

AVANCES EN TRANSGÉNESIS ANIMAL

Dr. Pablo Bosch

*Laboratorio de Reprogramación Celular e
Ingeniería Genética*

Departamento de Biología Molecular

FCEFQyN, UNRC



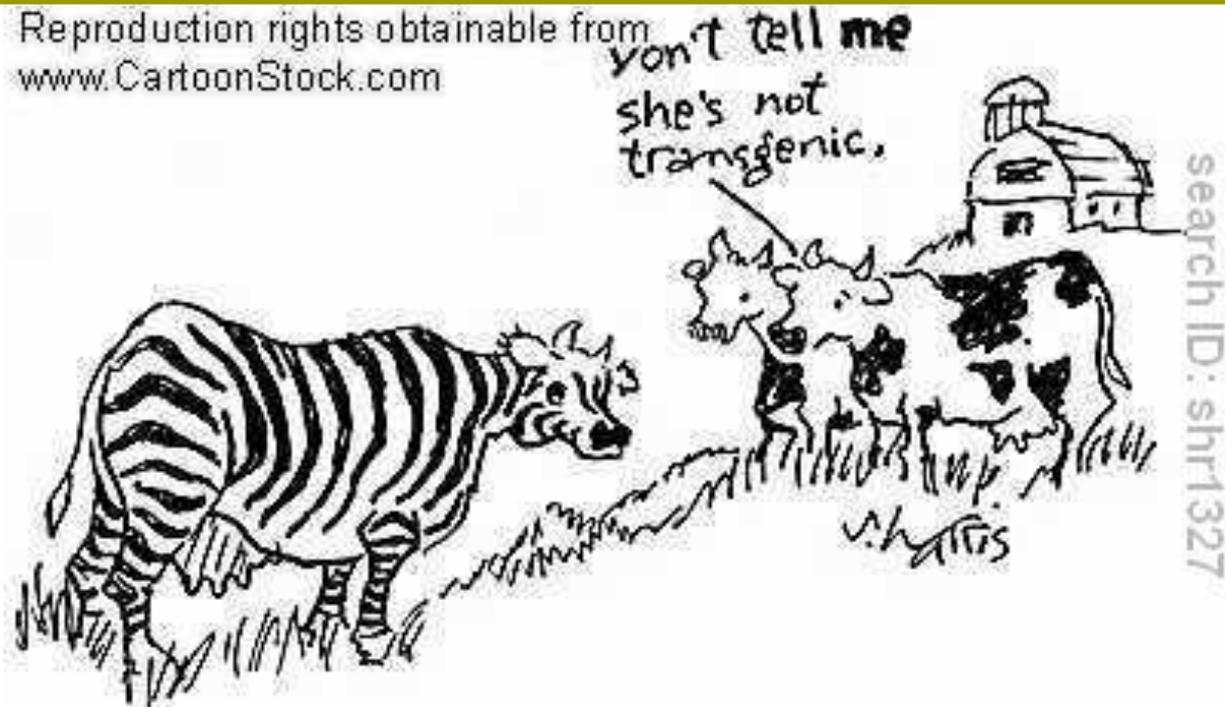
Estructura de la presentación

- Definición de **transgénesis animal**
- Aplicaciones de los animales transgénicos
- Métodos transgénicos
- Clonación por transferencia nuclear de células somáticas (**TNCS**)
- Uso de la clonación por **TNCS** para generar animales transgénicos
- Conclusiones

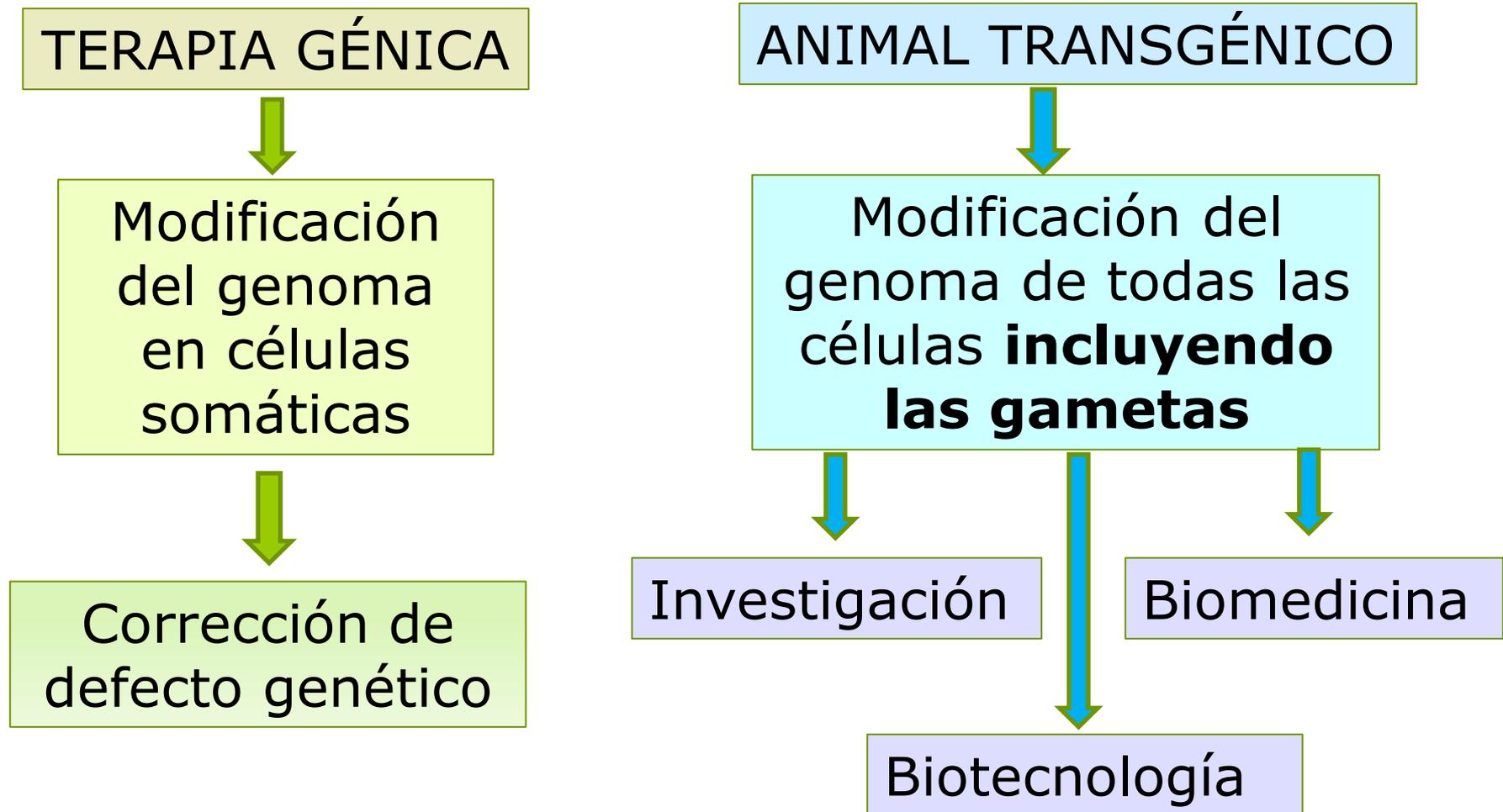
Transgénesis – Modificación genética

Introducción, eliminación o modificación deliberada de información genética en la línea germinal de un animal – **Edición de genomas**

