Con este objetivo, ABLe inauguró las inscripciones gratuitas para alumnos de primer curso, y organizó el proyecto “Acerca-t”, donde se organizaban visitas divulgativas a algunos de los centros de investigación de la provincia de León. Ambas iniciativas tuvieron gran acogida entre los nuevos estudiantes y proporcionó una importante cantera de socios activos y motivados con la Biotecnología.

En febrero de 2013 ABLe organizó en colaboración con la Asociación Cultural Bioma y el Departamento de Biología Celular de la Universidad de León, un “Taller de Técnicas de Biología Celular en Experimentación Animal”, donde 20 alumnos de la Facultad tuvieron la oportunidad de ponerse en contacto con técnicas de inmovilización y preparación de animales de experimentación, extracción y preparación de muestras biológicas, y técnicas de tinción e inmunohistoquímica. El éxito de este taller concluyó con la iniciativa de repetirlo en los siguientes cursos.



Figura 5. Audiencia en el Biotech Annual Congress 2012 organizado por ABLe y la Asociación de Biotecnólogos de Madrid en 2012.

Finalmente, y retomando el espíritu divulgador propio de la asociación y que busca acercar la ciencia a toda la sociedad, ABLe organizó las II Jornadas Con-Ciencia, que fueron celebradas en el Museo de León en abril y mayo de 2013. En esta edición se abrieron a todos los públicos temas a veces no entendidos completamente o tabú como el cáncer (Dr. Eugenio Santos), los antibióticos (Dr. José Antonio Gil), la domesticación animal (Dr. Juan José Arranz), el derecho sobre el genoma humano (impartida por la expresidenta de ABLe, M^a Ángela Bernardo) y la biomedicina (Dra. Sonia Sánchez). La masiva asistencia de público a las salas del Museo de León durante las cinco ponencias y la gran cantidad de preguntas e inquietudes, puso de manifiesto la gran curiosidad, y a

veces la falta de información sobre estos temas en la sociedad actual. Con el mismo espíritu divulgador, Con-Ciencia se repetiría en 2014.

Tras las elecciones de finales de mayo de 2013, la mayoría de los “conocidos habituales” que habían formado parte de las tres o cuatro juntas directivas anteriores, se despidieron de ABLe, dando paso a una nueva junta compuesta casi íntegramente por estudiantes de Grado, cargados de iniciativa, ideas e ilusión.

Actualidad

(Por David Álvarez, sexto y actual Presidente).

Y sí, llegamos a la Junta Directiva actual, cuya andadura comenzó el 23 de mayo de 2013, en un soleado día. El día en el que fuimos elegidos, resplandecía el Sol en su punto más alto. Ése era el listón que las cinco Juntas Directivas anteriores nos habían marcado. Éramos jóvenes (unos más que otros) y ya el Grado casi se había apoderado de toda la composición de la Junta, aguantando sólo una alumna de Licenciatura. Teníamos ambición y ganas, y estábamos dispuestos a poner todo lo que pudiésemos encima de la mesa para que ABLe mantuviese la estupenda salud que tenía entonces.

Tras vencer la época de exámenes, realizamos nuestra primera Junta y se terminó de organizar el viaje a Sevilla, al Congreso de la Federación de 2013. Muchos recordarán aquel viaje, en el que conocimos prácticamente el infierno, por las altas temperaturas del autobús en el que viajábamos que incluso tuvo que realizar paradas técnicas para no fundirse con el asfalto. Sobrevivimos (gracias a una alumna de primero y su ventilador con agua) no sólo al viaje, sino al Congreso, en el que no sólo disfrutamos enormemente de las conferencias de un exministro de Sanidad o de un Premio Nobel, sino que hicimos muchísimo networking, conociendo a personas como nosotros, biotecnólogos o estudiantes, pero de diversas universidades de España.

Pasado el verano, ABLe recargó las pilas aprovechando el entusiasmo de la nueva Junta Directiva y comenzó su andadura con la Jornada de Acogida de alumnos de nuevo ingreso. Conseguimos muchísimos nuevos socios gracias a la iniciativa de la inscripción gratuita de la Junta anterior. Es el primer contacto entre alumnos nuevos y veteranos, entre personas apasionadas por la Biotecnología, entre socios y futuros ABLeños. En eso se basa la Asociación: no basta con realizar actividades de mayor o menor éxito, sino que el fin último es agruparnos como colectivo y hacer fuerza en una sociedad que no nos va a dar nada gratis, haciéndola comprender qué es la Biotecnología y la importancia que

tiene en sus vidas.

Así, una vez comenzado el curso, iniciamos las actividades, como la organización de visitas a centros de investigación o bodegas e incluso un hermanamiento en un viaje a Lisboa con nuestros compañeros de la Asociación de Biotecnología de Salamanca. Mientras tanto, se redactaban y aprobaban un nuevo Reglamento de Representantes así como se modificaban los Estatutos de la Asociación.



Figura 6. Alumnos tras la visita a INBIOTEC.

Ya en 2014, lo iniciamos con un Seminario Internacional de Técnicas de Biología Celular en Experimentación Animal, realizándolo conjuntamente con la Universidad de León y la Nottingham Trent University, siguiendo, en lo que a formación se refiere, a un curso de bioemprededurismo.

Por otro lado, como fue habitual ya desde hace años, ABLLe siguió divulgando, bien con el programa de FEBiotec, Biotechnofarm, acercando la ciencia a los alumnos de ESO y Bachillerato de toda la provincia leonesa, bien con las Jornadas ConCiencia. En esta ocasión, los ponentes que pudieron llevar la Biotecnología al Museo de León fueron el Dr. José María Medina Jiménez (Alzheimer), Dra. Margarita Marqués Martínez (Biotecnología básica), Dr. Rogelio González Sarmiento (cáncer), Dr. Elías F. Rodríguez Ferri (vacunas) y José Miguel Mulet (transgénicos).

Mientras tanto, el boletín ABLLe siguió acumulando ediciones, se renovó por completo la web y las redes sociales, así como se puso a disposición de los socios un sistema de resolución de dudas sobre optativas, másteres y programas

de intercambio.

El curso 2013 – 2014 finalizó en Barcelona, en el Biotech Annual Congress (**Fig. 5**), en el que además del habitual gran nivel de las ponencias (un Premio Nobel y un Príncipe de Asturias), debemos destacar la grandísima presencia de socios de ABLe en su comité organizador, de los que nos sentimos orgullosos. También se mostró el futuro de ABLe, definiéndolo con una palabra: juventud. Una gran parte de los socios que acudieron al evento en la ciudad condal eran socios de primer curso, estudiantes que suelen ser más difíciles de movilizar en un primer año de adaptación a la universidad. ABLe tiene futuro, para seguir extendiendo el magnífico trabajo de los compañeros que pasaron por donde ahora estamos.

Y ABLe ha vuelto un año más, en una Junta Directiva más numerosa (trece desde marzo 2014) y aún más joven, con un proyecto ambicioso nunca antes realizado en León: la Semana Nacional de la Biotecnología. Colaborando con la Facultad que nos vio nacer, con la Asociación de Biotecnólogos de Madrid y siendo patrocinados por la Federación Española para la Ciencia y la Tecnología, pretendemos llenar León (y Madrid, gracias a nuestros compañeros de AsBioMad) de Biotecnología, ya que 2014 es nuestro año, el Año de la Biotecnología en España (**Fig. 6**).

Han pasado ya más de siete años, mucha gente ha formado parte de este proyecto, que nació con la iniciativa de unos pocos en un aula de la Facultad y que ahora rozan los 200 socios... Caminante, no hay camino, se hace camino al andar fue la premisa que tomaron entonces, y que nosotros seguimos manteniendo, con ilusión del primer día, a pesar de haber pasado ya tanto tiempo.

EMPRESAS DE BIOTECNOLOGÍA

El “abc” de entidades biotecnológicas en León hoy

María Luz Centeno

En este monográfico de AmbioCiencias dedicado a la Biotecnología no podía faltar la participación de las empresas y organismos públicos leoneses con desarrollo biotecnológico o que utilizan herramientas biotecnológicas en su rutina laboral. Por ello les invitamos a hacer un breve relato sobre su historia, sus actividades y los servicios y productos que ofrecen a la sociedad, relatos que hemos agrupado en esta sección. Bien es cierto que el lector echará en falta la presencia de importantes entidades como Laboratorios Ovejero, Grupo CHEMO (León-Pharma y Genhélix), Antibióticos S.A. o INBIOTEC, que por unas u otras circunstancias no han podido participar. Sin embargo, su papel en el desarrollo empresarial y tecnológico de León, así como el realizado por aquellas entidades que sí figuran aquí, se pone ampliamente de manifiesto en otro artículo de este número escrito por D. Elías F. Rodríguez Ferri.

Otro propósito de la sección es aprovechar la ocasión para agradecer a todas estas entidades su colaboración en la formación de los estudiantes de la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales y de otros centros de la Universidad de León, materializada a través de la oferta de prácticas externas, la concesión de premios a los mejores expedientes y su participación en múltiples actividades (Jornadas de Orientación Profesional, congresos, talleres, etc.).

Nombre: Bioges Starters

Ubicación: ESTIA, Avda. Portugal, León

Página web: www.bioges.es



En el año 2003, surge en el seno de la Universidad de León, de la mano de un grupo de emprendedores procedentes del sector privado y del mundo académico, una empresa especializada en biotecnología y microbiología industrial llamada Bioges. Once años después, su actividad se ha consolidado en la investigación, desarrollo, fabricación y comercialización de cultivos microbianos de interés en industrias agroalimentarias y afines.

Bioges dio sus primeros pasos en un laboratorio del Instituto de Recurso

Forma de mencionar este artículo: Centeno, M.L. 2014, El “abc” de entidades biotecnológicas en León hoy. AmbioCiencias, 12, 112-125. Revista de divulgación científica editada por la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad de León, ISBN: 1998-3021 (edición digital), 2147-8942 (edición impresa). Depósito legal: LE-903-07.

Naturales dentro de la Escuela de Ingeniería Agrícola (ESTIA) de León. En 2009, después de una fuerte inversión económica, se trasladó a unas modernas instalaciones en un edificio anexo a la ESTIA. Aquí fabrica cultivos iniciadores, fermentos o starters para controlar y dirigir la fermentación de diferentes alimentos fermentados como los embutidos o los quesos.

Su éxito se debe a la alta especificidad de sus cultivos. Bioges lanza al mercado fermentos hechos a medida de las necesidades del cliente, específicos para cada tipo de alimento y diseñados a partir de cepas autóctonas aisladas de materias primas fermentadas de manera natural. Así, las características organolépticas y diferenciadoras de cada alimento se mantienen intactas, contribuyendo a la homogeneización y estandarización de la artesanía tradicional, sin desvirtuar las señas de identidad ni los sabores autóctonos.

Esta estrategia da rápidamente sus frutos y en el año 2004, tras un proyecto de investigación con una importante industria cárnica de nuestro país, comienza la comercialización de uno de sus cultivos más innovadores formulado a partir de varias cepas de *Lactobacillus sakei*. Estos microorganismos son capaces de acidificar la masa cárnica sin necesidad de alcanzar elevadas temperaturas de estufaje, impidiendo la proliferación de flora indeseable y facilitando la estabilización del color, el secado y la cohesión del embutido. De la experiencia surgieron otros starters para potenciar las características organolépticas de diferentes embutidos.

En los años 2010 y 2011 Bioges puso a la venta los primeros fermentos autóctonos para quesos con Denominación de Origen. Este es el caso de los fermentos para queso Afuega'l Pitu y queso Cabrales, que vieron la luz gracias a la colaboración de la compañía con el Instituto de Productos Lácteos de Asturias, del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IPLA-CSIC).

En la actualidad, la actividad I+D+i de Bioges se centra en el desarrollo de cultivos en la línea de los anteriores, para otro tipo de alimentos fermentados con Denominación de Origen. Además, comienza a dar sus primeros pasos en el desarrollo de cultivos microbianos con carácter probiótico, susceptibles de ser incorporados en alimentos funcionales.

Nombre: Biomar Microbial Technologies

Ubicación: Parque Tecnológico, León

Página web: www.biomarmicrobialtechnologies.com

biomar
MICROBIAL TECHNOLOGIES

BIOMAR Microbial Technologies es una compañía biotecnológica fundada en 1996 en León, especializada en Microbiología Marina y Química de

Productos Naturales, cuyo propósito es descubrir, desarrollar y producir nuevos compuestos de interés industrial. La misión de la compañía es desarrollar productos naturales para la mejora de la salud humana y la conservación del entorno, y su estrategia se basa en la innovación y la sostenibilidad.

Proyectos de I+D.- Biomar tiene tres valiosos activos: su experiencia en el desarrollo e implementación de proyectos de I+D, sus colecciones de cepas, extractos y compuestos, y su capacidad de producción por fermentación.

La compañía ha logrado crear una colección de unas 66.000 cepas de microorganismos, con más de 42.000 extractos de caldos de fermentación disponibles para ensayar y una colección de más de 1.000 compuestos naturales. La diversidad taxonómica y química de las colecciones representa un excelente punto de partida para la búsqueda de compuestos activos contra un objetivo concreto o microorganismos con propiedades específicas.

Biomar ofrece a sus clientes los extractos y compuestos para screenings, el desarrollo screenings concretos y servicios técnicos y analíticos. También es proveedor de productos naturales producidos por fermentación, y cuenta entre sus clientes con proveedores químicos especializados internacionales.

Planta de producción.- Biomar tiene en su planta de producción tanques de fermentación de 30, 300 y 3.000 litros e instalaciones para el procesado de los caldos. Esto permite una rápida transferencia desde el laboratorio a estudios de prueba de concepto y a una escala pre-industrial.

Aplicaciones industriales.- La diversidad de las colecciones de Biomar, la experiencia del equipo, la flexibilidad para adaptarse al cliente y una cultura de colaboración con otras empresas son aspectos que han propiciado el éxito en numerosos proyectos en varios sectores industriales clave como son salud humana y cosmética, agricultura o alimentación.

A) Salud humana y cosmética. El interés inicial de la compañía fue el descubrimiento de compuestos naturales que pudieran tener una aplicación en oncología. Pero pronto se abrieron nuevas líneas de investigación enfocadas en el área neurológica y anti-infecciosa. En relación a la cosmética, es destacable el desarrollo de un compuesto antiacné en 2012, teniendo también líneas de investigación en blanqueantes y antioxidantes. Así mismo Biomar ha colaborado con compañías multinacionales en el sector farmacéutico, interesadas en las colecciones de extractos y productos naturales para sus programas de desarrollo de producto.

B) Energía. La actividad se ha centrado en el Bio-diesel, ofreciendo el potencial de sus microalgas como fuente sostenible de acil-glicérido

C) Agricultura. En 2013, fruto de una colaboración de varios años, el nuevo herbicida Thaxtomin A fue aprobado por la EPA en los Estados Unidos. Biomar ha continuado investigando en campos como la bio-remediación,

preparando mezclas de microorganismos eficaces para mejorar las características del suelo y sus desequilibrios. En 2014 firmó una alianza estratégica con Valent Bioscience Corporation, colaborando en la búsqueda de bio-pesticidas.

- D) Industria alimentaria. Entre sus proyectos en este campo podemos encontrar: 1) la bio-transformación de los subproductos de la industria alimentaria en un producto con valor añadido, 2) la obtención de Omega-3 purificado a partir de la ingeniería metabólica sobre bacterias, con aplicación potencial en la industria farmacéutica, 3) otros ámbitos como los conservantes, colorantes y endulzantes naturales, 4) la optimización de procesos de fermentación y, 5) el uso de microalgas en la acuicultura.

Nombre: Gadea Biopharma, S.L.U.

Ubicación: Parque Tecnológico de León

Página web: www.gadea.es



Gadea Biopharma

Gadea Grupo Farmacéutico, S.L.- Se trata de un Grupo Farmacéutico de empresas con sede en Castilla y León. La principal actividad, desde la constitución de la primera empresa del Grupo en 1991, ha consistido en el desarrollo, fabricación y comercialización de principios activos farmacéuticos. En el año 2008 el Grupo Gadea inició actividades análogas en el campo de las formas farmacéuticas terminadas y, desde 2011, en el sector biotecnológico.

