



PATENTE

## Procedimiento para la detección de recombinación homóloga in vivo analizando formas de gfp recombinantes

Sistema para la identificación, con microscopio de fluorescencia, de reordenaciones en el genoma (recombinación) originadas por diferentes condiciones. Emplea levaduras que expresan proteínas fluorescentes de diferente localización celular.

### Ámbito de conocimiento:



Ciencias de la vida y la salud

## Estado de protección de la tecnología

Tecnología ya patentada.

## ¿Qué buscamos?

Se buscan empresas interesadas en la licencia de esta tecnología.

## Descripción

Nuestra tecnología (patente ES2610744) proporciona un sistema que permite identificar, con células vivas, tanto el efecto de agentes químicos como de mutaciones génicas con consecuencias en la reorganización de los genes y potencialmente cancerígenos. Esta identificación, se realiza al microscopio de fluorescencia con células sometidas a las condiciones que se quieran estudiar. El procedimiento permite resultados en muy corto espacio de tiempo.



OTII

OFERTA  
TECNOLÓGICA

📍 Edificio de Servicios Centrales  
de Investigación Campus de  
Elviña, s/n 15071 A Coruña

☎ 981 167 173

🌐 [otri.udc.es](http://otri.udc.es)

En la primera versión de éste análisis de recombinación se emplean dos genes modificados (al fusionarlos a GFP: proteína fluorescente verde) y presentes en la levadura *Saccharomyces cerevisiae* que dan lugar a dos proteínas fluorescentes con diferente localización celular. Una de ellas es nucleolar y emite una fluorescencia intensa; la otra emite una fluorescencia más tenue y es citosólica (ver imagen1). La recombinación entre los dos genes fusionados a GFP causa cambios en el patrón de fluorescencia celular (nucleolar versus citosólico) por pérdida de uno de ellos (ver imagen 2). Su frecuencia puede ser cuantificada. Esta tecnología no implica grandes infraestructuras y de un modo rápido se pueden analizar las frecuencias de recombinación sin tener que hacer extracciones de ácidos nucleicos ni análisis moleculares.

El procedimiento es aplicable a células vegetales y humanas. Estas últimas aplicaciones tienen cabida en medicina y biotecnología.

## Valores añadidos

Esta tecnología en el estado actual de desarrollo, permite identificar cambios originados por mutaciones celulares o agentes químicos externos y/o fármacos, que causen reorganizaciones génicas, empleando levaduras como organismo modelo y sin necesidad de hacer ningún tipo de procesado celular. Únicamente la visualización por microscopía de fluorescencia.

Una gran ventaja frente a los estudios que aplican técnicas de PCR, es aquí las células se visualizan directamente tras cultivarlas, mientras que el análisis por PCR requiere el procesado de las muestras, la propia PCR y la electroforesis.

Por otro lado con nuestra técnica podemos identificar recombinación en células individuales que podrían pasar desapercibidas, si su frecuencia es baja, en una PCR con el DNA de varias células.

En el caso del estudio de recombinación por técnicas de genética clásica, es necesario detectar crecimiento celular en placas selectivas, lo que supone un gasto de tiempo (normalmente 2-3 días) y materiales de cultivo.

La tecnología es aplicable y está patentada para su uso en cualquier tipo de célula eucariota. Por tanto en estos casos tampoco es necesario hacer extracciones de ADN ni PCRs y además permite diferenciar el sentido de la recombinación según se pierda la fluorescencia citosólica o la nucleolar.

Incluye dos cepas de levadura para tener un control positivo y otro negativo en los estudios a los que se aplique.

La tecnología permite el desarrollo de un software específico de análisis de imagen.

### Otra información de interés:

Publicaciones y difusión relacionados con la tecnología:

Título: A microscopy based system to detect homologous recombination in yeasts. Autores: Varela-Rodríguez BM, Alvarez-Felgar, T., Rodríguez Torres, AM. and Freire-Picos MA. Congreso BAC2017 León Julio 2017

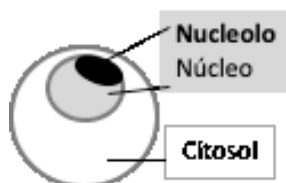
Publicación: libro resúmenes, p. 105. ISBN: 978-84-947468-0-2. -Comunicación a Congreso internacional de biotecnología.

Tesis de licenciatura: Título: “Expresión de formas recombinantes de GFP en levaduras: efecto de la cepa y componentes del poro nuclear”. Bárbara Varela Rodríguez, Facultad de Ciencias, UDC Noviembre 2013

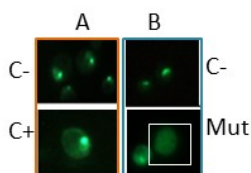
Calificación: sobresaliente Directoras: M.A. Freire-Picos y Ana M<sup>a</sup> Rodríguez

-Trabajo Fin de Master-Título: Expresión en levaduras de genes GFP recombinantes en el mutante  $\Delta$ nup84 del Complejo del Poro nuclear. Tutoras: M<sup>a</sup> Angeles Freire Picos y AM. Rodríguez Torres. Calificación: sobresaliente. Defendido por Bárbara M<sup>a</sup> Varela Rodríguez. Facultad de Ciencias, UDC. Junio 2014.

-Artículo en preparación. Autoras: Varela-Rodríguez B.M. Rodríguez Torres, A.M. Alvarez T., and Freire-Picos M.A. Título: 3'-Untranslated regions are involved in Nup84-dependent recombinant events.(2018).



Representación esquemática de las posibles localizaciones celulares.



Ejemplo. A Célula no sometida a cambios (C- control negativo) (C+ control positivo con fluorescencia nucleolar y citosólica). B Experimento en células mutadas.

## Aplicaciones por sector

Ejemplos de aplicación por sector:

- En Investigación básica y/o aplicada: analizar, *in vivo*, el efecto causado por la mutación de un gen que afecte a la reorganización genómica. Esta aplicación ya fué validada por nuestro grupo de investigación. Esta aplicación sirve también para otras especies, plantas, animales y humanos.
- Medioambiental: estudiar, el aumento de la frecuencia de recombinación celular causada por agentes potencialmente dañinos presentes en medios acuáticos con las subsiguientes consecuencias negativas para los seres vivos.
- Farmacológico y biomédico: efecto de un medicamento, o de un potencial fármaco, en la tasa de recombinación que está asociado con un aumento probabilidades de cáncer.

# Procedimiento para la detección de recombinación homóloga in vivo analizando formas de gfp recombinantes



Ganadería y  
veterinaria



Medio ambiente



Salud y bienestar





## Grupo de Investigación

---



Levagen (UDC)



Grupo Fisiopatoloxía Endócrina, Nutricional e Médica (FENM)

## Responsable

---



María Angeles Freire Picos



Ana M<sup>a</sup> Rodríguez Torres



Bárbara M<sup>a</sup> Varela Rodríguez