Reproduction rights obtainable from
www.CartoonStock.com



Modificación del genoma ¿Para qué?



Transgénesis – Modificación genética

- Farmacéuticos
- Producción animal
- Modelos animales
- Xenotransplante



El método transgénico ideal

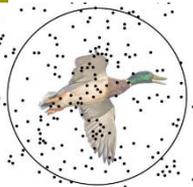
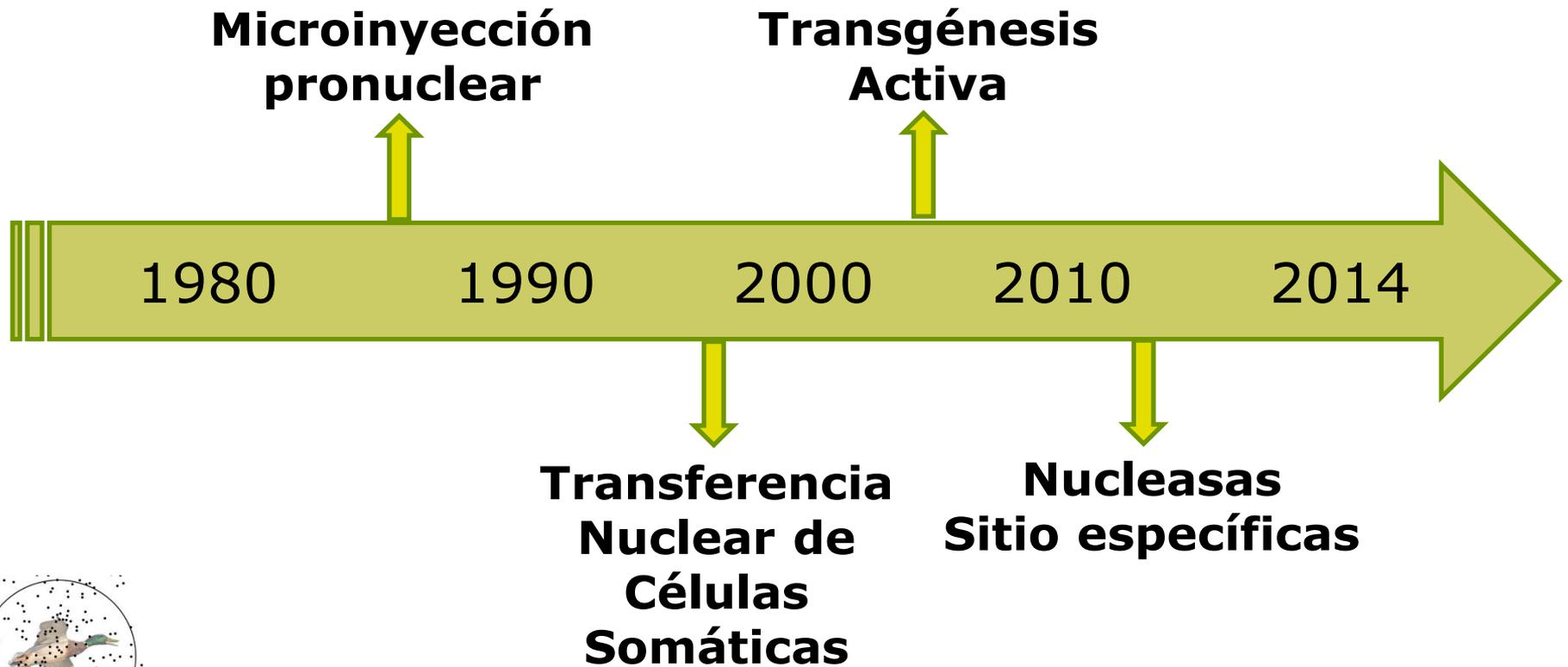
➤ Alta precisión