Gadea Biopharma, S.L.U.- Empresa perteneciente 100% al Grupo Gadea. Realiza actividades en el campo biotecnológico centradas en la selección de microorganismos y desarrollo e industrialización de diferentes procesos de fermentación para la producción de principios activos farmacéuticos, fundamentalmente precursores de esteroides. Dichos precursores son utilizados por Crystal Pharma, S.A.U., empresa del Grupo Gadea centrada en la investigación y fabricación de principios activos farmacéuticos, y especializada en la síntesis de diferentes tipos de esteroides.

Adicionalmente Gadea Biopharma ofrece servicios de mejora de cepas y procesos de fermentación para otras empresas.

El Grupo Gadea ha basado su crecimiento en la apuesta por la investigación, el desarrollo tecnológico, la calidad y la internacionalización, exportando en la actualidad más del 95% de su facturación, a 72 países en los cinco continentes.

Nombre: Laboratorios Analíticos
AGROVET

Ubicación: Mansilla Mayor, León

Página web: www.agrovet.es

AGROVET
laboratorios analíticos

Laboratorios Analíticos Agrovet S.L. inició su actividad en el año 2006 en el polígono de Onzonilla en León, consiguiendo la certificación por parte de AENOR y el certificado UNE EN-ISO 9001 en 2008. En 2011 consiguió además la certificación GLP por parte de la Agencia del Medicamento. En 2012 la empresa registra los productos Fitoagroactiv y Fitoagroactiv-Plus, desarrollados a base de microorganismos fitoprotectores. En 2014, consigue la acreditación UNE EN-ISO 17025 y crea el Centro Tecnológico Agrícola-Ganadero Sostenible en la localidad de Mansilla Mayor.

Investigación.- La investigación realizada en la entidad se centra en la búsqueda de biosoluciones para el sector agrícola. Se potencian las actuales líneas de investigación con microorganismos fitoprotectores, se llevan a cabo proyectos de mejora de cultivos autóctonos (estudios de control de la grasa en alubias, mejora del lúpulo, mejora y productividad del Tomate de Mansilla...) así como el aislamiento e identificación de bacteriófagos para el control de enfermedades bacterianas, entre otras.

También trabaja con el sector ganadero, realizando diversos tipos de estudios: con microorganismos productores de ácido láctico para el control de mamitis ambientales, control de patologías mamarias, vacunas y sus efectos, nutrición animal y estudios de patógenos mediante biosoluciones.

Además, se realizan estudios de ámbito agroalimentario con levaduras para producciones de cervezas artesanales y otros estudios para el aumento de la vida útil de alimentos perecederos.

Centro Tecnológico.- Se trata de un centro innovador por su tamaño, equipamiento y movilidad empresarial, características que permitirán abordar y ejecutar proyectos con socios biotecnológicos de la Unión Europea dentro del programa Horizonte 2020. Pretende ser un centro de referencia de I+D+i en el sector agrícola en Castilla y León. A través del centro pretende:

- a) Potenciar la actividad de la industria farmacéutica mediante el apoyo analítico. El centro dispone de un laboratorio de control acreditado por la Agencia del Medicamento (certificado G.L.P.) donde se podrán realizar análisis que las empresas farmacéuticas encargaban hasta el momento a laboratorios localizados fuera de la comunidad.
- b) Potenciar la actividad de I+D+i en el medio rural y en el sector agroalimentario. Disponer de un laboratorio acreditado que potencie la actividad I+D+i a nivel agroalimentario permitirá 'acreditar y defender los productos de la tierra'.

Nombre: Laboratorios SYVA

Ubicación: San Andrés del Rabanedo
y Parque Tecnológico de León

Página web: www.syva.es



Laboratorios SYVA es una empresa española con implantación en la industria zoonosológica y farmacéutica vinculada al sector animal. Con más de medio siglo de experiencia en investigación, producción y comercialización de productos veterinarios para la prevención y tratamiento de enfermedades en animales, fue pionera en la investigación y registro de vacunas de lengua azul, una de las enfermedades que más trastornos y pérdidas económicas ha originado en los últimos años en distintos países de la Unión Europea como España, Francia o Alemania. En 2007, el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación le concedió la Placa de Plata al mérito Agrario por su contribución a la lucha contra esta enfermedad.

La inauguración de su nueva planta de producción de Inmunológicos en 2008, permitió triplicar la capacidad de fabricación de vacunas, así como mejorar sus estándares de calidad. Este centro de producción ha sido diseñado atendiendo a los criterios de Investigación, Desarrollo e Innovación actuales, cumpliendo Normas GMP y los requisitos establecidos por las distintas Agencias Reguladoras, nacionales e internacionales, para la elaboración de este tipo de productos.

La planta de Inmunológicos cuenta con distintas secciones especializadas en la producción de principios activos y producto acabado a base de bacterias y virus, vivos atenuados o inactivados, toxoides y proteínas purificadas, obtenidos por fermentación, sobre cultivos celulares o mediante técnicas de ingeniería genética, según corresponda.

La sección de Bacteriología cuenta con dos partes, una para bacterias aerobias y otra para bacterias anaerobias esporuladas, que se encargan de la fabricación de principios activos y vacunas de origen bacteriano, biomasa y toxinas inactivadas y purificadas.

En la sección de Bacteriología Vivos se lleva a cabo la producción de vacunas bacterianas vivas, principalmente vacunas contra la brucelosis y contra el ántrax. Estos organismos pertenecen al nivel 3 de bioseguridad, por lo que se producen en una zona confinada exclusiva, con presión negativa, accesos controlados, EPIs especiales para los trabajadores, esterilización química o mediante autoclave de los materiales que salen de la sección y fermentadores automatizados con posibilidad de ser controlados desde fuera de la sala.

La producción de antígenos víricos se realiza utilizando como sustrato cultivos de células de mamífero, necesarias para que el virus en cuestión se

replique. Para ello, existe una Sección de Cultivo Celulares destinada a la producción de células a gran escala.

En todas las secciones, tanto de bacteriología, como de virología, se dispone de los medios y técnicas necesarias para la manipulación de organismos modificados genéticamente (GMO), capaces de producir importantes cantidades de antígenos o proteínas recombinantes que una vez purificadas por cromatografía o por otras técnicas, pueden ser utilizadas en la fabricación de vacunas de última generación.

Su amplia trayectoria profesional en investigación, desarrollo y fabricación de medicamentos veterinarios, ha conducido a Laboratorios SYVA a una situación privilegiada, estando presente en la actualidad en 50 países en todo el mundo.

Nombre: Vitatene S.A.U./DSM

Ubicación: Paseo I. Sáez de Miera, León

Página web: <http://www.dsm.com>



Vitatene, S.A.U. es una empresa de alimentación que comenzó su actividad en Mayo del 2004 y que pertenece al grupo holandés DSM desde 2011.

Su principal actividad es la fabricación y formulación de carotenoides naturales para su uso como colorantes alimentarios, nutrientes, o ingredientes de complementos dietéticos.

Los carotenoides constituyen el grupo de pigmentos más ampliamente distribuido en la naturaleza, con funciones importantes en la fotosíntesis, nutrición y protección frente a daños oxidativos. Sus propiedades químicas y estructurales les proporcionan una coloración característica entre el amarillo, anaranjado o rojo. Los dos carotenoides principales fabricados en Vitatene son el Beta-caroteno (que proporciona una coloración anaranjada) y el Licopeno (en tonos rojos), ambos obtenidos por fermentación de las cepas (+) y (-) del hongo *Blakeslea trispora*, cultivado en condiciones especiales para estimular la biosíntesis del carotenoide deseado.

El proceso de fermentación de *Blakeslea* se realiza actualmente en otras empresas del grupo DSM. La biomasa rica en carotenoides, se recibe en Vitatene, y se somete a un proceso de purificación y extracción con ayuda de disolventes de grado alimentario, seguido de cristalización y secado. El producto cristalino así obtenido, presenta una pureza superior al 95%, y es altamente inestable, insoluble, y difícilmente asimilable por el organismo humano, por lo que se somete a un proceso de formulación.

En Vitatene se fabrican dos tipos principales de formulados: las suspensiones oleosas y los granulados dispersables en agua. En el primer caso, el

cristal de carotenoide se dispersa y se muele en una matriz oleosa, que le protege de la degradación y le hace fácilmente soluble en alimentos con base grasa a los que colorea o enriquece, como la mantequilla o quesos. En el caso de los granulados, una disolución de cristal se emulsiona sobre una solución acuosa de almidón, y se evapora, se seca y se granula posteriormente. Estos formulados fluyen con facilidad y sin apelmazarse, lo que constituye una ventaja tecnológica durante el procesado industrial de fabricación de alimentos. Se utilizan principalmente para colorear bebidas y para enriquecer distintos alimentos, así como para la formación de comprimidos o cápsulas de suplementos dietéticos.

En ambos casos, el cristal de carotenoide queda totalmente protegido de la degradación u oxidación, y debido a estar vehiculado en una matriz soluble, es fácilmente asimilado por el organismo humano.

Los Carotenoides Naturales fabricados en Vitatene cumplen los requisitos de pureza exigidos por la normativa alimentaria Europea, y por la FDA, así como los establecidos por el JECFA, órgano de asesoramiento científico para la FAO y la OMS, y referente para los países que no tienen los recursos necesarios para realizar sus propias evaluaciones.

Nombre: CENSYRA (Centro de Selección y Reproducción animal).

Ubicación: Páramo de Villaquilambre, León.

Página web: <http://www.censyrleon.com>



El Centro de Selección y Reproducción Animal (CENSYRA) es un centro técnico creado en 1931 por el Ministerio de Agricultura para prestar apoyo técnico al sector ganadero con el fin de mejorar la rentabilidad de las explotaciones a través de la mejora genética del ganado. En 1984 fue transferido a la Junta de Castilla y León, dependiendo actualmente del Servicio de Medios y Producción Ganadera de la Consejería de Agricultura y Ganadería. En el CENSYRA se desarrollan varios tipos de actividades:

A) Centro de Inseminación Artificial Bovina y Ovina y Banco de Germoplasma. Se elaboran anualmente 110.000 dosis seminales congeladas de toros y carneros, que al conservarse en nitrógeno líquido a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ mantienen inalterada su viabilidad. También se gestiona un Banco de Germoplasma bovino y ovino desde el año 1980, en el que están depositadas 670.000 dosis seminales bovinas y 110.000 ovinas. Para valorar la viabilidad de las dosis se dispone de un sistema CASA (Computer-Assisted Sperm Analysis) que, mediante análisis de imagen, permite valorar diversos parámetros de movilidad espermática.

- B) Laboratorio de análisis de control lechero oficial. Se analizan al año un millón de muestras de leche de vacas, ovejas y cabras, determinando su contenido en grasa, proteína y extracto seco mediante espectrometría infrarroja y determinando el recuento de células somáticas (leucocitos) mediante citometría de flujo. Se dispone de tres equipos automáticos de análisis combinado (espectrometría y citometría). Estos análisis tienen como finalidad la selección genética de animales con mejor calidad de leche.
- C) Laboratorio de análisis de muestras de inspección procedentes del control de la producción primaria de leche. Es el laboratorio oficial para el análisis de las muestras tomadas por los Servicios Oficiales Veterinarios de Castilla y León, con el fin de controlar la calidad higiénica y sanitaria de la leche destinada a consumo humano. Se controla la posible presencia en la leche de residuos de antibióticos (con pruebas de inhibición del crecimiento bacteriano), el contenido en gérmenes (mediante recuento de bacterias por citometría de flujo) y el recuento de células somáticas (por citometría de flujo).
- D) Laboratorio de genotipado. Mediante técnicas de PCR se realizan dos tipos de análisis: 1) pruebas de confirmación/exclusión de paternidad/maternidad mediante genotipado por PCR de marcadores tipo microsatélite en ganado ovino, bovino y equino, 2) análisis genómico de la resistencia al Scrapie en ganado ovino mediante técnicas de genotipado del gen PRNP a través de dos reacciones de PCR encadenadas (de amplificación de fragmento y de microsecuenciación de SNP, respectivamente).
Las pruebas de paternidad se realizan a petición de las Asociaciones de Ganaderos que llevan los programas de mejora genética, con el fin de garantizar la fiabilidad de las valoraciones genéticas de los reproductores. El genotipado de Scrapie se realiza dentro del Programa Nacional de selección genética para la resistencia a las encefalopatías espongiformes transmisibles en ovino, impulsado por la UE con el fin de erradicar esta enfermedad (scrapie o tembladera) mediante la selección genética de individuos resistentes.
- E) Control de calidad. Se cuenta con un sistema de calidad certificado en 2002 por AENOR, según la norma UNE-EN ISO 9001, para la elaboración de dosis seminales, y acreditado por ENAC desde 2011, según la norma UNE-EN ISO/IEC 17025, para la realización de análisis de leche.

Nombre: Instituto de Ganadería de Montaña (IGM, CSIC-ULE)

Ubicación: Finca Marzanas, Grulleros

Página web: www.igm.ule-csic.es



El Instituto de Ganadería de Montaña (IGM) es un centro de investigación de titularidad compartida entre el Consejo Superior de Investigaciones

Científicas (CSIC) y la Universidad de León (ULE). El Instituto se creó en 2008 con el fin de integrar los grupos de investigación pertenecientes a la Estación Agrícola Experimental (CSIC) y diversos grupos de la ULE cuyo campo de trabajo se encuadraba en el área de rumiantes. La misión del IGM es generar el conocimiento científico necesario para modernizar la gestión y la tecnología de los sistemas agroganaderos y silvopastorales tradicionales.

La actividad científica del IGM se desarrolla a través de los siguientes objetivos: a) estudio de los factores nutricionales que afectan al rendimiento productivo, la calidad de los productos finales y el bienestar en herbívoros de interés ganadero, b) estudio de las principales enfermedades parasitarias e infecciosas de especies de interés ganadero, principalmente en los rumiantes, c) estudio de las características socioeconómicas y técnicas de los sistemas ganaderos y su relación con el uso del territorio.

En los últimos años los investigadores del IGM han puesto a punto nuevos enfoques experimentales al incorporar a su investigación técnicas proteómicas, moleculares o genómicas. Actualmente estas técnicas se han incorporado en algunas líneas de investigación:

A) En Nutrición y Producción Animal se están llevando a cabo estudios que pretenden mejorar, a través de la alimentación, el perfil lipídico de la leche para potenciar sus características saludables.

Los microorganismos del rumen son los responsables de metabolizar los ácidos grasos ingeridos con la dieta y determinar la composición de la grasa láctea. Para conocer su estructura y la diversidad microbiana se están utilizando técnicas de biología molecular tales como T-RFLP, pirosecuenciación–secuenciación masiva del ADN-, PCR a tiempo real y FISH.

En estudios de expresión de los genes relacionados con el metabolismo lipídico en la glándula mamaria se emplean técnicas que permiten cuantificar la abundancia de ARNm de dichos genes (con aproximaciones de genes candidatos, PCR cuantitativa con transcripción inversa, y transcriptómica).

B) En Sanidad Animal se realizan, entre otros, estudios sobre patogenia de diferentes enfermedades de rumiantes, principalmente parasitarias, con el fin de contribuir al desarrollo de terapias preventivas (vacunas o resistencia genética) o curativas (tratamientos farmacológicos).

Entre los objetivos concretos del IGM se encuentran algunos con base biotecnológica tales como búsqueda de proteínas antigénicas mediante técnicas proteómicas o librerías de cDNA; desarrollo de proteínas recombinantes con capacidad antigénica y fines vacunales o de diagnóstico; búsqueda de mutaciones puntuales relacionadas con la resistencia antihelmíntica o estudio del nivel de expresión de genes relacionados con la

respuesta a la infección parasitaria. Todas estas investigaciones emplean aproximaciones experimentales con un importante componente biotecnológico (ELISA, SDS-PAGE, western-Blot, Electroforesis 2D, PCR convencional, RT-PCR, pirosecuenciación, clonación/expresión de proteínas, técnicas inmunohistoquímicas). Además, para valorar la transcripción de genes de interés se está poniendo a punto una técnica de micro disección laser mediante microscopía especializada que permitirá valorar la transcripción pudiendo escoger células individuales sobre cortes histológicos.

La utilización e implementación de técnicas de base biotecnológica permitirá al IGM en el futuro potenciar las relaciones y servicios técnicos con la industria agroalimentaria y farmacéutica.

Nombre: Laboratorio Regional de Sanidad Animal de Castilla y León

Ubicación: Villaquilambre, León

Página web:

www.ganaderia.jcyl.es/web/jcyl/PortalGanadero/es/Plantilla100/1284244926283/



El Laboratorio Regional de Sanidad Animal de Castilla y León es un laboratorio de la Consejería de Agricultura y Ganadería de la Junta de Castilla y León (JCYL), concretamente de la Dirección General de Producción Agropecuaria y Desarrollo Rural a través del Servicio de Sanidad Animal.