➤ Versátil

➤ Alta eficiencia

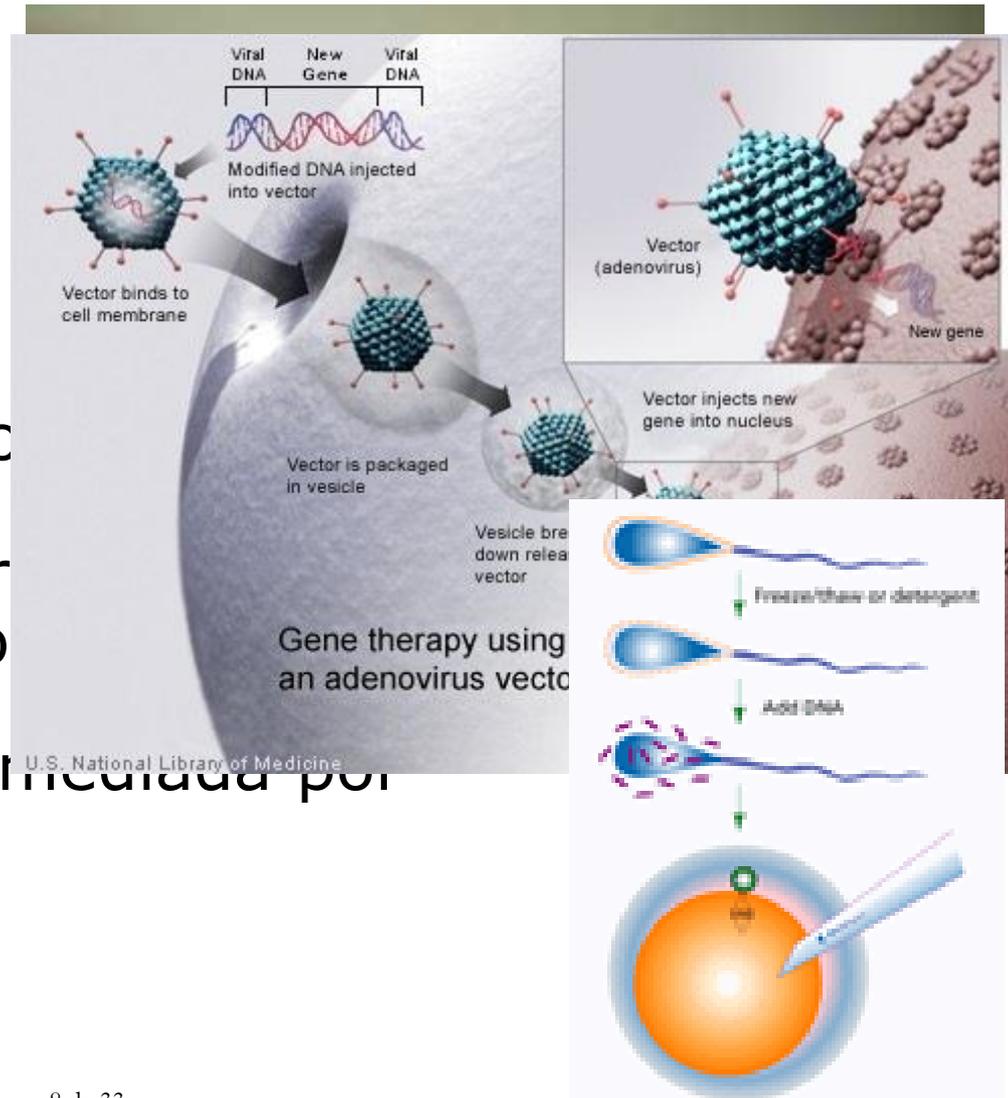
➤ Alta especificidad

Línea de tiempo de la transgénesis en animales domésticos

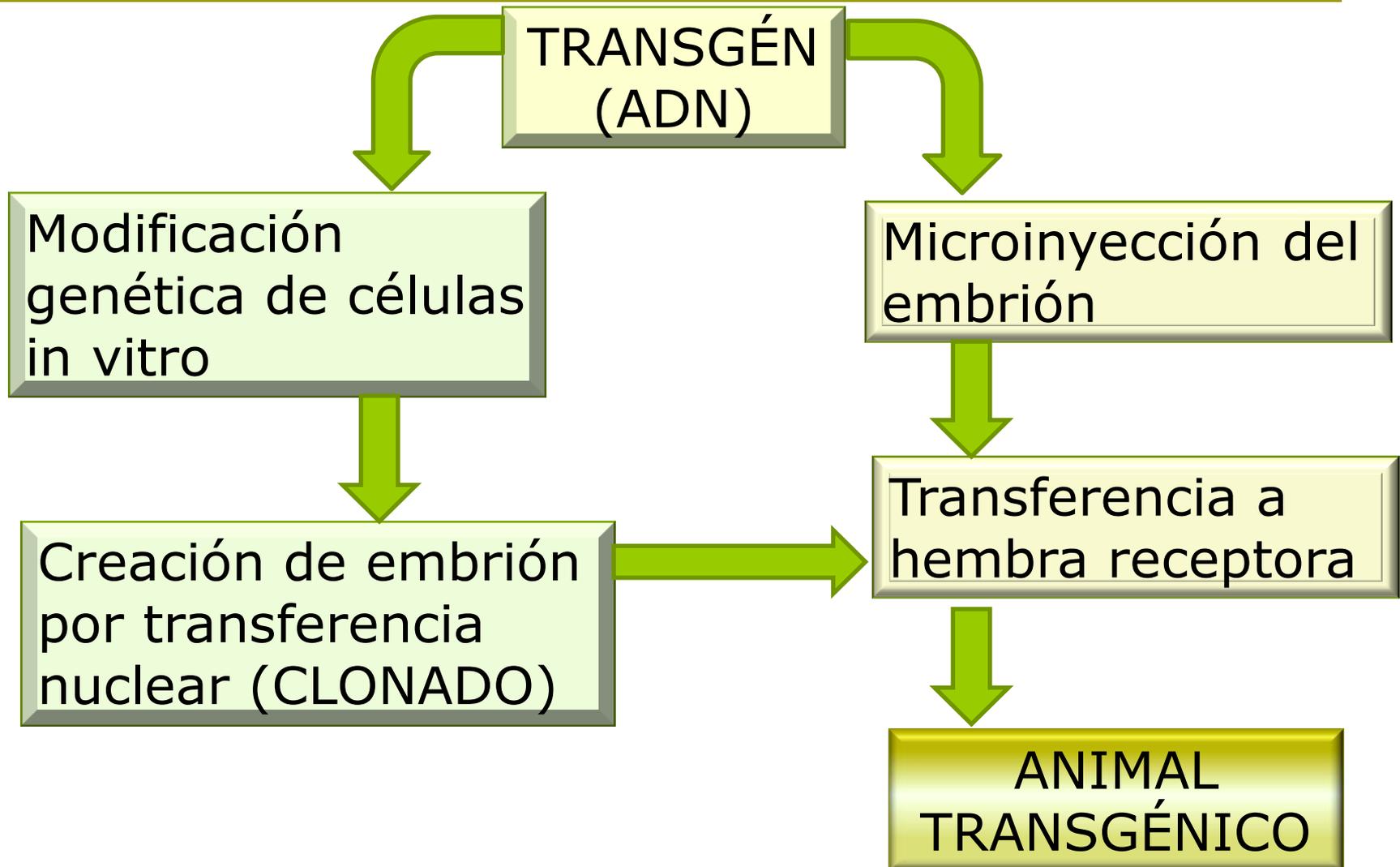


Métodos Transgénicos

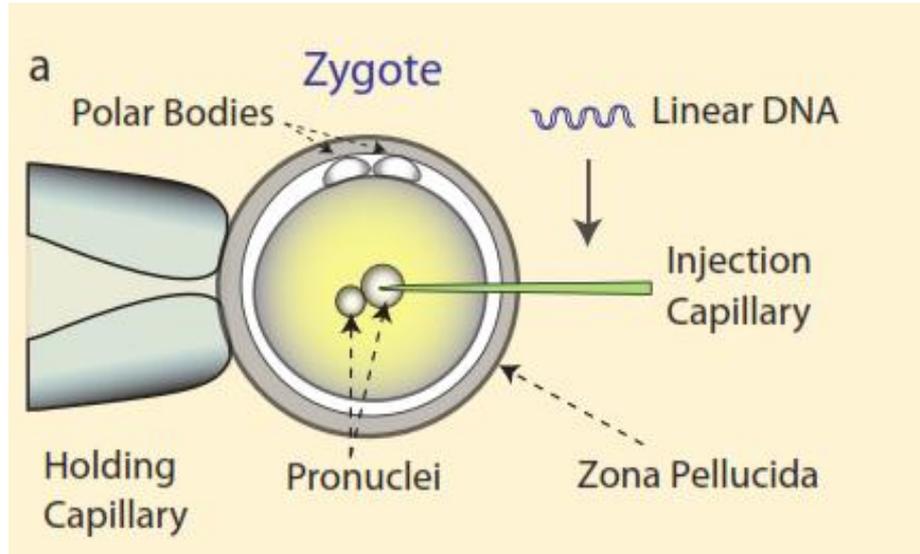
- ❑ Micronyección de embriones
- ❑ Transgénesis mediada por Virus