Es el Centro de Referencia en Castilla y León en materia de sanidad animal, formando parte de la Red de alerta sanitaria y del Sistema de vigilancia epidemiológica. Entre sus funciones están la puesta a punto y divulgación de métodos y técnicas de diagnóstico, la realización de ensayos y actividades de experimentación, así como la coordinación técnica y el apoyo operativo de los ocho laboratorios provinciales de sanidad animal que, junto con él, forman la Red de laboratorios de sanidad animal en esta comunidad autónoma.

Dentro del Sistema de vigilancia epidemiológica en sanidad animal es la fuente principal de información microbiológica y serológica que permitirá detectar la circulación en las poblaciones animales de los diferentes agentes etiológicos, sus características y patrones de presentación, caracterizar focos epidémicos, identificar nuevos agentes y patologías emergentes e incorporar nuevos elementos de vigilancia (resistencias bacterianas, nuevas técnicas laboratoriales, creación y mantenimiento de bancos de sueros, etc.).

Como laboratorio oficial, realiza los análisis de enfermedades animales sujetas a programas de prevención, control, lucha y erradicación entre los que se

encuentran: campañas de saneamiento ganadero, plan sanitario porcino, control de encefalopatías espongiformes transmisibles, programas de vigilancia, control y erradicación de *Salmonella*, plan de vigilancia epidemiológica de fauna silvestre, programa de vigilancia serológica y entomológica de lengua azul, programa de control/erradicación de Maedi-Visna, etc. Al realizar el análisis de las muestras tomadas en los controles oficiales, sigue las normas de calidad y directrices de la Organización Mundial para la Sanidad Animal y cumple con la reglamentación de la UE, estando acreditado en diferentes técnicas y ensayos conforme a la Norma UNE EN-ISO/IEC 17025.

Realiza una media de un millón de determinaciones anuales en muestras procedentes de varias especies animales, tanto domésticas como silvestres, mediante la aplicación de técnicas de diagnóstico, entre las que se encuentran:

- a) Técnicas serológicas de inmunoensayo para la detección de antígenos y anticuerpos de enfermedades de suidos (peste porcina, enfermedad de Aujeszky, enfermedad vesicular, leptospirosis, etc.), rumiantes (brucelosis, leucosis enzoótica bovina, enfermedad de Maedi-Visna, IBR, BVD, neosporosis, toxoplasmosis, agalaxia contagiosa, Fiebre Q, etc.), aves (influenza, micoplasmosis, enfermedad de Newcastle, fiebre del Nilo Occidental), etc.
- b) Análisis para la detección de genoma vírico y bacteriano por PCR convencional y a tiempo real de *Francisella tularensis*, *Mycoplasma agalactiae*, *Brucella* spp. *Mycobacterium* (complejo tuberculoso), virus de influenza aviar, virus de la lengua azul, etc.
- c) ELISA para la detección de proteína priónica causante de encefalopatía espongiforme bovina, tembladera y caquexia crónica del ciervo.
- d) Diagnóstico inmunológico por rosa de bengala (brucelosis), fijación del complemento (brucelosis y perineumonía contagiosa bovina), microaglutinación (tularemia), gamma interferón (tuberculosis), etc.
- e) Cultivos celulares para aislamiento de antígenos de enfermedades de peces (septicemia hemorrágica vírica, necrosis hematopoyética infecciosa)
- f) Identificación entomológica de vectores de enfermedades.
- g) Diagnóstico bacteriológico de *Salmonella* spp., *Brucella* spp. *Mycobacterias* (complejo tuberculoso), *Francisella tularensis*, etc.
- h) Análisis parasitológico para la detección de ectoparásitos (ácaros de la sarna, varroa, etc.) y parásitos internos.

Para la realización de todos estos ensayos cuenta con personal formado y cualificado, así como con modernas instalaciones que permiten satisfacer las necesidades de una Región eminentemente ganadera.

Nombre: Servicio de Anatomía Patológica y Biotecnología aplicada a la Medicina

Ubicación: Hospital Universitario de León. Altos de Nava, León.

Página web:

www.saludcastillayleon.es/CHLeon/es/hospital-leon



Servicio de Anatomía Patológica (SAP).- La Anatomía Patológica es la disciplina que se ocupa del diagnóstico mediante el estudio de los cambios morfológicos que ocurren en los tejidos y líquidos orgánicos en el transcurso de la enfermedad. Así, estudia biopsias, citologías, piezas quirúrgicas y autopsias.

En el SAP del Complejo Asistencial Universitario de León (CAULE) se estudian las muestras y especímenes procedentes de los servicios quirúrgicos del propio Centro, de los centros de Atención Primaria y de otras áreas de salud.

A su recepción, las muestras son registradas con un código único y procesadas mediante protocolos estandarizados. Tras su registro, una muestra es examinada por un médico especialista en Anatomía Patológica (Patólogo) y fijada en formol hasta el día siguiente. Del procesamiento de las muestras se ocupan los TEAPyC (Técnicos Especialistas en Anatomía Patológica y Citología). El patólogo comienza realizando el estudio macroscópico, seleccionando los fragmentos necesarios para su posterior estudio microscópico. Éste comienza con la visualización de cortes teñidos con hematoxilina y eosina. Las técnicas de inmunohistoquímica, basadas en reacciones antígeno-anticuerpo, permiten estudiar la expresión de proteínas en los tejidos, siendo una herramienta esencial del diagnóstico diferencial y aportando en algunos casos información pronóstica. Actualmente, distintos estudios de Patología Molecular permiten determinar la presencia de alteraciones en ciertos genes, contribuyendo a la elección del tratamiento más adecuado para la enfermedad que sufre el paciente, o proporcionando información diagnóstica o pronóstica.

Banco de tumores.- El SAP es el responsable del funcionamiento y la gestión del Banco de Tumores. Este biobanco recibe, almacena y distribuye muestras donadas por los pacientes para su uso en investigación. Pertenece a la red BEOCyL (Biobanco de Enfermedades Oncológicas de Castilla y León), que a su vez forma parte de la Plataforma Nacional de Biobancos. Una vez que el espécimen quirúrgico llega al SAP, el patólogo decide si necesita todo el tejido para el diagnóstico del paciente, o si existe un excedente de muestra para ser donado al Biobanco. En este caso, el tejido se almacena en varios formatos, lo que permite diversificar el número de técnicas que podrían aplicarse en un posterior procesamiento. Así, las muestras fijadas en formol e incluidas en

parafina serían adecuadas para estudios histológicos y para distintos estudios genéticos, mientras que las muestras congeladas preservan el RNA para estudios de expresión génica. En cualquier caso, y de acuerdo con la legislación vigente, se garantizan los derechos del paciente que ha donado el tejido, cediéndose su muestra únicamente a proyectos de investigación acreditados tanto desde el punto de vista científico como el ético.

En estas páginas queda clara la apuesta y el compromiso que diversos emprendedores y grupos empresariales han hecho para que León sea un núcleo importante en el campo de la Biotecnología, así como el esfuerzo realizado por muchos profesionales de entidades públicas con esta misma finalidad. Ello supone un aumento de la inversión económica y de las probabilidades de empleo para los jóvenes universitarios, pero también la posibilidad para León de un desarrollo basado en la investigación científica, la innovación tecnológica y la sostenibilidad. En resumen, una buena apuesta de futuro.

DESARROLLO DE LA BIOTECNOLOGÍA EN ESPAÑA

Orígenes y desarrollo de la Biotecnología en León

Elías F. Rodríguez Ferri

INBIOTEC

El desarrollo alcanzado por la industria biotecnológica en León no se explicaría sin tener en cuenta el sustrato científico y empresarial sobre el que se ha asentado, integrado principalmente por una serie de empresas de índole químico-farmacéutica que contaban en León con una clara actividad industrial a mediados del siglo XX. Entre ellas ocupan un lugar destacado Laboratorios Abelló, Laboratorios Syva, Laboratorios Ovejero y Antibióticos S.A. Más adelante, en la década de los 80 y de los 90, se incorporaron el Instituto Biomar y Leonfarma, y más recientemente aún, ya en este siglo, DSM/Vitatene, Gadea Biofarma, Genhélíx y Laboratorios Calier.

Este desarrollo industrial ha estado acompañado por un impulso científico, en el que la institución universitaria leonesa (inicialmente formando parte de la Universidad de Oviedo, y desde 1979 como entidad independiente) ha jugado un papel muy destacado. La orientación biotecnológica de una buena parte de las áreas de conocimiento relacionadas con las Ciencias de la Vida de la ULE propició la implantación de la Licenciatura en Biotecnología hace ya diez años, así como la creación de una serie de institutos de investigación, entre los que destaca Inbiotec. Desde entonces la interacción de la Universidad de León con la industria químico-farmacéutica y biotecnológica no ha dejado de crecer y ha hecho de León un referente biotecnológico con reconocimiento nacional e internacional.

La Biotecnología: una Revolución biológica

Aunque el término Biotecnología fue utilizado por primera vez en 1919 por Karl Ereky para referir la obtención de productos desde diferentes materias primas con el concurso de organismos vivos, lo cierto es que su desarrollo se produjo (y de forma explosiva) cuando se incorporaron técnicas de Ingeniería Genética (tecnología del ADN recombinante) al trabajo con microorganismos (procariotas y eucariotas). La Ingeniería Genética hizo de la Biotecnología una ciencia principal desde el punto de vista científico, y las aplicaciones comerciales han representado, después, una nueva **Revolución Biológica**. Este año, 2014, ha sido declarado por el Parlamento Español el Año de la Biotecnología.

La Biotecnología supone así, el uso de organismos vivos, o compuestos obtenidos a partir de aquellos, con valor directo o indirecto para el ser humano. Es un enfoque multidisciplinar compuesto por variedad de técnicas derivadas de la investigación en química, biología molecular y celular, microbiología,

Forma de mencionar este artículo: Ferri, E.F.R. 2014, Orígenes y desarrollo de la Biotecnología en León. AmbioCiencias, 12, 126-140. Revista de divulgación científica editada por la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad de León, ISBN: 1998-3021 (edición digital), 2147-8942 (edición impresa). Depósito legal: LE-903-07.

inmunología y otras disciplinas afines, que pueden ser utilizadas donde quiera que se utilicen microorganismos (bacterias, virus, hongos, protozoos, etc.) o células (vegetales o animales). La OCDE la define como '*la aplicación de principios científicos de la Química, Biología, Microbiología e Ingeniería, al procesamiento de materiales por agentes biológicos, para proveer bienes y servicios*'. El desarrollo más espectacular se produjo en la fabricación de nuevos medicamentos y vacunas y en la obtención de cultivos y animales modificados genéticamente, con el ánimo de producir alimentos (de origen vegetal y animal) para el consumo humano y animal.

Desde que se logró la síntesis biotecnológica de insulina en 1978 a partir de *Escherichia coli* por recombinación genética, se produjo una carrera por obtener nuevos productos. La lista de los disponibles hoy a partir de estos procedimientos es cada día más numerosa e incluye hormonas, proteínas útiles, antibióticos, antitumorales, antiparasitarios, anticuerpos monoclonales, etc. Se ha generado así, una pujante industria biotecnológica que representa ya un sector estratégico global. El último informe de ASEBIO (la asociación española de bioempresas) señala la existencia en España de un total de 3.070 empresas que realizan actividades relacionadas con la Biotecnología, de las que 102 tienen más de 250 empleados y 1.036 realizan actividades de I+D . El empleo total asciende a 202.976 empleados y la cifra de negocio supera los 80.000 M de euros. El número de personas en I+D en biotecnología asciende a 8.988. El 7% del total de empresas solicitaron 628 patentes biotecnológicas. En palabras de la Secretaria General de esta asociación, España es uno de los mercados biotecnológicos más activos de Europa y el impacto macroeconómico del sector asciende al 7,15% del PIB nacional (según el INE). En cualquier caso, existen numerosas empresas en todo el territorio nacional no incluidas en esta asociación.

En la actualidad, la Biotecnología, como la Informática, se ha diversificado tanto que se ha convertido en una herramienta imprescindible en innumerables campos científicos e industriales, lo que ha supuesto la necesidad de un sistema de clasificación de usos relacionado con sus características comunes o su utilidad final que confluyen en **cinco agrupaciones fundamentales**, que se identifican por un sistema de colores (<http://www.biotechspain.com>). La **Biotecnología Roja** agrupa los usos relacionados con la medicina (incluye antibióticos, vacunas, nuevos fármacos, técnicas y métodos moleculares relacionados con el diagnóstico, terapias regenerativas y tratamiento de enfermedades mediante manipulación genética).

La **Biotechnología Blanca** se ocupa de los procesos industriales incluyendo la utilización de bacterias y hongos para la producción de productos químicos o nuevos materiales de uso doméstico y biocombustibles. La **Biotechnología Gris** engloba las aplicaciones relacionadas con el medio ambiente, desde el mantenimiento de la biodiversidad a la eliminación de contaminantes, análisis genético de poblaciones y especies, por ejemplo en peligro de extinción, tecnologías de almacenamiento de genomas, etc. La **Biotechnología Verde** se ocupa de la Agricultura, sobre cultivo y clonación de plantas de interés, desarrollo de variedades resistentes a plagas o producción de fertilizantes y biopesticidas, etc. Finalmente, la **Biotechnología Azul** se ocupa de los recursos marinos para la generación de productos y aplicaciones de interés industrial, utilizables en alimentación, medicina, cosmética, agricultura, etc. Ha sido considerada como la de mayor proyección a medio plazo.

Los inicios de la Biotechnología en León

Puede considerarse que las boticas han sido el precedente remoto de las industrias químico-farmacéuticas en León. Está documentada la existencia de varias de ellas en el siglo XV en el entorno de la Plaza de Regla, y en el siglo XVIII se hace referencia a cinco boticas, que se elevan a nueve para el XIX, y a catorce en la primera mitad del siglo XX. Por otra parte, la fabricación de azúcar fue también motivo de desarrollo industrial en León desde que a mediados del siglo XVIII se descubriese la posibilidad de su obtención a partir de la remolacha, y a comienzos del siglo XIX se iniciase su producción industrial, especialmente favorecida por Napoleón Bonaparte, pero nos llevaría más espacio del disponible referir la contribución de ambos tipos de actividades a la creación del sustrato científico y empresarial sobre el que más adelante se asentaría el desarrollo biotecnológico de León.

Como precedente más inmediato de este desarrollo merece la pena reseñar una serie de empresas de índole químico-farmacéutica que contaban en León con una clara actividad industrial a mediados del siglo XX.

Laboratorios Abelló

El complejo construido en la calle de Astorga para la instalación de la Papelera Leonesa, fue vendido a la **Real Compañía Asturiana de Minas** en 1925 y, 8 años después, la fábrica fue comprada por la Sociedad **UQUESA (Unión Química Española, S.A.)**, que fabricaba éter, agua oxigenada y, también perborato, urotropina, y gluconatos, entre otros productos.

Por ese tiempo, Juan Abelló Pascual, un joven y afamado farmacéutico catalán, había fundado en 1925 en Madrid la fábrica de productos químicos y farmacéuticos Abelló, que daba trabajo a más de 30 técnicos y 600 obreros. En 1941 adquirió UQUESA, manteniendo la producción de agua oxigenada, además de incorporar otros productos como cloroformo, sulfatiazol, efedrina o ácido para-amino salicílico (PAS), que en su mayoría se trasladaban a la fábrica de Madrid para su elaboración y preparación para la venta. También obtenían alcaloides derivados del opio y del árbol de coca, con licencias para el tratamiento de estos alcaloides, incluyendo morfina, codeína, dionina, papaverina y cocaína, que ya se venían elaborando desde 1936. Además, mediante síntesis química, produjeron andrógenos y estrógenos como la testosterona y el sintestrol. En la segunda mitad del siglo XX Abelló adquirió prestigio en la elaboración de alérgenos con fines diagnósticos, y en los setenta se especializó en la producción masiva de granulados que incluían vitamina C y otras, además de antigripales.

Juan Abelló Pascual falleció en Madrid en 1983, pero ya desde los años setenta se puso al frente de la industria su hijo Juan Abelló Gallo, también farmacéutico. En 1976, con Mario Conde, como director general adjunto de la empresa y socio de la misma, procedieron a la venta de los laboratorios.