- ❑ Células madre embrionarias
- ❑ Transferencia Nuclear Somáticas (TNCS, clonación)
- ❑ Transferencia génica mediada por espermatozoides



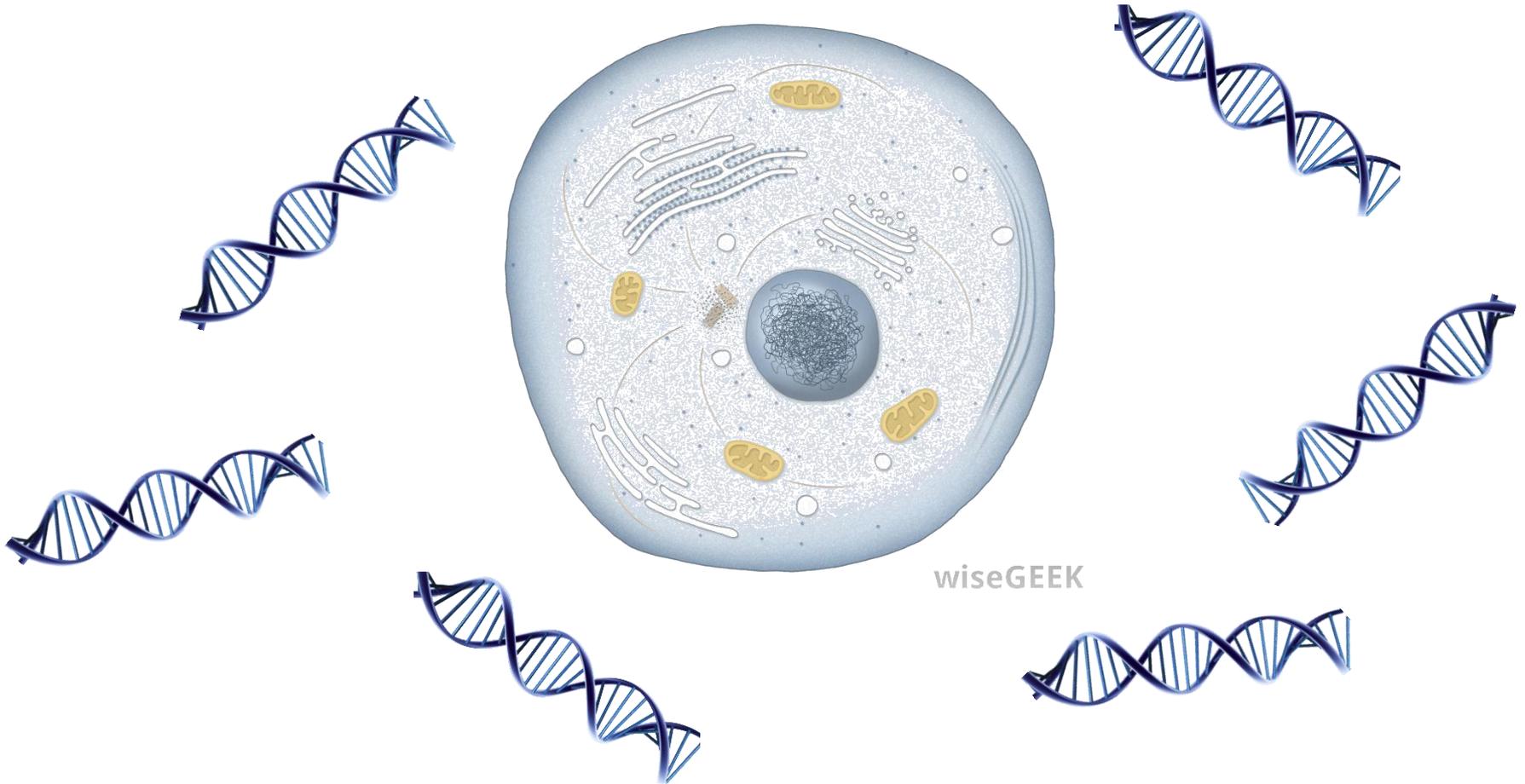
Métodos Transgénicos



Métodos Transgénicos

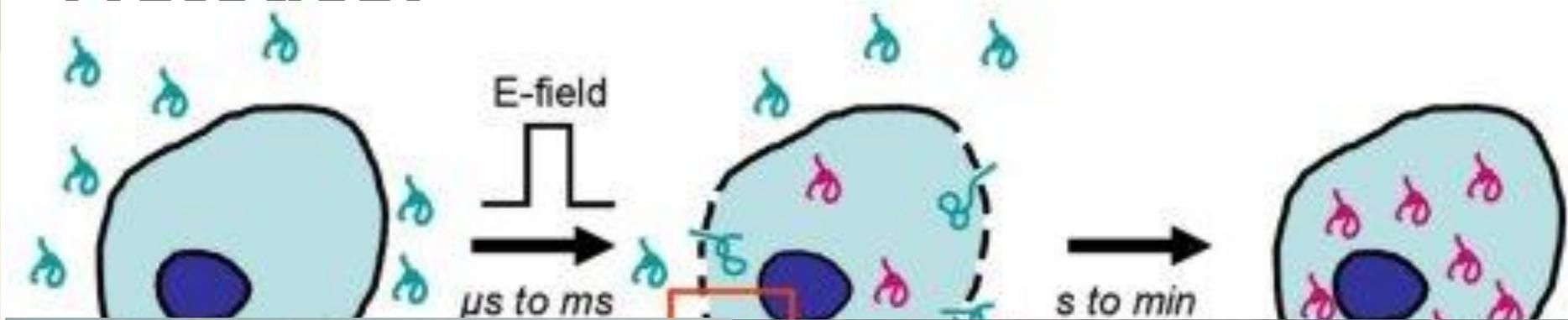


¿Cómo ingresa el ADN (transgén)?



¿Cómo ingresa el ADN (transgén)?

Métodos:



Integración no facilitada (PASIVA)



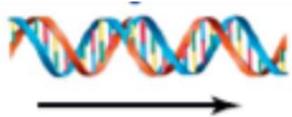
Mutágeno químico o físico

Luz UV, radicales libres, irradiación

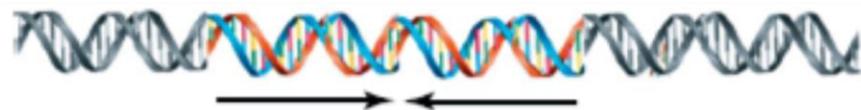
Ruptura en la doble hebra (DSB)

¿Cómo se integra el ADN (transgén) al genoma huésped?

ADN foráneo

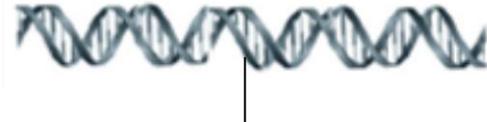


Reparación celular y Recombinación ilegítima



Concatémeros, silenciamiento

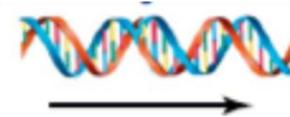
Integración facilitada (ACTIVA)



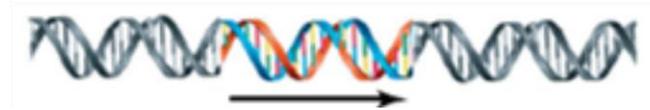
Proteína exógena:

Transposasa, ZFNs, TALEN, integrasa viral

ADN foráneo

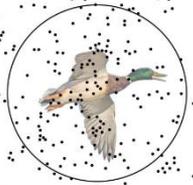


Integración mediada por enzima/s



Copias monoméricas del transgén

¿Cómo se integra el ADN (transgén) al genoma huésped?



Integración no facilitada (PASIVA)

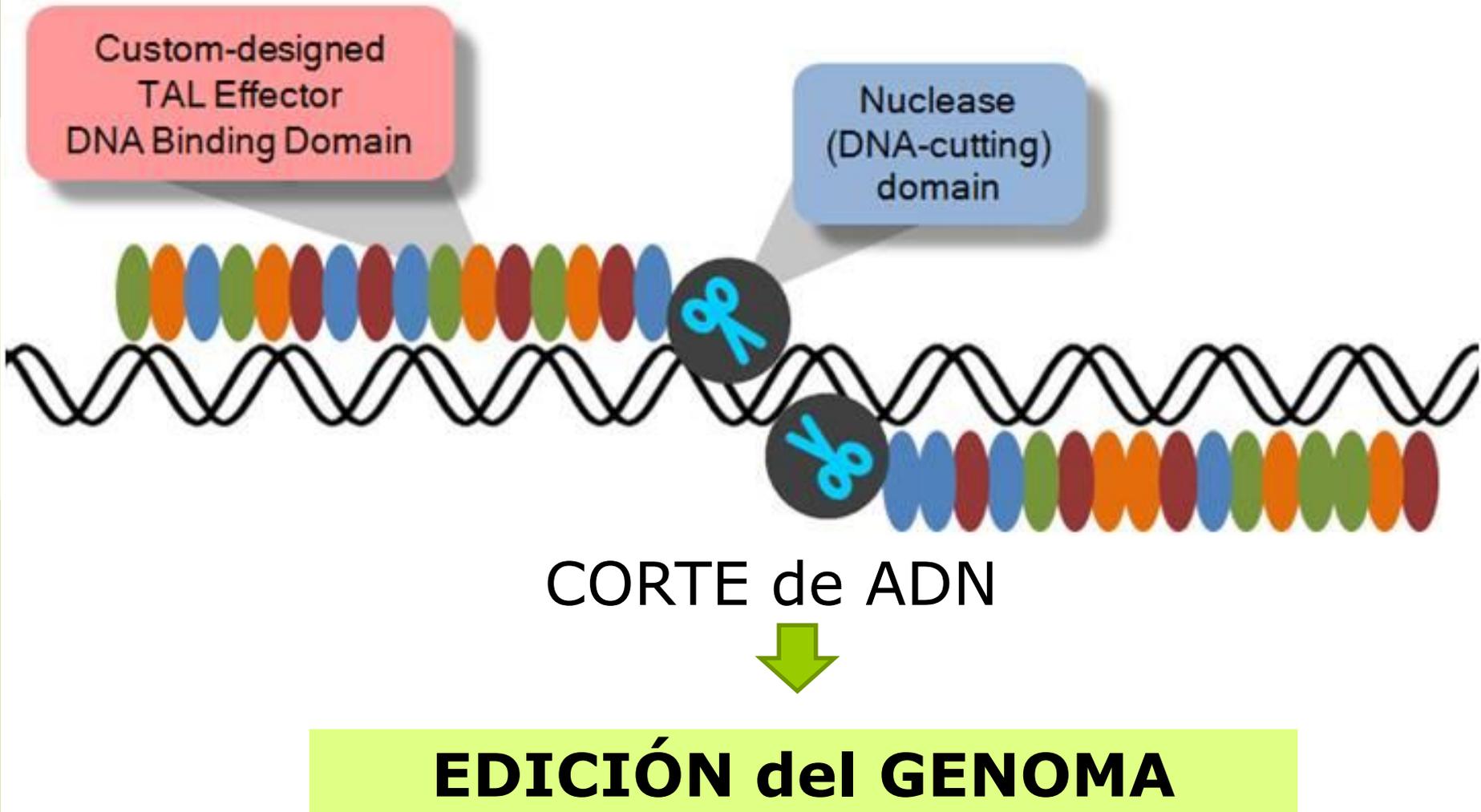
- Al azar
- Expresión variable
- Solo permite adición
- Baja eficiencia

Nucleasas Recombinantes (ACTIVA)