Laboratorios Syva

Según consta en la página web de la compañía, los orígenes de Syva se remontan a 1898, cuando, los hermanos Manuel, Juan y Julián Pablos García iniciaron la expansión de su empresa familiar de Fuentes de Béjar (Salamanca), dedicada a la venta de chacinas, aceite, pimentón y legumbres. A comienzos de 1900 se convirtieron en almacenistas, primero en León y después en Trobajo del Camino, ampliando su actividad a la venta de jabones. Como el negocio iba bien, decidieron establecer su propia industria a la que incorporaron un matadero anejo de cerdos, así como el procesado y elaboración de derivados cárnicos porcinos. Con el paso del tiempo, y como consecuencia del reparto del negocio familiar, la parte del mismo instalada en la provincia de León pasó a denominarse '**Juan Pablos y Cia**', constituyéndose en la Guerra Civil como '**Industrias y Almacenes Pablos**' (IAPSA).

Después de la guerra, Antonio Pablos, hijo de Julián, veterinario, decide la creación de una industria de productos biológicos para Veterinaria. Con ello además se daba solución al intervencionismo estatal que fijaba cupos insuficientes de suministros que cubrieran los gastos de la industria familiar, lo que permitía '*adquirir lotes de cerdos, recibir cupos de piensos para su*

alimentación y aprovechar sus canales y materias marginales para la jabonería' (Cordero del Campillo et al., 2011). Santos Ovejero fue nombrado director técnico, encargado de la producción biológica (sección de Bacteriología) y de las relaciones con la Administración Estatal. Ángel Sánchez Franco, conocido experto en la fabricación de suero antipeste, se incorporó en 1941. Nació así Laboratorios Syva (**'Serología y Vacunoterapia Antiinfecciosa'**, o **'Sueros y Vacunas para la Ganadería'**), que se dedicó desde el principio a la producción de preparados biológicos. Su construcción se inició en 1940 y la inauguración se produjo en 1941 con una inversión en maquinaria y equipos de 117.700 pts (**Fig. 1**). La plantilla inicial la integraban diez empleados, además de la dirección. En poco tiempo Syva ganó prestigio en el mercado nacional, particularmente en relación con algunos productos, de los que la estrella fue el suero antipeste porcina. En 1944, además de las especialidades de uso veterinario (sueros y vacunas), fabricaba productos zosanitarios para la desinfección y fermentos lácticos.

Laboratorios Syva, que inició su andadura industrial de la mano de prestigiosos profesionales de la Facultad de Veterinaria de León (Prof. Santos Ovejero del Agua, primer director técnico, catedrático de Microbiología e Inmunología) e industriales más tarde reconvertidos a la vida universitaria (Prof. Ángel Sánchez Franco, jefe de la sección de peste y más tarde director técnico, catedrático de Enfermedades Infecciosas), mantuvo ese vínculo a lo largo de toda su historia, en la que además de los anteriores figuran D. Marcelino Álvarez Martínez (profesor Adjunto de Zootecnia, y técnico de la sección de sueros), D. Miguel Cordero del Campillo (catedrático de Parasitología y Enfermedades Parasitarias, y técnico y asesor técnico) o D. Rafael González Álvarez (catedrático de Anatomía de la Facultad de Veterinaria de Madrid y asesor técnico), por citar solamente su primera etapa.

Lejos de limitarse a la producción de preparados contra las enfermedades infecciosas de los animales, Laboratorios Syva cultivó la comunicación científica, seguramente como consecuencia del sesgo académico de sus responsables técnicos. En su Boletín de Información Científica publicaron las plumas más significadas de la vida veterinaria.

En los años 60 firmaron contratos de colaboración y asistencia con industrias alemanas (Scheidemanldel –AGS-) y francesas (Établissement F. Ury et Cie –FVG-) que les permitieron, mediante licencia, iniciar la fabricación de polvos destinados a la alimentación animal y más tarde correctores para piensos compuestos y leche en polvo (Lechavit). En las décadas siguientes Laboratorios

Syva mantenía, con escasos cambios y adaptaciones, la estructura original de la compañía, que contaba con grandes establos donde se mantenía un importante número de caballos utilizados en la producción de sueros, y con las instalaciones del matadero anejo donde se faenaban bovino, ovino y sobre todo porcino. Los años 90 fueron decisivos, con una total remodelación de instalaciones y equipos con el fin de adaptarlos a la normativa europea de fabricación de medicamentos. Uno de los logros importantes de la compañía fue la implantación, en 1996, de las normas GMP (*Good Manufacturing Practices*), requisito para la exportación de sus productos, así como la fabricación para terceros. La expansión de la empresa ha estado dirigida por este logro, permitiendo en la actualidad su presencia en más de 50 países.

El 19 de septiembre de 2008 tuvo lugar la inauguración de la nueva planta de producción destinada en exclusiva a productos biológicos con una superficie de más de 11.000 m² en el Parque Tecnológico de León (**Fig. 1**). Con este motivo D. Luis Bascuñán, Director General de Syva hizo referencia al carácter pionero de la empresa y tuvo palabras de reconocimiento para los trabajadores que componen la plantilla, muchos de los cuales proceden de la Universidad leonesa, con la que Syva ha mantenido a lo largo de su historia fuertes lazos de unión. En la actualidad Syva construye, aneja, la instalación para la producción de antibióticos beta-lactámicos, con una superficie de 12.000 m², y un plazo de construcción de algo más de un año.

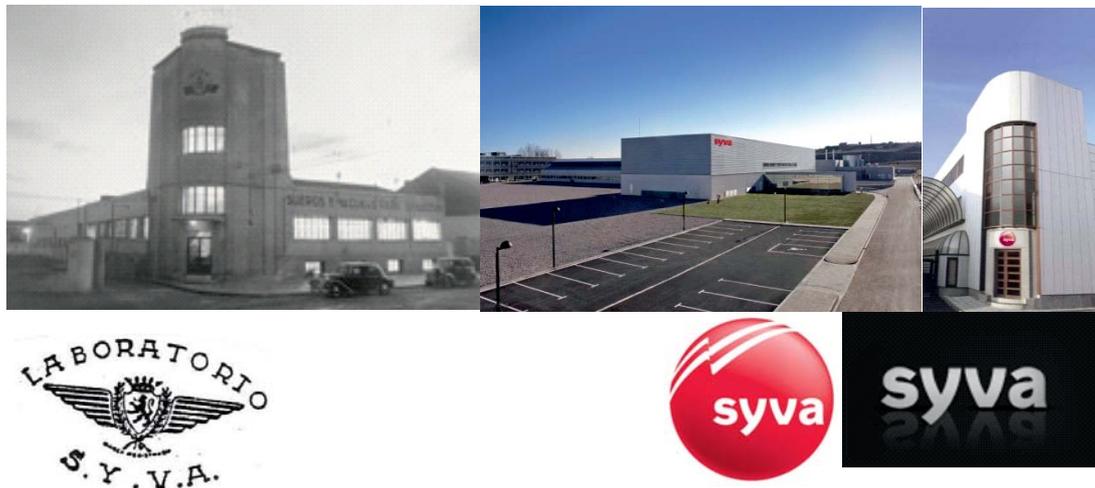


Figura 1. Tres etapas diferentes en la historia de Laboratorios Syva.

A lo largo de estos años, Laboratorios Syva ha logrado el reconocimiento del sector al que van dirigidos sus productos. Si en los primeros años fueron el

suero anti- peste y algunos otros productos, en las últimas décadas se han repetido también algunos éxitos sonados, como una vacuna atenuada contra el Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (PRRS) y otra contra la Lengua Azul del ganado ovino (y bovino).

Laboratorios Ovejero

La iniciativa de creación de Laboratorios Ovejero corresponde a su fundador y primer director, Prof. Santos Ovejero del Agua (Suárez Fernández et al. 2011), unos años después de la puesta en marcha de Laboratorios Syva, empresa de la que —como hemos indicado— fue su primer Director Técnico. Los orígenes de Laboratorios Ovejero residen en una sociedad cacereña denominada 'Vibahirmón', que en 1947 traspasó el accionariado a D. Hilario Villamar, uno de sus socios, quien en 1948 decidió su traslado a León. Dos semanas después de concedida la autorización, se produjo la solicitud de paso de la industria a D. Santos Ovejero, y la Delegación Provincial del Ministerio de Industria autorizó la concesión, firmándose la escritura fundacional como '*industria autorizada y registrada para la fabricación de medicamentos veterinarios, sueros y vacunas con destino a la ganadería*'. En dicha escritura, además de los hermanos Ovejero (Santos y Faustino) figuran otros veterinarios, como Francisco Robles y Marcelino Álvarez, y conocidos empresarios y profesionales leoneses.

La empresa arrancó con una plantilla de nueve trabajadores y se presentaba como '*una pequeña industria con maquinaria escasa y usada, que se reduce a dos autoclaves, tres estufas de cultivo, una centrifugadora, un galvanómetro, una balanza y material de laboratorio, que meses atrás habían llegado a León en 5 paquetes procedentes de Cáceres*' (www.labovejero.com).

Durante más de 50 años las instalaciones de Laboratorios Ovejero, modificadas en los años 60, estuvieron situadas en la calle Peregrinos, y en los años 70 ampliaron en Carbajal de la Legua una nueva fábrica (Industrial Comercial Veterinaria, S.A. –INCOVESA-) dedicada a la producción de correctores y aditivos para piensos, donde además se ubicaba una granja para la producción de vacunas aviares, y otras secciones (polvos, plásticos y almacén) (**Fig. 2**). Con el cambio de siglo se produjo su traslado a las nuevas instalaciones, de más de 20.000 m², en el Polígono industrial de Vilecha Oeste, donde se conjugan investigación y producción de productos farmacológicos y biológicos que se comercializan en más de 60 países.

El laboratorio opera bajo normas GMP y posee certificación de la Agencia

Española de Medicamentos y Productos Sanitarios para operar con Normas Correctas de Fabricación (NCF) establecidas por la UE y la OMS. Como señala su publicidad interna, Laboratorios Ovejero '*mantiene la apuesta por la investigación acentuándose en el sector de la Biotecnología para adecuar los productos a las más altas exigencias de seguridad y eficacia, además de consolidar el desarrollo en otros mercados internacionales, con apertura de filiales y nuevas plantas de fabricación*'. En este sentido, hace unos años, Laboratorios Ovejero adquirió Biowet Drwalew, una nueva planta de fabricación en Polonia, orientada al mercado de Europa del Este. Además poseen filiales en México, Uruguay, Perú, Argentina y Tailandia.

Como en otros casos, su catálogo integra productos biológicos, farmacológicos y zoonosanitarios. Los primeros, desde la época del Prof. Ovejero, han sido la columna vertebral de la empresa, con productos afamados como la vacuna de cristal violeta contra la peste porcina clásica o la del mal rojo, y más recientemente las vacunas contra la mixomatosis y la enfermedad hemorrágica vírica de los conejos.



Figura 2. Distintas etapas en la historia de Laboratorios Ovejero.

Antibióticos, S.A.

Se trata de la empresa más importante de León en el sector químico-farmacéutico a lo largo de la mayor parte del siglo pasado, que llegó a alcanzar cotas de líder mundial en el sector de producción de penicilina.

Los antibióticos son metabolitos secundarios que confieren una ventaja selectiva a los microorganismos productores sobre los microorganismos diana, susceptibles a ellos. Las penicilinas son productos caracterizados por la posesión de un núcleo central de ácido 6-aminopenicilánico (6-APA) formado por el anillo

-lactámico asociado a un segundo anillo tiazolidínico.

Después del descubrimiento de Fleming, los trabajos de Florey, Chain y Heatley en el NRRL (*Northern Regional Research Laboratory*) de Peoria (Illinois) se centraron en el aislamiento, purificación y producción industrial de grandes cantidades de penicilina. En agosto de 1941 se publicaron con detalle las condiciones ideales para la producción de penicilina de forma industrial. Las innovaciones más relevantes fueron el aislamiento y selección de nuevas cepas superproductoras y la optimización del proceso de fermentación, sustituyendo los cultivos en superficie por cultivos sumergidos, la utilización de líquido de maceración de maíz (*corn steep*) como fuente de nitrógeno y la incorporación de precursores de las cadenas laterales como el ácido fenil-acético, con mejoras tecnológicas en los sistemas de mezclado y aireación en los fermentadores.

Aunque la cepa inicialmente productora de penicilina descubierta por Fleming fue *Penicillium notatum*, las cepas de interés industrial pertenecen a la especie *P. chrysogenum*. Con el propósito de conseguir cepas con mayores rendimientos, se enviaron al NRRL durante la II Guerra Mundial muestras de tierra de todas las partes del mundo, obteniéndose así cepas más productoras, siendo el mayor éxito aquel obtenido a partir de la cepa aislada de un melón enmohecido procedente del mercado local de la misma localidad donde se ubicaban los Laboratorios. Esta cepa, conocida con las siglas NRRL-1951, era capaz de producir 60 μg de penicilina por ml (la cepa de Fleming, NRRL-1249, producía entre 2 y 3 g/ml de penicilina) y además crecía muy bien en cultivos sumergidos, sirviendo de base para la aplicación de programas industriales que han permitido conseguir variantes superproductoras, al menos de tres órdenes de magnitud superiores a la cepa de partida.

A partir de esta cepa, por mutagénesis al azar, utilizando procedimientos tanto físicos (rayos UVA y rayos X) como químicos (nitrosoguanidina, mostaza nitrogenada, etc.) para el tratamiento de las esporas del hongo y posterior selección se fueron obteniendo, a lo largo del tiempo, cepas y líneas que se caracterizaban por su mayor producción u otras características de interés. Por ejemplo la cepa conocida como Wis Q-176, capaz de producir hasta 1.000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de penicilina, fue obtenida en la Universidad de Wisconsin (EE.UU) mediante irradiación con rayos UVA.

La cepa Wis Q-176 fue adoptada por la mayor parte de los fabricantes de penicilina y es la primera (la original) de la línea conocida como Wisconsin en los diferentes programas de mejora. En el proceso no solo cuentan las condiciones de la propia cepa, sino también las que se refieren a la tecnología de producción y purificación. A partir de aquí, muchas compañías iniciaron sus propios programas de búsqueda de cepas superproductoras. Los mutantes

superproductores que utiliza la industria en la actualidad son capaces de alcanzar rendimientos de 50 mg/ml en fermentaciones industriales. Antibioticos, S.A., produjo las cepas AS-P-78, AS-P-99, A-37 y la cepa E1 a partir de la familia de cepas Wisconsin.

La estructura química de la penicilina se estableció entre 1942 y 1945 y el ácido 6-APA se detectó en fermentaciones a partir de 1957, siendo aislado y purificado un año más tarde, lo que representó el punto de partida para las penicilinas semisintéticas mediante la incorporación de diferentes cadenas laterales al núcleo. En 2008 se publicó el genoma de *P. chrysogenum*, un hecho relevante que aportó información sobre los procesos moleculares que dirigen la síntesis del antibiótico. En la actualidad se sabe que el incremento productivo es consecuencia de un delicado equilibrio entre diversas rutas metabólicas (García Estrada 2011).

El origen de la producción de antibióticos en España surge como una necesidad para el abastecimiento ante la demanda creciente de antibióticos después de la segunda Guerra Mundial, cuando se demostró la importancia de estas sustancias antimicrobianas en la práctica clínica, coincidiendo con el aislamiento político internacional de España. En aquellos años, solo dos laboratorios en nuestro país producían antibióticos —Laboratorios Leti-Uquifa, en Barcelona y el Instituto Ibys, en Madrid—, pero en cantidades claramente insuficientes para atender a las necesidades, lo que obligaba a la importación.

Ante tal situación, por Decreto de 8 de septiembre de 1948, se declaró de interés nacional la fabricación de antibióticos (penicilina y otros), y por Orden Ministerial de 28 de julio de 1949 se otorgaron licencias para su fabricación a la Compañía Española de Penicilina y Antibióticos (CEPA) y a la Industria Española de Antibióticos, S.A.

La Industria Española de Antibióticos, S.A. (Antibióticos, S.A.) fue el fruto de un consorcio formado por diversas empresas. El capital inicial fue de 40 millones de pts, y su primera obra fue la construcción de una planta en Madrid, destinada al envasado de penicilina y estreptomycin importadas.