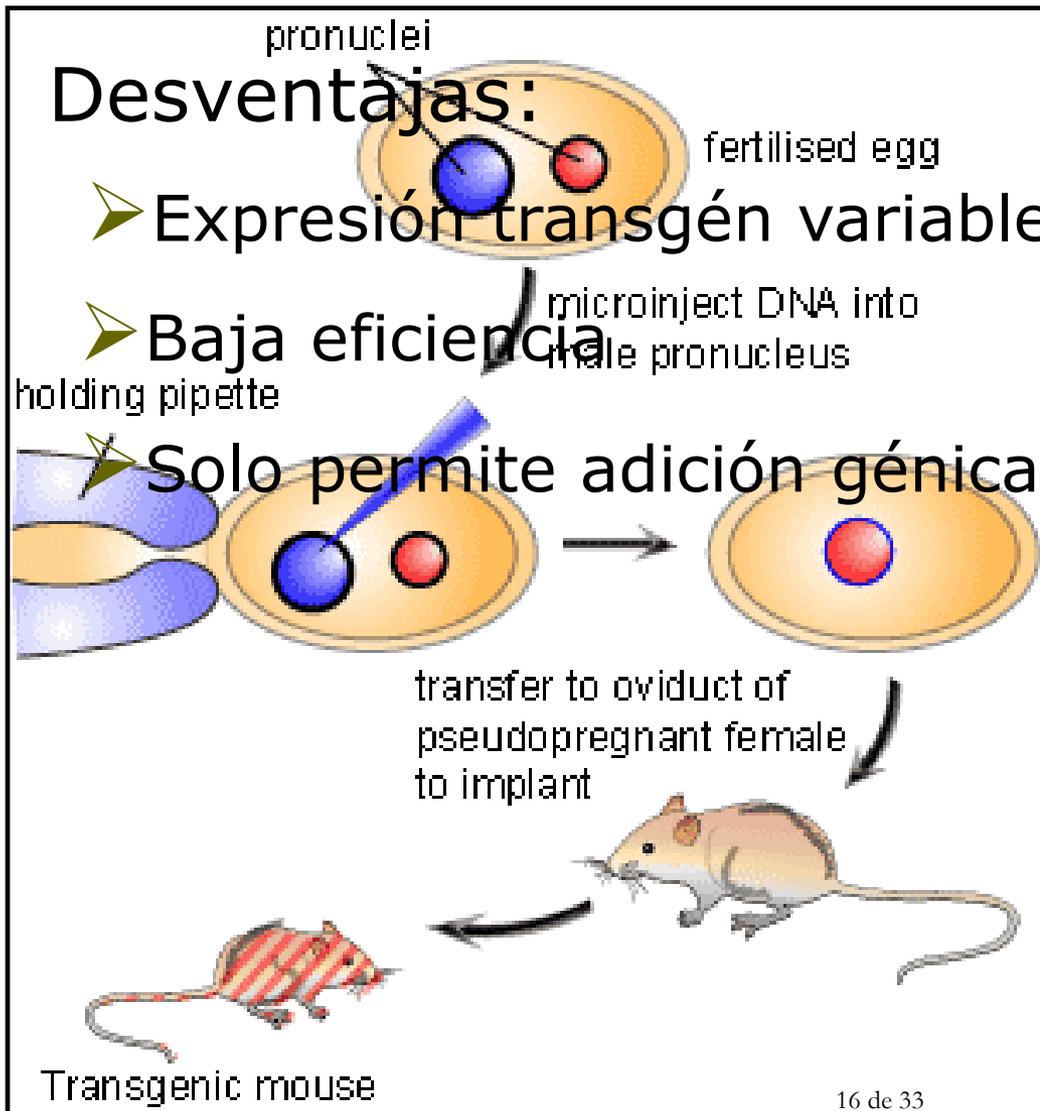
- Dirigida
- Expresión predecible
- Adición y eliminación
- Alta eficiencia



Nucleasas Recombinantes



Métodos transgénicos: Inyección Pronuclear



Métodos transgénicos: Inyección Pronuclear



¿Qué se entiende por clon?

- ❑ Producción de múltiples copias IDENTICAS de una molécula u organismo unicelular
- ❑ Conjunto de células u organismos genéticamente idénticos, originado por reproducción asexual a partir de una única célula u organismo

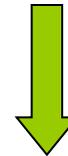
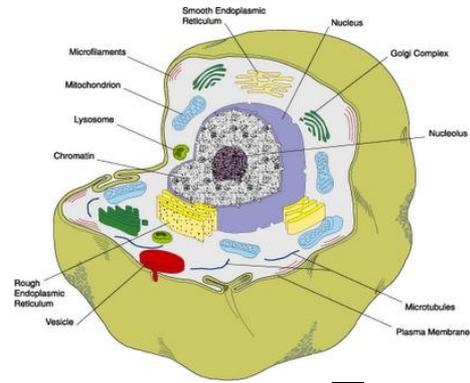
Toro Gran Campeón Aberdeen Angus



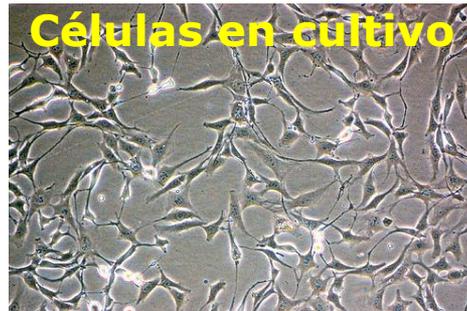
Clonación: Obtención del material genético



Toro a clonar



Estufa de cultivo



Células en cultivo



**N₂ Líquido
-192 °C**

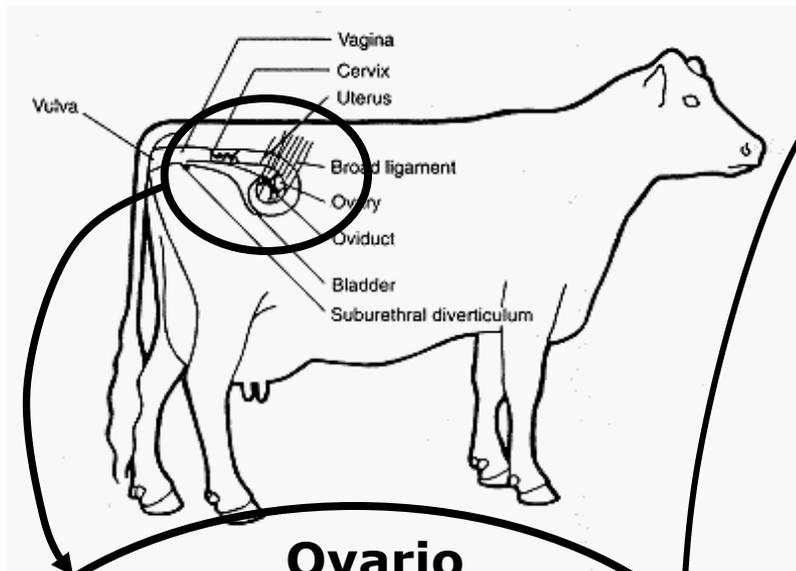
Obtención de los ovocitos

Ovocito

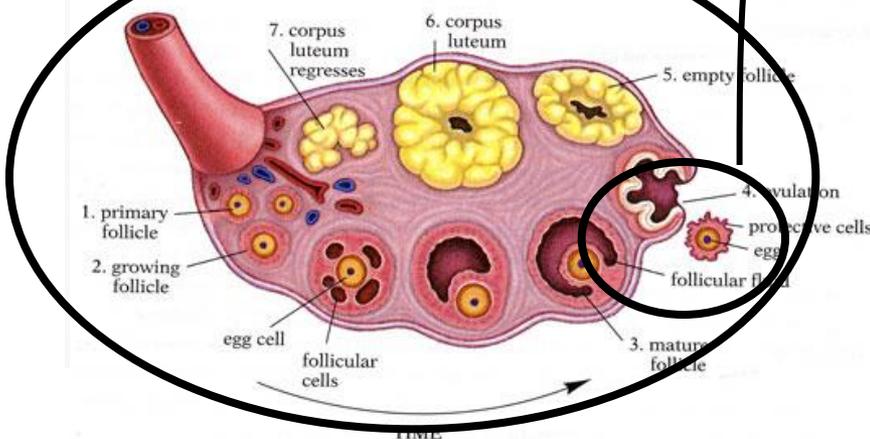


Maduración de ovocitos *in vitro*

CLONADO



Ovario

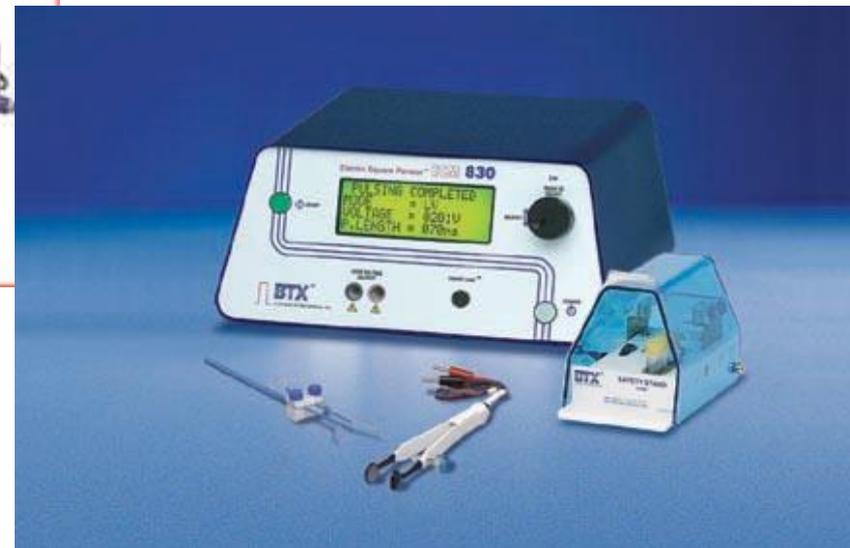


Equipamiento específico



Microscopio
Micromanipuladores
Microinyectores

Electrofusor

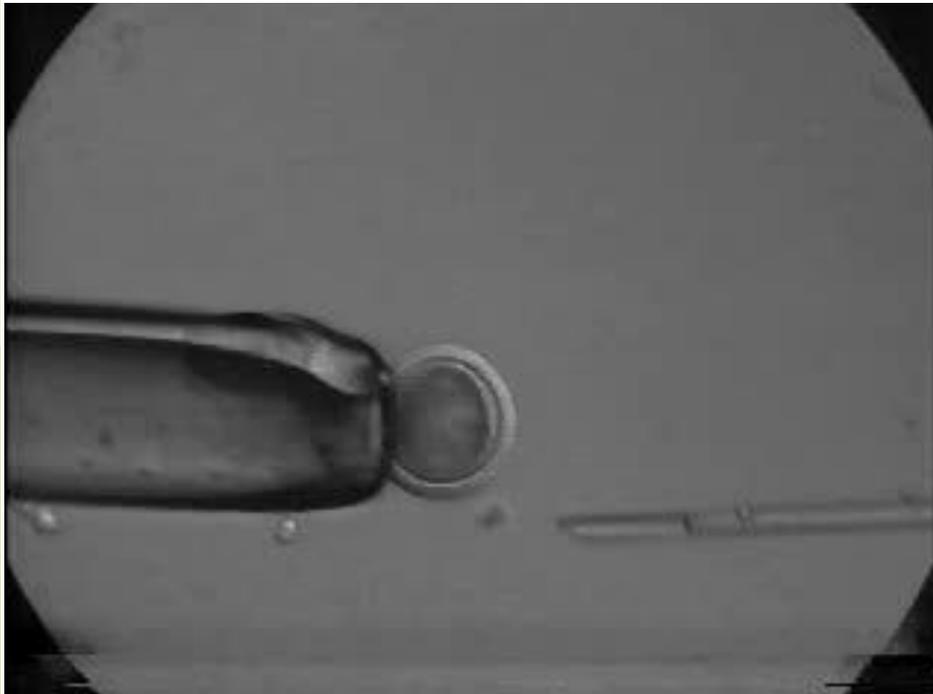
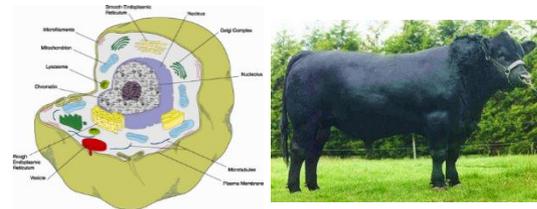