En diciembre de 1949 se presentó el proyecto de la fábrica de León, en las inmediaciones de Armunia, en una extensión de 100.000 m² situada entre la carretera nacional León-Zamora y el entramado ferroviario de la entrada a la estación de León (**Fig. 3**). La primera fase de las obras concluyó en 1952 y las primeras fermentaciones, correspondientes a penicilina G, tuvieron lugar en 1953, siguiendo metodología bajo licencia de Shenley (Lawrenceburg, Indiana, EE.UU.), uno de los mayores fabricantes mundiales de antibióticos, ya incluida

por el gobierno americano en 1943 en el Primer Plan Nacional de Fabricación de Penicilina. Con ese propósito Shenley había firmado en 1948 un acuerdo con el consorcio de empresas españolas referido, en la misma línea de colaboración que ya mantenían con otras empresas europeas (Bayer), con la idea de compartir beneficios en los avances tecnológicos.

Antes de que la fábrica de León estuviese produciendo penicilina, la planta de Madrid envasaba y distribuía penicilina procaína (Aqucilina) y una mezcla de penicilina procaína y potásica (Aqucilina D.A.) procedentes de la empresa norteamericana, que representan algunos de los primeros productos de los que dispuso la Sanidad española, con muy buenos resultados, lo que permitió a Antibióticos, S.A. consolidarse en el mercado español en poco tiempo.

Ya en el primer año de producción, la planta produjo 500.000 dosis de penicilina y dos años después abastecía, con garantía, a la mayor parte del mercado nacional. Se ha escrito que los antibióticos que salían de la fábrica de León se situaban por calidad entre los mejores del mundo. Antibióticos, S.A. en ese tiempo, había adquirido patentes a Bristol Laboratories Ltd (Bedfordshire, UK), otro de los gigantes europeos del sector, al tiempo que la fábrica iba creciendo paso a paso, hasta contar con plantas de producción, incluyendo fermentación, filtración, extracción, síntesis y acabado estéril, laboratorios, planta piloto y un área de investigación y control.

La extraordinaria capacidad de producción de la empresa estuvo ligada a la calidad de sus investigadores, en particular José Luis Fernández Puente, Licenciado y Doctor en Biología, quien después de una larga estancia en los EEUU obtuvo mediante mutaciones inducidas una cepa de *Penicillium* superproductora de penicilina (cepa A-37) con la que se obtenían rendimientos extraordinarios. Este logro obligó a ampliar la infraestructura productora de la fábrica, para lo que fue necesaria la adquisición de seis enormes tanques de fermentación.

A finales de los años sesenta, Antibioticos S.A. inició un plan de ampliación de sus instalaciones que en los años ochenta consiguió elevar el volumen de fabricación hasta situar a la empresa entre las primeras a nivel internacional. Su capacidad de fermentación llegó a ser de 3.100 m³, lo que la convirtió en una de las principales industrias fermentadoras de Europa y una de las cuatro compañías que producían, entonces, el 75% de los intermediarios para la producción de antibióticos de todo el mercado mundial, con una capacidad de producción superior a los 2 millones de kg/año, lo que suponía el 10% del total mundial, en el caso de la penicilina. Dentro de España era la primera industria

del sector farmacéutico y la segunda del sector químico. Figuraba, además, entre las 50 empresas más importantes de España por su nivel de exportación. En su división de especialidades, producía anualmente 150 millones de cápsulas, 40 millones de viales, 30 millones de grageas, 22 millones de comprimidos y más de 100.000 kg de *sachets* para administración parenteral y otras formas orales. Después de la ampliación las cifras eran contundentes: *'consumo de 9.600 m³ de agua por hora, equivalente al consumo doméstico de una ciudad de un millón de habitantes; consumo de 75 Tm de fuel-oil, equivalente a 30 millones de kilocalorías por hora, para producir vapor de agua; capacidad de compresión de aire suficiente para 100.000 m³ de aire; consumo de 15,5 millones de frigorías por hora o consumo de 11 millones de kilovatios-hora mensuales, suficiente para el consumo doméstico y de alumbrado de una ciudad de 300 mil habitantes'*. La facturación de Antibióticos, S.A. en 1986 (en un 70% consecuencia de las exportaciones de forma directa a unos 50 países, e indirectamente a muchos más) llegó a los 28.000 millones de pts, con una plantilla de 900 trabajadores en León y 400 en la planta de envasado en Madrid.

Antibióticos, S.A. disponía 'del equipamiento y la experiencia necesarias para llevar a cabo la producción biotecnológica de nuevos antibióticos, enzimas, vitaminas, inmunosupresores, antifúngicos, así como el desarrollo de la fermentación, recuperación y los procesos de purificación correspondientes'. No resulta fácil encontrar en el mercado nacional —y aún internacional— de la industria químico-farmacéutica disponibilidades semejantes, lo que justificó su posición en la época de máximo esplendor.

A pesar de tan brillante historial, tras múltiples avatares (**Tabla 1**) y después de cuatro EREs, la empresa ha pasado por una fase de liquidación total.



Figura 3. Instantáneas de la fábrica de Antibióticos en distintas etapas de su historia.

El pasado 16 de septiembre, el juez titular del Juzgado de lo Mercantil de León autorizó la compra por parte de Black Toro Capital (BTC) de los activos de Antibióticos S.A, iniciándose así una nueva y esperanzadora etapa en la empresa.

La lista de productos disponibles, según se recoge todavía de la web de la compañía, incluye penicilina G, ácido 6-aminopenicilánico (6-APA), ampicilina trihidrato, amoxicilina trihidrato, cefalexina monohidrato y penicilina acilasa, entre otros.

Tabla 1. Cronología de acontecimientos principales en la historia de Antibióticos, S.A. de León (www.antibioticos.es).

Año	Hito
1947	Carta de Sir Alexander Fleming, a los pioneros de Antibióticos, SA
1954	Antibióticos S.A. se establece en España. Comienza la producción de penicilina.
1965	Comienza la fabricación de 6-APA vía química.
1969	Inicia la fabricación de ampicilina, amoxicilina y estériles betalactámicos.
1975	Comienza la fabricación del 7-ADCA vía química y cefalexina.
1981	Comienza la fabricación enzimática de 6-APA.
1987	Adquisición de Antibióticos, S.A. y la reorganización de los productos farmacéuticos a granel de Montedison. Actividades de los productos básicos en el recién creado Grupo de Antibióticos.
1992	La instalación de la nueva planta de Tratamiento de Aguas.
1998	Puesta en marcha del proceso enzimático para el 7-ADCA.
2003	Adquisición del grupo Antibióticos por Fidia Farmaceutici.
2006	Fabricación personalizada de inicio para el β -lactámicos y estériles β -lactámicos.
2009	Adquisición de Antibióticos S.A. por un grupo de empresas españolas (Enerthi España).
2014	En fase de liquidación. En reunión de 3 de julio, los trabajadores reclaman la intervención del Grupo Gadea para que se haga cargo de la fábrica.
2014	Adjudicación el 16 de septiembre de la compra de Antibióticos S.A. al fondo Black Toro Capital

DSM/Vitatene

Nació como la 'hermana pequeña' de Antibióticos, S.A., de la que surgió en 2004, especializada en la producción y comercialización de pigmentos carotenoides naturales, obtenidos por fermentación a partir del hongo *Blakeslea trispora*.

Los carotenoides, que son sintetizados de forma natural por bacterias fotosintéticas, algas y plantas, son fuente de vitamina A, y presentan propiedades y efectos fotoprotectores en enfermedades oculares y otro tipo de desórdenes. Además, el -caroteno posee muchas aplicaciones en el campo de la nutrición humana y animal.

En 2007 la planta, que posee una plantilla de alrededor de cuarenta trabajadores, fue adquirida por la multinacional holandesa DSM, que mantiene la línea de producción anterior basada en la producción de carotenoides naturales.

Instituto Biomar

José Luis Fernández, que hemos presentado anteriormente, era allá por los años 60 y 70 un afamado técnico de Antibióticos, S.A. Con ocasión de la creación en 1986 de PharmaMar, S.A., del grupo Zeltia, dedicada a '*explorar el universo marino en busca de tratamientos innovadores*', particularmente tratamientos oncológicos, se responsabilizó del Departamento de Microbiología. Pero diez años después (1996) decide la creación de una nueva empresa, Biomar, que se ubica en León con los mismos propósitos. Igual que sucedía con el Dr. Fernández, la mayor parte de los trabajadores que formaban parte de la empresa en el momento de su fundación habían sido antiguos técnicos y empleados de Antibióticos, S.A., sumando así la biotecnología y la exploración del mar en la búsqueda de principios activos con utilidades en el tratamiento del cáncer y otros procesos crónicos (**Tabla 2**).

Después de una primera etapa en la que un chalet familiar se transformó en fábrica, y la incubadora de empresas del CEEI (Centro Europeo de Empresas e Innovación) ubicada en las afueras de León, en Onzonilla, les diera acomodo durante más de una década —años en los que la plantilla llegó a alcanzar más de veinte empleados—, su trabajo se concentró en el aislamiento de microorganismos procedentes del mar con utilidades en oncología, a lo que se sumó a partir del cambio de siglo la búsqueda de biopesticidas. En 2009, finalmente, estrenaron nuevo edificio y localización en el Parque Tecnológico de León, con una plantilla más o menos estabilizada en torno a los 30-40 empleados (**Fig. 4**).

Tabla 2. Hitos históricos de Biomar. Información recogida de la compañía (www.biomarmicrobialtechnologies.com)

Año	Acontecimiento en la historia de Biomar
1996	BIOMAR surge como spin off de PharmaMar (Grupo Zeltia)
1997	Inicio de la bioprospección marina y de la colección marina AQUA
1998	Salud humana: orientación hacia la oftalmología. Colaboración con la ONCE
1999	Salud humana: Ampliación de áreas terapéuticas, antiinfecciosos y oncología
2000	Agricultura: Biopesticidas. Nuevo sector biotecnológico. Contrato de I+D con DuPont
2001	Comienzo de la producción de la planta piloto de fermentación
2003	Salud humana: Ampliación de áreas terapéuticas, antiangiogénicos y neuroprotección
2004	Primera colección industrial de microalgas en España
2005	Proyecto europeo MIRACLE: Aislamiento de microorganismos marinos no cultivables
2007	Identificación de microalgas para producción de biodiesel
2008	Alimentación: Aditivos alimentarios. Nuevo sector tecnológico
2009	Nuevo edificio en el Parque Tecnológico de León 2010: Incremento de la capacidad de fermentación y estándares de calidad hasta 3.000 L
2011	Primera aprobación EPA de un producto Biomar en USA, el herbicida Thaxtomin A
2012	Cosmética: presentación en Incosmetics de anti acné procedente de nuestra colección marina y en colaboración con Infitec
2014	Entrada de la sociedad en equilibrio financiero y en beneficios: Ampliación del contrato con Valent BioSciences Corporation para el descubrimiento y desarrollo de productos bio-rationales

Desde sus comienzos, Biomar investiga metabolitos secundarios de microorganismos aislados del mar, buscando aplicaciones en distintos sectores industriales. En la actualidad, bajo la dirección de Antonio Fernández, también biólogo e hijo de José Luis, la empresa cuenta con una colección de microorganismos que incluye más de 66.000 cepas de actinomicetos, hongos, y microalgas (incluyendo cianobacterias), colección que tiene su réplica en la de extractos procedentes de la extracción con una mezcla de disolventes orgánicos de los caldos de fermentación de estos microorganismos.

En la actualidad disponen de más de 1.700 compuestos químicos, de los que más de 800 están caracterizados molecularmente mediante espectrometría de masas y resonancia magnética nuclear. Muchos de los productos obtenidos poseen aplicaciones como biopesticidas, así como herbicidas, fungicidas e insecticidas para aplicaciones de tratamiento pre y post cosecha frente a pulgones y hongos fitopatógenos.

Otros campos de trabajo incluyen el de la cosmética, o la obtención de biodiesel a partir de microalgas con tasas de crecimiento elevado, capaces de acumular aceites. En el campo de la alimentación, Biomar trabaja a partir de residuos de empresas agroalimentarias, mediante biotransformación, reciclando productos originados en sus respectivos procesos de producción.

En cualquier caso, la idea de Biomar (en muchas ocasiones en colaboración con otras empresas e instituciones) surge, como se ha dicho, en el aislamiento de moléculas útiles en salud pública, de forma particular en el tratamiento de procesos cancerígenos y otras enfermedades crónicas (neurovegetativas e infecciosas). En este sentido, en situación de fase preclínica se incluyen antitumorales frente a glioblastoma y cáncer de páncreas y leucemia mieloide u otros de dianas inespecíficas; además de un producto frente a la enfermedad de Alzheimer (también en fase preclínica) o un antiangiogénico en desarrollo. Se suman también algunas otras sustancias como un antibacteriano específico frente a *Staphylococcus aureus*, además de otros productos frente al acné o la caspa.



Figura 4. Planta de Biomar en León.

León Pharma (Grupo Chemo) y Genhéliz

El grupo Chemo inició su actividad en Barcelona en el año 1977, dedicada a la compra-venta de materias primas para la industria farmacéutica, dando paso en los años siguientes al desarrollo y fabricación de APIs (principios activos farmacéuticos). En la actualidad, el Grupo se identifica con estudios y trabajos en todos los eslabones de la cadena industrial químico-farmacéutica; son

especialistas en investigación, desarrollo, fabricación y comercialización de principios activos, formas farmacéuticas terminadas y medicamentos de marca para el hombre y los animales. Su oferta incluye más de cien moléculas diferentes, de esteroides, hormonas, prostaglandinas, prazoles y antibióticos, además de formas farmacéuticas, y en distintas presentaciones. A través de la compañía Mabxience, especializada en Biotecnología, el Grupo Chemo centra su actividad en la investigación, desarrollo y fabricación de medicamentos biosimilares para diferentes áreas terapéuticas, incluyendo patologías severas. Fuera de España, en Argentina, también realiza actividades de I+D orientadas al desarrollo de productos biotecnológicos, en este caso en colaboración con PharmADN y Sinergiun Biotech.

Genhéliz, que se creó en 2006, se define, según consta en su web, como una empresa biotecnológica centrada en la obtención de productos biofarmacéuticos, mediante el uso de cultivos celulares bajo contrato de producción. Su catálogo incluye productos de alto valor añadido en el campo de los anticancerosos, cardiovascular o inmunológico sobre la base de la obtención de anticuerpos monoclonales mediante el desarrollo de hibridomas. Integra además terapias frente a enfermedades como el Alzheimer o la esclerosis múltiple.

Según noticias de prensa de finales de mayo, Mabxience ha adquirido la totalidad de Genhelix por un montante total de 10 millones de euros.

Grupo Gadea

El Grupo Farmacéutico Gadea S.L. está dedicado al desarrollo, fabricación y comercialización de APIs y formas farmacéuticas terminadas. En la actualidad está formado por cuatro empresas: Crystal Pharma, S.A.U., especializada en esteroides y otros productos de alta potencia, Cyndea Pharma, S.L., dedicada a la producción de genéricos —participada en un 50% por Cinfa y Gadea—, Hunan Norchem, Ltd., ubicada en la República Popular China, participada en un 67% por Gadea, y **Gadea Biopharma, S.L.U.**, dedicada inicialmente a la liofilización y envasado estéril de APIs y al desarrollo de procesos biotecnológicos para la bioconversión de materias primas de origen vegetal en precursores de esteroides (I+D).

Gadea Biopharma, que se ubica en el Parque Tecnológico de León, inició su actividad en enero de 2013, siendo hasta ahora la última incorporada en este polo biotecnológico. Centra sus actividades en la selección de microorganismos, desarrollando e industrializando diferentes procesos de fermentación para la

producción de APIs, principalmente precursores de esteroides, que después son utilizados por otra de las empresas del Grupo (Crystal Pharma S.A.U.) para la síntesis de diferentes tipos de esteroides comerciales. Además, produce APIs liofilizados, envasado estéril de viales para diferentes usos (jeringuillas precargadas, viales monodosis, etc.), incluyendo tratamientos hormonales, oftálmicos, tópicos, oncológicos, etc. También ofrece servicios de mejora de cepas y procesos de fermentación para otras empresas.

El Grupo Gadea se inició en 1991 con una empresa de consultoría (Raga Consultores), que en 1996 se transformó en el primer proyecto industrial, Crystal Pharma, a la que se fueron incorporando en los años siguientes las otras empresas en España (Valladolid, Ólvega y León), además de China y Malta. Crystal Pharma es una de las escasas compañías del mundo —y la única en España— dedicadas a la producción de corticosteroides, un sector en el que en los próximos años podría ocupar el tercer o cuarto puesto en el ranking mundial del sector. Las aplicaciones terapéuticas de sus principios activos derivan de sus propiedades antiinflamatorias (por ejemplo en el asma, rinitis, psoriasis, dermatitis o inflamación intestinal, entre otras) u hormonales (anticonceptivos, cáncer de mama, fibroma de útero y terapia hormonal sustitutiva). Según los noticiarios, el Grupo Gadea facturó 52 millones de euros en 2011, y las previsiones para 2015 ascendían a 120 millones, con una plantilla de alrededor de 350 trabajadores, principalmente en España. En la actualidad Gadea Biopharma, S.L.U. cuenta con una plantilla de alrededor de 30 empleados altamente cualificados.

Estructuralmente la fábrica de León comprende dos divisiones; la primera de ellas dedicada al desarrollo de productos farmacéuticos estériles (jeringuillas precargadas, viales y goteros oftálmicos) y la segunda dedicada a I+D (producción de precursores de esteroides que son utilizados por la planta de Valladolid para la síntesis del principio activo).

Laboratorios Calier

Laboratorios Calier es una industria químico-farmacéutica del Grupo Indukern, asentada en el polígono industrial de Barcelona, dedicada a la producción de medicamentos veterinarios. En 2003 se montó una sucursal en León, inicialmente mediante el alquiler de una planta de aproximadamente 500 m² en el edificio del CEEI (Centro Europeo de Empresas e Innovación) y más tarde (2014) mediante la adquisición total del edificio completo, en una parcela de 21.000 m². La planta se dedica en exclusiva a la producción de inmunológicos

con destino a la ganadería, en particular autovacunas para procesos infecciosos de los animales domésticos de origen bacteriano (bacterinas) o productos intermediarios para la fabricación de vacunas. La compañía matriz (Laboratorios Calier) que mantiene filiales en diez países, tiene una plantilla de más de 700 empleados y factura alrededor de 105 millones de euros anuales. En la planta de León trabaja en la actualidad una plantilla de 17 personas, incluyendo personal técnico y empleados.

Para completar el panorama biotecnológico actual, se podrían incluir también otras empresas que radican en León, entre ellas las industrias agroalimentarias con base biotecnológica, pero ello excedería las dimensiones de este artículo. Se puede consultar, por citar un ejemplo, la información correspondiente a Laboratorios Analíticos Agrovét S.L. que aparece en otro artículo de este mismo número.

La Universidad de León y su entorno

Hemos podido ver a lo largo de este relato que, de una u otra forma, las actividades universitarias presentes en León —inicialmente la Facultad de Veterinaria, y desde 1975 la Facultad de Biología—, han tenido una relación muy importante con el nacimiento y desarrollo de industrias de ámbito biotecnológico. Además de las contribuciones ya mencionadas de Santos Ovejero y Miguel Cordero, habría que señalar las de muchos otros profesores de la Facultad de Veterinaria, aunque tal vez sea Francisco Salto Maldonado, catedrático de Química, el más significado. Con él, otros profesores de aquella época se iniciaron en Antibióticos, S.A., como David Ordóñez Escudero, Eduardo Gallego, y algunos más que ejercieron igualmente responsabilidades docentes, como Prudencio Santos Borbujo e Ignacio Medarde, y más recientemente otros, como José María Luengo Rodríguez, catedrático de Bioquímica. En la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales las colaboraciones científicas entre la Universidad y las empresas de base biotecnológica cobraron gran intensidad especialmente a través del área de Microbiología, de la mano del catedrático Juan Francisco Martín, iniciador también de INBIOTEC (Instituto de Biotecnología de León), que en su primera etapa realizó con Antibióticos, S.A. y sobre antibióticos, la mayor parte de su actividad científica.

Esta orientación biotecnológica de una buena parte de las áreas de conocimiento relacionadas con las Ciencias de la Vida de la ULE propició la implantación de la Licenciatura en Biotecnología, cuyas directrices generales de sus planes de estudios se reconocieron en el Real Decreto 1285/2002 de 5 de

diciembre. Comenzó a impartirse en la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales en el curso 2004-05, y fue sustituida por el Grado en Biotecnología a partir del curso 2009-10. La de León fue una de las primeras universidades en ofertar una titulación universitaria de Biotecnología, y ello significó el reconocimiento público de los avances logrados a lo largo de las décadas anteriores en los campos científicos relacionados con la Biotecnología.

La implantación de la titulación de Biotecnología ha generado a su vez múltiples iniciativas, entre las que cabe destacar la Asociación de Biotecnólogos de León (ABLE), de la que da cuenta otro artículo en este mismo número.

Desde el nacimiento de la Universidad de León en 1979, la interrelación con la industria químico-farmacéutica y biotecnológica ha sido una constante. Departamentos e institutos de investigación de las Facultades de Veterinaria y Ciencias Biológicas y Ambientales y, en menor grado, la Escuela de Ingenieros Agrónomos, han desarrollado y lo siguen haciendo una actividad científica de calidad en los entornos que en algunos casos son aplicados a la actividad industrial. En otros casos, además, han generado *spin-off* que ubicadas en alguno de estos centros o departamentos, siguen apostando por un aspecto que contribuye a mantener una relación muy provechosa para ambos. En el conjunto de los 45 registros de patente con que cuenta la Universidad de León, el 20% corresponde a inventos o actividades que podrían encuadrarse en el campo de la Biotecnología.

Aunque la relación podría ser interminable, para tratar de establecer una relación sucinta y breve nos referiremos a una serie de Departamentos e Institutos que tienen alguna relación que justifica los párrafos anteriores.

Departamento de Sanidad Animal

Herederero de las antiguas cátedras de Microbiología e Inmunología, Enfermedades Infecciosas, Parasitología y Enfermedades Parasitarias y de Histología y Anatomía Patológica, de donde surgieron algunas de las iniciativas a las que ya nos hemos referido repetidamente, mantiene en la actualidad y como nexo de unión, el estudio de agentes de enfermedades animales producidas por microorganismos o parásitos, sustentados en financiación procedente de proyectos competitivos de múltiples orígenes, así como contratos, acuerdos y convenios con empresas. La aplicación industrial posible tiene que ver con el desarrollo de cuestiones de interés diagnóstico, preventivo o curativo.

Relacionado con algunos profesores de este Departamento y de otros (Biología Molecular) han surgido la *spin-off* denominada **Bioges-Starter** –de

la que se habla más detalladamente en otro artículo de este mismo número—dedicada a la producción de iniciadores para la industria alimentaria, y **Aquilón**, una *spin-off* de base tecnológica liderada por la consultora Janus Developments con la sociedad de capital riesgo Clave Mayor, a partir de tecnologías de la Universidad Autónoma de Barcelona y de la Universidad de León, que produce autovacunas y probióticos. Además, cabe señalar una nueva *spin-off* denominada **Micros Veterinaria**, que se define como un laboratorio de Anatomía Patológica Veterinaria, especializado en diagnóstico histológico, citológico y en la realización de necropsias.

Instituto de Sanidad Animal y Desarrollo Ganadero (INDEGSAL)

Como señala su página web, realiza estudios de sanidad y producción animal. Incluye líneas de trabajo sobre Biotecnología de la Reproducción Asistida dirigida a especies domésticas, como el ganado ovino y un numeroso tipo de especies silvestres de interés ecológico o cinegético.

Departamento de Ciencias Biomédicas. Instituto de Biomedicina

El Instituto de Biomedicina (IBIOMED) es un Instituto de la Universidad de León, reconocido por la Junta de Castilla y León en 2009, que investiga en áreas de conocimiento en las que *'la Biología y otras disciplinas relacionadas sirven de base para la resolución de problemas de salud del hombre, el conocimiento de su fisiología y el de su desarrollo normal y armónico'*. Entre sus fines atiende a *'la promoción de la investigación, particularmente aplicada, favoreciendo la creación de conocimiento mediante acciones de transferencia de resultados en materia de prevención, promoción, diagnóstico, tratamiento o rehabilitación de la salud humana'*. Está inscrito en el registro de Centros, Servicios y Establecimientos Sanitarios de Castilla y León, y en su catálogo ofrece *'estudios de cromatografía líquida, análisis del ciclo celular, cuantificación de apoptosis, estatus antioxidante, estudios genéticos, estudios diagnósticos anatomopatológicos, de actividad física y salud y de gestión sanitaria'*. Está formado por diez Unidades de Investigación (Inflamación, estrés oxidativo y antioxidantes; neurobiología; diferenciación celular y diseño de modelos celulares; seguridad y eficacia de medicamentos, inmunobiología; gastroenterología, hepatología y nutrigenómica; modelos animales en cirugía y radiología; valoración funcional y biomecánica, terapia celular en enfermedades osteoarticulares y ejercicio, salud y calidad de vida).

El Departamento de Ciencias Biomédicas incluye las áreas de

Fisiología, Farmacología, Salud Pública y Toxicología. La práctica totalidad de sus profesores e investigadores están vinculados al IBIOMED. Las líneas de investigación del área de Farmacología abarcan estudios experimentales de interacciones farmacocinéticas, farmacocinética clínica en animales domésticos o estudios de residuos de insecticidas organoclorados. Las que corresponden al área de Toxicología incluyen estudios de toxicidad en células animales, regulación transcripcional de sistemas de detoxificación y expresión de enzimas en fase I, y citotoxicidad mediada por radicales libres; en esta área, los estudios básicos y aplicados sobre *Leishmania* spp, han generado importantes aportaciones.

Departamento de Biología Molecular

El Departamento de Biología Molecular se asienta en cuatro áreas de conocimiento: Biología Celular, Bioquímica y Biología Molecular, Genética y Microbiología, que cuentan con una importante base de investigación biotecnológica.

Vinculado con el Departamento, el Instituto de Biología Molecular, Genómica y Proteómica de la Universidad de León, posee una excelente dotación de material y equipos, complementario al del Laboratorio de Técnicas Instrumentales de la Universidad de León.

Instituto de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Biodiversidad

El Grupo de Ingeniería Química y Ambiental-Bioprosesos, incluye líneas de investigación referidas a la producción de hidrogeno a partir de la fermentación biológica de residuos orgánicos o por electrolisis biocatalítica, la valorización energética de diversos residuos orgánicos mediante digestión anaerobia, eliminación de CO₂ mediante microalgas, efectos derivados de la aplicación de compost al suelo, aprovechamiento de residuos orgánicos mediante su utilización como fertilizante en cultivos energéticos y reducción de CO₂ mediante bacterias metanogénicas en lechos de carbón. El grupo, que posee numerosos contratos con empresas, tiene registradas dos patentes en relación con la obtención de hidrógeno y metano a partir de residuos orgánicos y la producción de sólidos con alta concentración de carbono a partir de biomásas mediante tratamiento termoquímico.

IGM (Instituto de Ganadería de Montaña)

Es un centro de titularidad mixta, CSIC-Universidad de León, creado

en mayo de 2008 con el fin de integrar grupos de investigación en el área de ganadería de rumiantes orientado a emprender proyectos de carácter multidisciplinar necesarios para resolver los problemas del desarrollo rural relacionados con la ganadería. (Se puede obtener una información más detallada de sus fines en otro artículo de este mismo número).

INBIOTEC

El Instituto de Biotecnología de León (INBIOTEC) (www.inbiotec.es) representa la aproximación no industrial que más y mejor se identifica con la idea de la Biotecnología en nuestra ciudad y provincia (**Fig. 5**). Surgido por iniciativa de la Universidad de León, la Diputación de León, el CSIC y la Junta de Castilla y León, fue registrado el 11 de marzo de 1991 con la finalidad de 'promover y desarrollar, sin ánimo de lucro, cuantas actividades de investigación, control de calidad o desarrollo tecnológico sean de interés para el perfeccionamiento de las empresas, entidades e instituciones asociadas y de la industria, vinculada a las actividades biotecnológicas'. Fue Juan Francisco Martín, catedrático de Microbiología, el primer director del mismo.

En Asamblea General Extraordinaria de 14 de diciembre de 2009 se acordó la fusión con la Asociación de Investigación INTOXCAL, Instituto de Toxicología de Castilla y León, creada con la finalidad de llevar a cabo actividades de investigación, control de calidad o desarrollo científico en el campo de la Toxicología, de interés para el perfeccionamiento de las empresas, entidades e instituciones asociadas y de la industria, vinculadas con las actividades relacionadas con la Toxicología, que quedó integrada por absorción.



Figura 5. Edificio del Instituto de Biotecnología de León (INBIOTEC) en el Parque Científico.

En los Estatutos de Inbiotec se definen las siguientes actividades por las que esta Asociación-Instituto persigue sus fines antes señalados. En primer lugar, el fomento y desarrollo de actividades de investigación en las áreas científicas y tecnológicas que configuran su marco de actuación, como *'el*

aislamiento de microorganismos para aplicaciones médicas, veterinarias y farmacéuticas; la mejora genética y alteración de microorganismos de interés industrial; la mejora genética de cultivos vegetales; la mejora de razas ganaderas mediante técnicas genéticas; procesos de mejora del medio ambiente mediante sistemas biotecnológicos; procesos de biominería; desarrollo de inoculantes o iniciadores para la obtención de nuevos productos lácteos y el desarrollo de procesos industriales para la obtención de productos biológicos, etc. Además de ello, el desarrollo de investigaciones aplicadas, desarrollos y proyectos para la industria, orientados a la mejora de métodos, sistemas y productos en las áreas relacionadas con la biotecnología'.

En el campo de la Toxicología se enumeran otras actividades, como *'garantizar que la carne fresca y los productos derivados que se elaboren y comercialicen en Castilla y León no contengan residuos de sustancias que tengan acción farmacológica, así como otras sustancias que puedan permanecer en los alimentos que supongan un riesgo para la Salud Pública; evaluar la significación toxicológica de nuevas moléculas para el establecimiento de umbrales permisibles compatibles con la Salud Pública; aplicar los test de ecotoxicidad para la evaluación continua de moléculas con potencial tóxico en el entorno; desarrollar investigaciones aplicadas, desarrollos y proyectos para la industria, orientados a la mejora de métodos, sistemas y productos en las áreas relacionadas con la Toxicología'.*

En la actualidad, INBIOTEC está formado por diez socios industriales y tres institucionales y es un Centro Tecnológico de la Red de Centros Tecnológicos de Castilla y León. Centra la actividad en cinco áreas de investigación: Biofarmacia y Biomedicina, Agroalimentaria, Energía y Medio Ambiente, Procesos Industriales y Bioinformática. Además de ello, ofrece Servicios de Proteómica, Genómica, Transcriptómica y Análisis de Ácidos Nucléicos, Análisis Químicos y Toxicológicos, entre otros, que operan bajo la norma ISO 9001:2008 y ofrecen apoyo a grupos de investigación y a laboratorios de análisis y ensayos.

El área de Biofarmacia mantiene la esencia de sus comienzos en el entorno de la producción de antibióticos, especialmente penicilinas y cefalosporinas. Se llevan a cabo estudios de mejora de cepas y desarrollo de métodos alternativos en la producción de metabolitos secundarios con valor añadido.

El área Agroalimentaria centra su actividad en la obtención de productos de alto valor añadido a partir de materias primas y subproductos

industriales, en la mejora de procesos y productos y en el desarrollo de sistemas de diagnóstico y control en Seguridad Alimentaria. Desarrolla análisis genéticos aplicados a la identificación y caracterización de productos y transcriptómica en estudios de nutrigenómica.

INBIOTEC dispone de un Servicio de Planta Piloto con capacidad de fermentación a nivel semi-industrial mediante fermentadores de diferentes capacidades (hasta 300 L).

INBIOTEC acredita el desarrollo de Proyectos Europeos de los diferentes Programas Marco (11 proyectos financiados hasta la fecha), todos ellos en colaboración con diferentes empresas en consorcio, de Castilla y León, del resto del Estado y de otros Estados miembros de la UE. En el mismo sentido son ya más de 60 proyectos financiados a nivel nacional en los Programas Nacionales de I+D y más de 20 en proyectos financiados por la Comunidad Autónoma. El panorama se completa con 15 patentes, inscritas por diferentes empresas, sobre diferentes aspectos de interés industrial surgidos de las investigaciones llevadas a cabo en el curso de proyectos. La actividad de los investigadores de INBIOTEC se traduce en la dirección de tesis doctorales y la publicación de artículos en revistas muy calificadas por índice de impacto. En la web del Instituto puede consultarse una relación de más de 330 artículos desde 1987, con una media de más de 12 publicaciones por año.

Bibliografía

- Cordero del Campillo, M. Ángel N. Sánchez Franco. En *Semblanzas Veterinarias*. Consejo General de Colegios Veterinarios de España. Madrid, 2011, 269-277.
- García Estrada, C. 2011. *Bases Moleculares de la Producción de Antibióticos Beta-Lactámicos*. E-book. Real Academia de Ciencias Veterinarias y Fundación Tomás Pascual Sanz.
- Suárez Fernández, G. y E.F. Rodríguez Ferri. Santos Ovejero del Agua (1906-1983). *Semblanzas Veterinarias*. Tomo III. Pág. 183-216. Consejo General de Colegios Veterinarios de España. Madrid, 2011.



Elías F. Rodríguez Ferri es, en la actualidad, Catedrático del Área de Sanidad Animal de la Universidad de León, bajo el perfil de Microbiología e Inmunología, especialidad en la que con anterioridad fue Prof. Adjunto, Agregado y Catedrático en la Universidad Complutense de Madrid (Facultad de Veterinaria). En la Universidad de Oviedo, después de realizada su Tesis Doctoral bajo la dirección del Dr. Suárez, impartió docencia en Microbiología y Microbiología Industrial en la entonces Sección de Biología de León de la Facultad de Ciencias y en la Facultad de Veterinaria. En la Universidad de León, a la que se incorporó en 1986, se ha vinculado a las titulaciones de Veterinaria, Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Ciencias Biológicas y Biotecnología, además de participar en Masters de la propia Facultad de Veterinaria y de Ciencias del Trabajo (Riesgos Laborales. Riesgos Biológicos). En la Facultad

de Veterinaria ha sido director del Departamento de Sanidad Animal y Decano y en la actualidad es Director Gerente de INBIOTEC. Ha trabajado en Microbiología de Alimentos y desde hace más de 25 años trabaja sobre factores de virulencia de microorganismos patógenos para el cerdo y las aves y sus aplicaciones diagnósticas y vacunales. Ha publicado más de 250 artículos, incluyendo varios libros, capítulos de libros y monografías, además de 90 artículos en revistas internacionales. Pertenece o ha pertenecido a Comisiones Científicas Asesoras de los Ministerios de Sanidad, Agricultura, Ciencia y Tecnología y Educación y Ciencia, además de otras pertenecientes a la Comunidad Autónoma de Castilla y León. Ha dirigido 16 Tesis Doctorales y es coautor de 3 patentes (una en curso de registro). Pertenece, por oposición, al Cuerpo Nacional del Ministerio de Agricultura, desde 1974 (en la actualidad excedente voluntario)

AMBIÓLOGOS DE AQUÍ

Bruno Díez, de oficio biotecnólogo

Bruno Díez

Si tuviera que encontrar las razones que me llevaron a elegir los estudios de biología probablemente tendría que remontarme a esa confusa época en que cualquier estudiante se enfrenta a la decisión de elegir carrera acabada la selectividad. Uno llega hasta ese punto sin haber tenido que enfrentarse a decisiones demasiado trascendentes para su futuro y quizá ésta es la primera. Para mí la opción de Ciencias Biológicas vino de la mano de la positiva experiencia con las asignaturas de Ciencias Naturales durante el Bachillerato en el colegio de La Salle en San Sebastián. Además, la carrera de Biología se impartía en la recién creada Universidad de León, ciudad donde tenía familia por parte de madre y por ello alojamiento, lo cual resultaba un punto a favor frente a las alternativas de Bilbao y Madrid. Además, al tratarse de una Universidad joven se le presuponía un mayor ímpetu y motivación del profesorado; la Universidad de León se acababa de “segregar” de la Universidad de Oviedo en ese mismo año de mi llegada (1980). Cuando empezaron las clases del primer curso, me encontré con que la Facultad no tenía edificio propio y teníamos que movernos a diferentes edificios para las clases de teoría y las prácticas de las asignaturas. Nuestras clases se impartían en las Facultades de Veterinaria, Empresariales y Minas. Cuando estaba en segundo curso comenzó la construcción del edificio de Biológicas en el recién creado Campus Universitario de Vegazana.

Selección de especialidad: la bata o la bota

Desde los primeros cursos de la carrera tenía claro que me interesaban las disciplinas más experimentales. Pero mi vocación por la microbiología industrial la descubrí en tercer curso de carrera, cursando esta asignatura con el profesor Juan Francisco Martín, y muy específicamente en la visita que hicimos a la fábrica de Antibióticos S. A. en León. Aparte de la biología siempre me han interesado los temas relacionados con la tecnología en general: la mecánica, los motores, la electricidad y los sistemas de control automatizados. Al ver aquellos inmensos fermentadores industriales rugiendo en el proceso de producción de penicilina encontré la integración perfecta de mis intereses biológicos y

Forma de mencionar este artículo: Díez, B. 2014, Bruno Díez, de oficio biotecnólogo AmbioCiencias, 12, 152-157. Revista de divulgación científica editada por la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad de León, ISBN: 1998-3021 (edición digital), 2147-8942 (edición impresa). Depósito legal: LE-903-07.

tecnológicos; este área que se bautizó como biotecnología, abarcaba aspectos muy amplios del aprovechamiento de ciertos seres vivos por la sociedad. El aprovechamiento de los seres vivos (microorganismos, plantas y animales superiores) en procesos biotecnológicos se realizó inicialmente en sectores agrícolas y alimentarios pero durante el siglo pasado se extendió a otros sectores industriales, como las aplicaciones farmacéuticas, en las que los procesos químicos han sido reemplazados por otros biológicos que han resultado más rápidos, limpios y económicos. Con el objetivo de llegar a manejar procesos de producción de metabolitos por fermentación me incorporé como alumno interno al Área de Microbiología de la Facultad de Biología, que en aquella época desarrollaba proyectos de colaboración con Antibióticos S.A. para la investigación de las rutas bioquímicas de producción de distintos antibióticos de interés industrial. Durante los años 80 se inició y fomentó a nivel global la disciplina denominada ingeniería genética, y tanto en las asignaturas del Área de Genética como en las de Microbiología tuvimos oportunidad de formarnos de forma profunda en este campo. Recuerdo con especial agrado el paralelismo de asignaturas de genética microbiana y de eucariotas impartidas por las dos Áreas, así como los apartados de bioquímica y fisiología bacterianas de Microbiología frente a los de células superiores impartidas por el Área de Bioquímica. Las contribuciones de los departamentos de Microbiología, Genética y Bioquímica nos aportaron una visión de biología fundamental comparada entre reinos biológicos que antes de ser redundante ha constituido una estupenda base de conocimientos para la posterior aplicación profesional en distintas áreas de la extensa biotecnología.

Doctorado

La realización del doctorado en el Área de Microbiología fue una magnífica formación y experiencia para lograr un desarrollo profesional en el campo de la microbiología industrial. Siendo éste un Área muy bien dotada de recursos materiales y con un profesorado y muchos de sus alumnos de proyección internacional, no fue difícil desarrollar trabajos fructíferos e interesantes. Además, muchos de los proyectos de investigación estaban financiados por empresas, aportando a los estudiantes contacto y experiencia en este mundo más aplicado. Recuerdo como especialmente interesante la participación en proyectos de colaboración con la compañía farmacéutica holandesa “Gist-Brocades”, actualmente DSM, y la magnífica colaboración con sus científicos así como las visitas y reuniones en sus instalaciones en Delft. Al finalizar mi Tesis Doctoral sobre caracterización de los genes de biosíntesis de penicilina en el hongo *Penicillium*, era de suponer que el camino para entrar a

trabajar en Antibióticos S. A. (León) estaba allanado.

Antibióticos S.A.

La oportunidad en Antibióticos surgió tras la incorporación de mi compañero y colega de Tesis José Luis Barredo, pilar fundamental en el grupo de los “penicilinos” que es como nos llamaban los demás estudiantes del Área. Con su incorporación y la mía posteriormente iniciamos la andadura del “Departamento de Ingeniería Genética” de la empresa, que hasta entonces había realizado la mejora de la productividad de sus microorganismos industriales por técnicas de mutagénesis clásica seguidas de selección. Tengo que decir que a pesar de toda nuestra experiencia en la genética de la producción de penicilina, en los doce años que estuve en la empresa no conseguimos una sola mejora por ingeniería genética de sus cepas de *Penicillium*. Sin embargo conseguimos multiplicar miles de veces la actividad de las cepas de *Escherichia coli* productoras de la enzima “penicilina acilasa”, importantes incrementos de producción de cefalosporina cuya producción en aquel tiempo se realizaba en la fábrica italiana Antibióticos SpA del grupo Montedison que había comprado Antibióticos S.A. en la operación estelar de Mario Conde. Igualmente conseguimos mejoras en la producción de “D-aminoácido oxidasa” en levaduras, pero aunque la penicilina se resistía sí que averiguamos mucho de las razones que dificultaban la mejora. Antes de llegar nosotros, las cepas de penicilina llevaban ya 50 años de mejora clásica (mutación y selección) y disponían de elevado número de copias de los genes para biosíntesis de penicilina. Era sabido que estas cepas poseían un genoma complejo, con muchos cromosomas duplicados o triplicados que dificultaban las técnicas normales de manipulación genética. La interrupción de genes identificados como perjudiciales para la producción de antibiótico (tras largos años de intentos), estaba ya en la filogenia desde las primeras cepas de producción americanas que reemplazaron a la de Fleming en los años 40.

Figura 1. Equipo del laboratorio de Ingeniería Genética de Antibióticos S. A. a mediados de los años 1990; de pie: Encarna Mellado (izqda), Mayte García, Marta Rodríguez, Mila Sandoval y Pili Merino; abajo: Roberto Fouces (izqda), José Luis Barredo, Bruno Díez y José Ángel González.



En resumen, se hicieron muchos descubrimientos interesantes para explicar la alta productividad de las cepas pero únicamente se lograron mejoras por mutagénesis clásica al azar. Por supuesto este periodo fue una oportunidad para acercarme a los fermentadores de la planta piloto y aprender los procesos y las instalaciones industriales de ese Departamento. Tuve oportunidad de evaluar la implantación de cepas formadoras de “pellets” (partículas) en lugar del habitual crecimiento filamentosos que incrementaba la viscosidad, reduciendo de esta forma la transferencia de oxígeno y la productividad. Con todo este bagaje de experiencia surgió una nueva oportunidad de trabajo como responsable de fermentación en una fábrica de cefalosporinas en Murcia (Bioferma Murcia S.A.), puesto que acepté para asumir nuevos retos en un momento en el que el salto a la producción era lógico y atractivo.

Bioferma Murcia S.A.

Bioferma fue para mí el auténtico Máster. Si en Antibióticos aprendí mucho de genética, fisiología y fermentación microbiana, en Bioferma fue la locura. Había que construir y arrancar la fábrica desde los cimientos en dos años y yo era el responsable del área de fermentación. Si en Antibióticos había tenido escasas oportunidades de visitar los fermentadores industriales, en Bioferma estaba a cargo de la instalación y operación de seis fermentadores de 125 m³. Afortunadamente contaba con importante apoyo de consultores expertos ya que mi formación no alcanzaba para todas las necesidades, pero la oportunidad de aprender fue monumental. Recuerdo mi disfrute manejando planos de proceso, de construcción, el montaje e instalación de los seis fermentadores industriales que llegaron por barco desde Italia al puerto de Cartagena. La primera tarea fue la puesta a punto del proceso industrial adquirido a escala piloto. Cuando comencé como encargado de la planta piloto el proceso del diseño industrial iba por un lado y los desarrollos piloto por otro. Recuerdo la utilidad de una hoja Excel que diseñamos para hacer casar ambos procedimientos bajo las restricciones de diseño de la planta industrial en construcción. Recuerdo el olor a soldadura bajo aquel sol de Murcia, la locura de la puesta en marcha, los días sin noches revisando planos de tuberías. El área de fermentación arrancó de forma aceptable y enseguida se alcanzaron productividades razonables pero fallaron otras áreas de proceso, especialmente en el proceso de la purificación del producto para llegar a cumplir la especificación comercial. A lo indicado anteriormente se juntó una caída importante del precio del producto en los mercados internacionales por inicio de actividad de muchos productores asiáticos, una fuerte apreciación del euro frente al dólar que impactaba el diferencial entre gastos en euros e ingresos en dólares; y la depuradora. Por

recortes del proyecto de construcción, ésta no tenía suficiente capacidad para que la planta funcionara a máxima capacidad. Y a la capacidad que la depuradora admitía, la planta perdía dinero escandalosamente. Al final llegó la suspensión de pagos y se acabó todo. Cinco años de locura pero con un Máster insuperable de formación en: fermentación, procesos de purificación industrial, catálisis enzimática, cristalización del producto, calidad, ventas, todas las áreas administrativas; y un sinfín de colegas y amigos que de una forma o de otra ahí siguen ejerciendo profesionalmente mucho de lo que aprendimos en Bioferma. Al cerrarse la planta tuve la oportunidad de trabajar como consultor para uno de nuestros principales clientes, un antiguo socio de Antibióticos, la farmacéutica china “Qilu Pharmaceutical”.

Qilu Pharmaceutical

“Qilu” fue la oportunidad para llenar el hueco laboral hasta conseguir otro trabajo en España, aprendiendo de las formas de hacer de nuestros queridos competidores asiáticos. Desde occidente los vemos tan lejanos que casi pensamos que no existen, pero SI existen, y vaya si lo hacen; su pragmatismo, su disciplina, así como su capacidad de trabajo superan con creces los nuestros. Hacen lo estrictamente necesario y lo hacen rápido; sin florituras y sin pérdida de tiempo. Tenemos el tópico de que no son creativos y nosotros sí, pero eso se debe a milenios de disciplina severa cuando se saltaban las normas, y aun así están aprendiendo a innovar. Cuando estuve en el año 2006 sus plantas productoras de antibióticos eran ya eficientes, todavía poco automatizadas, con el campo de la prevención de riesgos laborales por los suelos, y sus capacidades tecnológicas limitadas. Recuerdo enseñarles protocolos de mejora genética de sus microorganismos, mejora de sus rendimientos de fermentación, procesos enzimáticos en los que estaban muy interesados para reemplazar a los procesos químicos. Apenas conocían el programa Excel ni el uso de los gráficos para analizar y optimizar los procesos. Manejaban tablas de datos imposibles con enormes matrices de números, y por supuesto en chino. Turnos de doce horas, trabajo los sábados en jornada completa y también muchos domingos. Después de unos meses allí volví convencido que nuestros beneficios laborales tenían por fuerza que disminuir, por la simple ley de vasos comunicantes.

Biópolis

En la primavera de 2007 me incorporé a Biópolis S.L. una empresa (“spin-off”) del “CSIC” de Valencia liderada por Daniel Ramón, ilustre microbiólogo industrial y alimentario, buen científico y mejor persona; Daniel en su tiempo también pasó por Antibióticos S.A. y participó en la clonación de genes de

cefalosporina. Daniel me dio una estupenda oportunidad de unirme a su joven y despierto equipo y fue nuevamente otra oportunidad para continuar aprendiendo cosas nuevas. Me pusieron a cargo del Departamento de producción, pero Biópolis no tenía por entonces producción propia, aunque sí desarrollaba procesos para clientes. Recuerdo esas aromáticas producciones de crema de levadura para una importante bodega Irlandesa. El producto principal de Biópolis era prestar servicios de investigación a empresas, tanto del sector alimentario (que fue su germen), como farmacéutico o de la industria química. La diversidad de proyectos en Biópolis era enorme y los proyectos a menudo eran rápidos y cambiantes. Su éxito proviene probablemente de la humildad con que asumen los proyectos sin rechazar ninguno, resolviéndolos con eficacia y profesionalidad. Gracias a esta labor cuentan con clientes de talla internacional y se mantienen en un sector tremendamente difícil como es la I+D industrial a pesar de la crisis.

Abengoa, por fin

En el año 2008 estando de lleno implicado en los proyectos de Biópolis y en la construcción de su planta de producción, y encantado de residir en una ciudad tan magnífica como Valencia, recibí una interesante oferta por parte de Abengoa Bioenergía. Necesitaban a alguien con experiencia en microbiología industrial y fermentación para liderar un proyecto de producción de enzimas; el proyecto era muy tentador, pero una nueva mudanza (a Sevilla) se hacía cuesta arriba. Finalmente, en un entorno de incertidumbre por la crisis económica me pareció que el sector de los biocarburantes sostenibles en una empresa como Abengoa era una apuesta de futuro y me incorporé sin dudarlo; de esta forma me cambié al sector de la energía pero sin dejar la genética de hongos ni la fermentación industrial. Llevamos ya seis años peleándonos con unas enzimas especiales: las celulasas. Hemos conseguido disponer de un hongo que tiene niveles de productividad y calidad de un cóctel enzimático (basado en celulasas) capaz de competir con los actuales líderes del mercado. Además del trabajo a nivel de investigación bioquímica y genética para la mejora del organismo, el grupo ha desarrollado la producción industrial de la enzima que suministra celulasas a la primera planta de etanol celulósico de Abengoa en Estados Unidos. Para el futuro se plantea un abanico de sustratos ligno-celulósicos y otro abanico de productos de química sostenible, más allá de los biocarburantes. Viendo mi carrera profesional en perspectiva las claves han estado basadas en la especialización en el campo de la fermentación industrial; esto me ha facilitado el encontrar puestos de trabajo en distintas empresas con proyectos muy interesantes y motivadores. Los retos no se acaban.

DE TODO UN POCO

Congreso Anual de Biotecnólogos 2014 (BAC 2014)

El pasado 9 de Julio, comenzaba el Congreso Anual de Biotecnólogos, popularmente conocido como BAC (de Biotech Annual Congress), en Barcelona (**Fig. 1**).

En esta octava edición, organizada por FECBiotec (Federación Española de Biotecnólogos) y ABSTEC (Asociación de Biotecnólogos de Cataluña), el congreso contó con científicos de gran prestigio como el Dr. Werner Arber Premio Nobel de Medicina o Fisiología en 1978, el Dr. Jean Weissenbach, Premio Príncipe de Asturias de Investigación en 2001 y la Dra. María Blasco, Premio Rey Jaume I a la Investigación Básica 2007 y directora del CNIO.

Los asistentes disfrutaron de ponencias de incuestionable calidad científica que abarcaron los innumerables campos de la biotecnología, desde la financiación de una empresa biotecnológica, hasta los últimos avances en nanotecnología, bioinformática e ingeniería genética.

También pudieron visitar empresas de ámbito biotecnológico en Barcelona y museos como el Cosmocaixa, lugar que acogió el congreso, realizar cursos de formación o participar en los actos sociales y así conocer la ciudad de Barcelona.

Esta edición además coincidía con el año de la biotecnología, por lo que hubo un elevado número de participantes.

Sin duda, el BAC es un punto de encuentro para los biotecnólogos. Tres días de jornadas científicas en las que además de tener la oportunidad de aprender a cerca de aspectos punteros en investigación, se forjan amistades entre los diversos estudiantes de biotecnología, de orígenes diferentes pero con un posible futuro en común.



Figura 1. Estudiantes de biotecnología de León que participaron en el Congreso Anual de Biotecnología en Barcelona el pasado Julio. Imagen cortesía de la Asociación de Biotecnólogos de León (ABLE).

Noticias de actualidad

Conferencias y otras actividades relacionadas con la biotecnología

La Facultad de CC. Biológicas y Ambientales (FCCBA) ha colaborado en la organización de varias actividades relacionadas con El Año de la Biotecnología en España, y promovidas, algunas de ellas por la Asociación de Biotecnólogos de León (ABLE). Una fue el proyecto de divulgación científica *Biotechnofarm 2014: Sembrando los biotecnólogos del futuro*, diseñado con la intención de acercar la Biotecnología a alumnos de 4º de la ESO y 1º de Bachillerato, dentro de Castilla y León. Desde el 14 de febrero hasta el 12 de marzo, más de 300 alumnos de 12 institutos de León capital y otros lugares de la provincia (Toreno, Bembibre y La Bañeza) participaron en esta iniciativa. En la organización del proyecto participaron la Federación Española de Biotecnólogos (FEBiotec), ABLE y fue financiado por la Fundación Amgen y la Fundación Rey Balduino de los EEUU. En esta edición se incluyeron visitas a nuestra Facultad y la realización de experimentos sencillos, como el proceso de extracción de ADN o la resolución de un crimen ficticio localizando la huella genética del asesino.

ABLE también organizó, en cinco viernes de los meses de marzo y abril, la III edición de las *Jornadas Conciencia*, celebradas en el Museo de León y en el que participaron los siguientes ponentes con las conferencias indicadas: José María Medina Jiménez (“La captación del beta-amiloide por la albúmina sérica: Una esperanza en el tratamiento de la enfermedad Alzheimer”), Margarita Marqués (“Biotecnología: ¡Vaya tomate!”), Rogelio González Sarmiento (“Bases moleculares de la predisposición al cáncer. El cáncer hereditario”), Elías Fernando Rodríguez Ferri (“El fascinante mundo de las vacunas. Avances”) y José Miguel Mulet (“Agricultura del futuro, ¿ecológica o biotecnológica?”).

De gran relevancia se puede considerar la *Semana Nacional de la Biotecnología León – Madrid 2014*, organizada por ABLE y la Asociación de Biotecnólogos de Madrid (AsBioMad), con el apoyo de FEBiotec. Algunas de las actividades celebradas durante los días 8 al 14 de noviembre tuvieron lugar en nuestra Facultad, como el CineFórum: “El cine y la biotecnología, una relación de película”, los monólogos científicos: “Si tú me dices gen, lo dejo todo” (a cargo de The Big Van Theory (Científicos sobre ruedas)) o la obra de teatro “La historia de la Biotecnología Vegetal tal y como la hubiera contado Charles Dickens” (interpretada por alumnos de 3º de Biotecnología y sus profesoras M^a Luz Centeno Martín y Penélope García Angulo).

Otras conferencias en relación con temas biotecnológicos fueron las organizadas por el profesor Arsenio Fernández López, del Grupo de

Neurobiología (Instituto de Biomedicina de la Universidad de León), en los meses de mayo y junio: “¿Quién controla los medicamentos que tomamos?”, impartida por el Dr. Fernando Andrés Trelles (Catedrático de Farmacología de la Universidad Complutense de Madrid) y “Drug Discovery: del diseño a la comercialización de un fármaco”, pronunciada por la Dra. Victoria Revilla (de Almirall, S.A.).

Durante los meses de octubre y noviembre, se desarrolló el *X Curso de Actualidad Científica y Cultural*, organizado por la Universidad de León y la Fundación Carolina Rodríguez, en el cual nuestra Facultad participó de forma activa en la organización del mismo, celebrándose las conferencias en el Aula Magna. En esta edición se contó con trece conferenciantes, profesionales relevantes de distintos ámbitos del conocimiento, desde la ética hasta la conservación de las plantas. Algunos de los ponentes y el título de sus conferencias fueron los siguientes: Romualdo Bermejo García (“La crisis ucraniana y sus efectos económicos, jurídicos y geopolíticos”), Antonio Blanco Prieto (“Cultura, arte y alimentación”), Adela Cortina Orts (“¿Para qué sirve realmente la ética?”), María Blasco (“Telómeros y enfermedad”) (**Fig. 2**), Raúl Ortiz de Lejarazu (“El desafío constante de los virus de la Gripe”), Fernando Savater (“El oficio de ciudadano”), José Luis García López (“Medicina personalizada en el siglo XXI”) y Manuel Álvarez Dolado (“Avances en reparación cerebral mediada por células madre”). Este último, profesor del Laboratorio de Terapia Celular en Neuropatías, del Centro Andaluz de Biología Molecular y Medicina Regenerativa, de Sevilla, también pronunció, fuera del ciclo, la conferencia titulada: “Terapia mediante precursores de interneuronas en modelos de Epilepsia y Alzheimer”. Asimismo, y organizado por el profesor Carlos Polanco (Área de Genética), el 6 de noviembre tuvo lugar la charla, “Aplicación práctica de la ultrasecuenciación de DNA”, pronunciada por el Dr. Alberto Acedo, director ejecutivo de AC-GEN Reading Life y Premio “MIT Technology Review” a innovadores menores de 35 años en España, en 2014.



Figura 2. La Dra. María Blasco durante su intervención en el X Curso de Actualidad Científica y Cultural (30 de octubre de 2014).

Jornadas, Talleres y Exposiciones

Durante los días 10 y 11 de abril se celebraron las “IV Jornadas de Orientación Profesional (2014)”, organizadas por la Fundación General de la Universidad de León y de la Empresa (FGULEM) y la FCCBA, y destinadas a los estudiantes de cuarto curso de los tres grados que se cursan en nuestra Facultad (Biología, Biotecnología y Ciencias Ambientales). Las Jornadas se desarrollaron mediante charlas informativas por parte del Colegio Oficial de Biólogos, FGULEM, un experto en selección de personal, egresados recientes de la Facultad, empresarios y el Vicerrector de Investigación. Con una finalidad similar se organizaron dos talleres destinados a estudiantes de último curso de los tres grados, uno en el mes de marzo. “Taller de iniciación a la búsqueda de empleo: Qué quiero. Qué ofrezco. Cómo lograrlo” y otro en el mes de mayo: “El proceso de selección personal. Qué buscan. Qué pruebas habrá. Cómo ser el candidato”, impartidos por personal de la Escuela de Formación e Innovación Docente de la Universidad de León y de FGULEM.

Entre los días 5 al 9 de mayo tuvo lugar la “IV Semana de las Ciencias Ambientales”, (organizado por ACALE, en colaboración con la Oficina Verde y la propia Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales) que contó con talleres, conferencias, visitas y concursos con entrega de premios. Las conferencias fueron pronunciadas por los profesores de la Facultad, José Luis Sánchez Gómez (Catedrático de Física Aplicada) (“Investigación en la Universidad: física

aplicada en riesgos atmosféricos”, Francisca Vaquero (Titular del Área de Genética) (“Hablemos de plantas transgénicas”), así como por Antonio Ugidos, responsable de jardinería del Ayuntamiento de León (“Jardinería sostenible”). Los dos talleres desarrollados en esta semana fueron: “Plantando con_ciencia: plantas silvestres comestibles y/o medicinales de nuestro entorno” y “Jardinería sostenible”. Asimismo se realizó una visita al herbario LEB “Jaime Andrés Rodríguez”, de la Facultad. Previamente, entre los meses de marzo y abril, se celebraron en el Aula Magna de nuestra Facultad los “II Talleres ambientales Tierra ibérica-Oficina Verde”, con el título “Gestión de Ecosistemas Acuáticos. Planificación hidrológica y Proyectos LIFE de conservación de especies”.

Dentro del capítulo de exposiciones, el Servicio de Colecciones Zoológicas de la Universidad de León (CZULE) organizó, a partir de mayo, una en la planta baja del edificio Darwin, en memoria de Gabriel García Márquez, con el título “Mariposas amarillas. Metáforas del Amor”, que incluye textos del Noble colombiano y ejemplares de diferentes especies de mariposas de Sudamérica. Asimismo, los Archivos de Castilla y León expusieron fotografías durante el mes de mayo, con los títulos “Un siglo de Castilla y León en imágenes”, “Un tiempo entre visillos” y “¡De otras peores hemos salido!”.

El proyecto “Importancia de los sistemas lagunares en el incremento de la biodiversidad en la cantera La Medina”, realizado por ocho alumnos del Máster Universitario en Riesgos Naturales de la Universidad de León, ha sido seleccionado entre los cinco mejores proyectos a nivel nacional y, actualmente, compete en la fase final del concurso nacional e internacional. El día 11 de diciembre se seleccionan los tres proyectos ganadores nacionales y los cinco internacionales en las localidades de Oviedo y Praga, respectivamente. Hasta el momento, el proyecto ha sido galardonado con el cuarto puesto internacional en el concurso de votación pública y aspira a quedar entre los tres primeros puestos a nivel nacional. “La Medina” es una cantera situada cerca de Oviedo y en ella, los alumnos han identificado organismos ligados a ecosistemas acuáticos, incrementando en más de 50 taxones los inventarios de la propia cantera. Los alumnos que han participado en este proyecto son: Paula María Belmonte Sainz-Ezquerria, Víctor Fernández García, Nerea Gutiérrez Carmona, Ana Belén López Calderón, Beatriz Rodríguez García, Carmen Victoria Romo Lanchas, Sara Turiel Santos y Adrián Villastrigo Carbajo (**Fig. 3**).



Figura 3. Alumnos del Máster Universitario en Riesgos Naturales en la cantera de estudio de su proyecto.

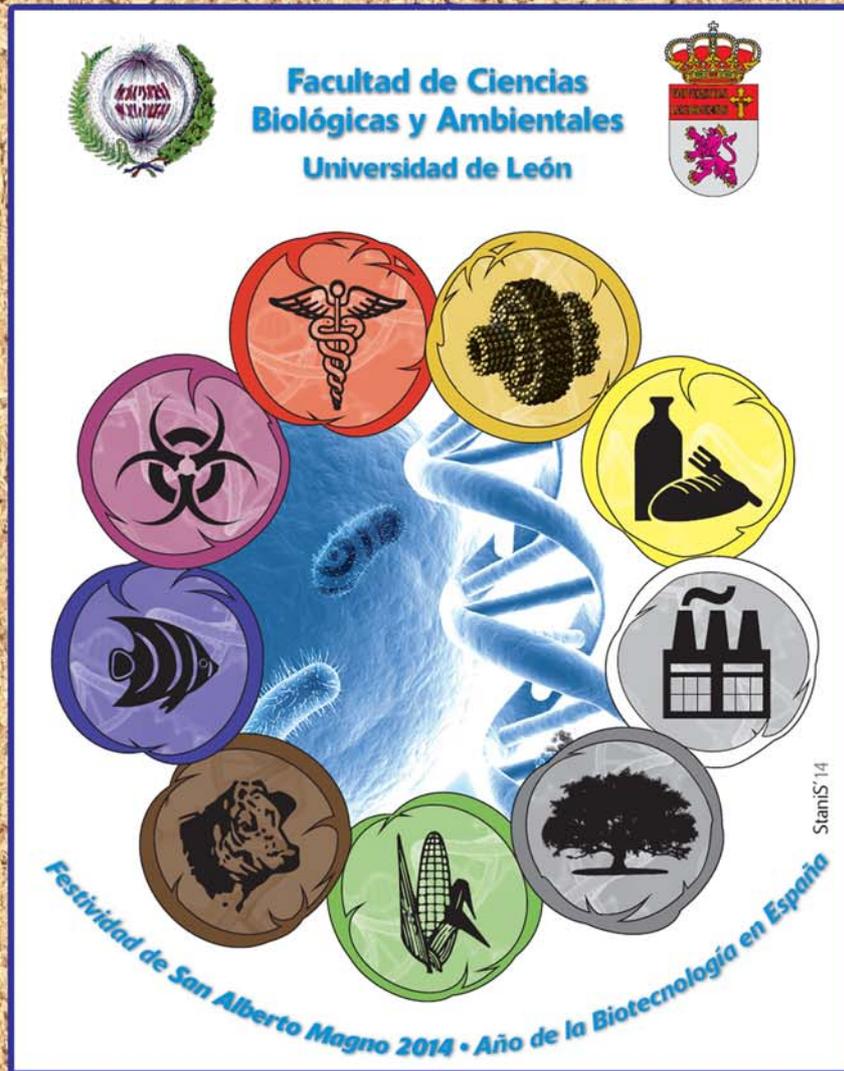
Finalmente, durante la celebración de San Alberto Magno (14 de noviembre de 2014), se entregaron los premios anuales a los mejores expedientes de los Grados en Biología y en Biotecnología. El primero de ellos, “Premio Fin de Carrera Gadea Biopharma” recayó en el alumno Manuel Olazábal Morán y la Comisión acordó también felicitar por la brillantez de su expediente a la alumna Marta Lombó Alonso (**Fig. 4**). El “Premio Vitatene Awards for Academic Excellence” fue otorgado a Roberto Carro Vázquez, mejor expediente en el Grado en Biotecnología (**Fig. 5**).



Figura 4. Manuel Olazábal y Marta Lombó reciben el premio GADEA BIOPHARMA S.L. y la mención especial, respectivamente.



Figura 5. Roberto Carro recibe el premio VITATENE.



★ 1968 ★



★ 2014 ★

Si tienes alguna sugerencia o quieres enviarnos tus artículos, tu proyecto de tesis o alguna fotografía para la portada, ponte en contacto con nosotros:

ambiociencias@unileon.es

La edición electrónica de la revista se puede consultar en:

<http://biologia.unileon.es/descargas.htm>



En contraportada: logotipo diseñado por el Dr. Estanislao Luis Calabuig con motivo de la festividad de S. Alberto Magno (2014), en conmemoración del Año de la Biotecnología.