Transferencia Nuclear: Técnica

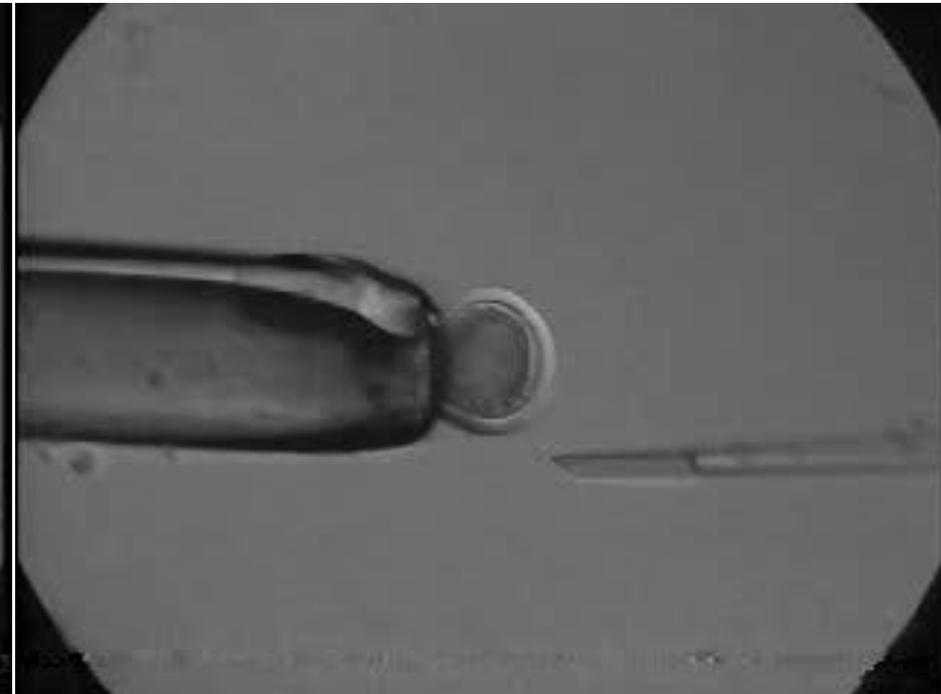
Ovocito



Célula donante de núcleo

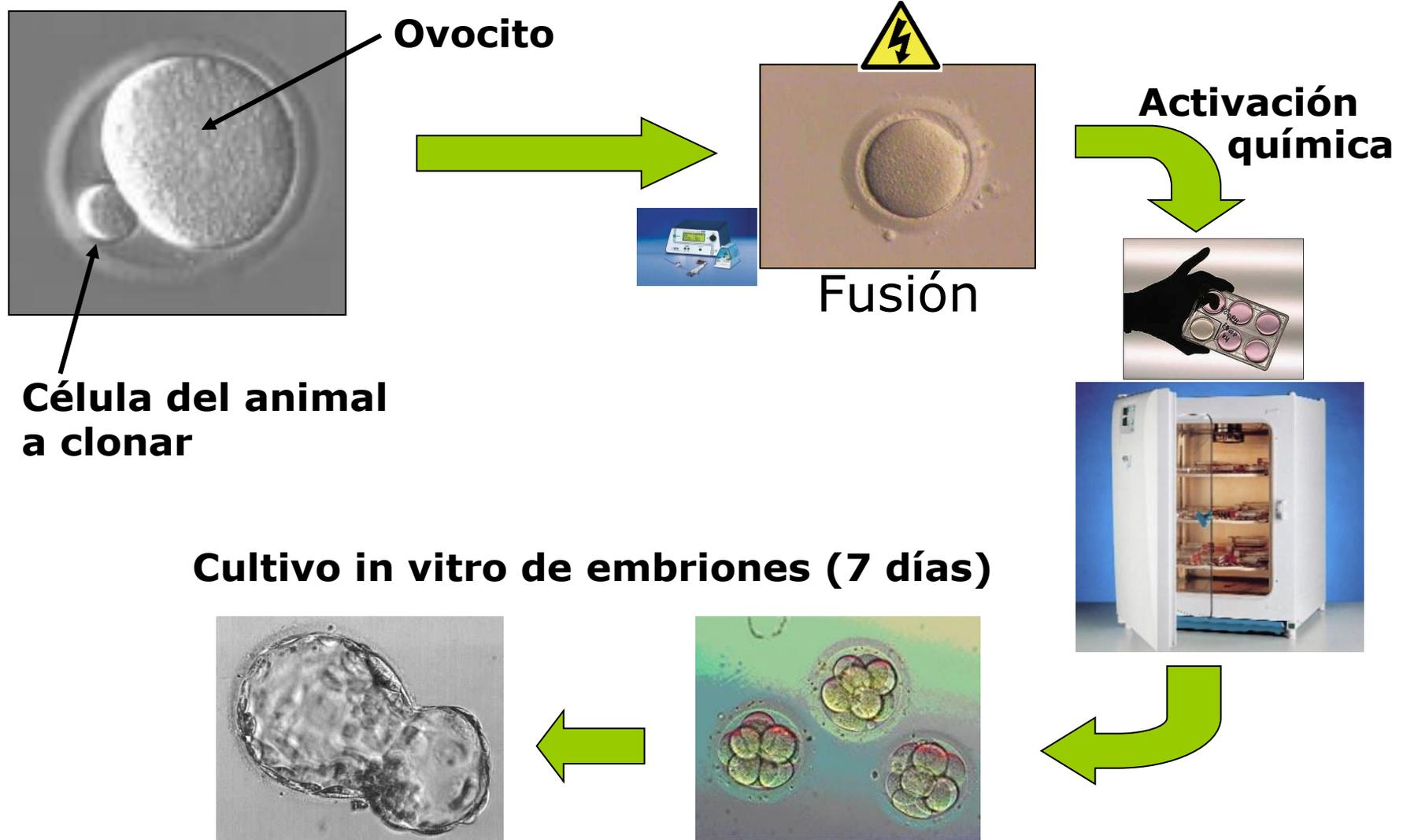


Enucleación del ovocito



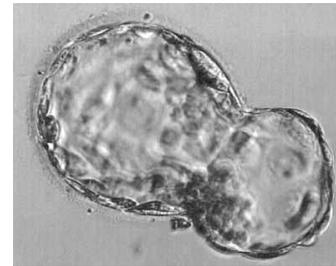
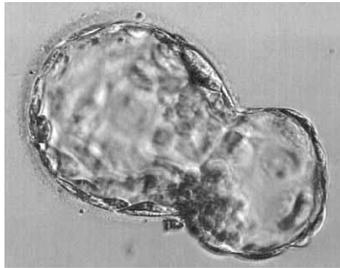
Transferencia de la célula donante

Transferencia Nuclear: Técnica (Cont.)

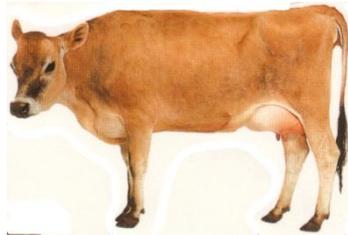
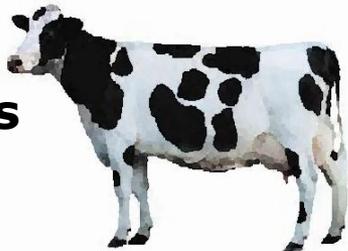


Transferencia de embriones

Embriones clonados



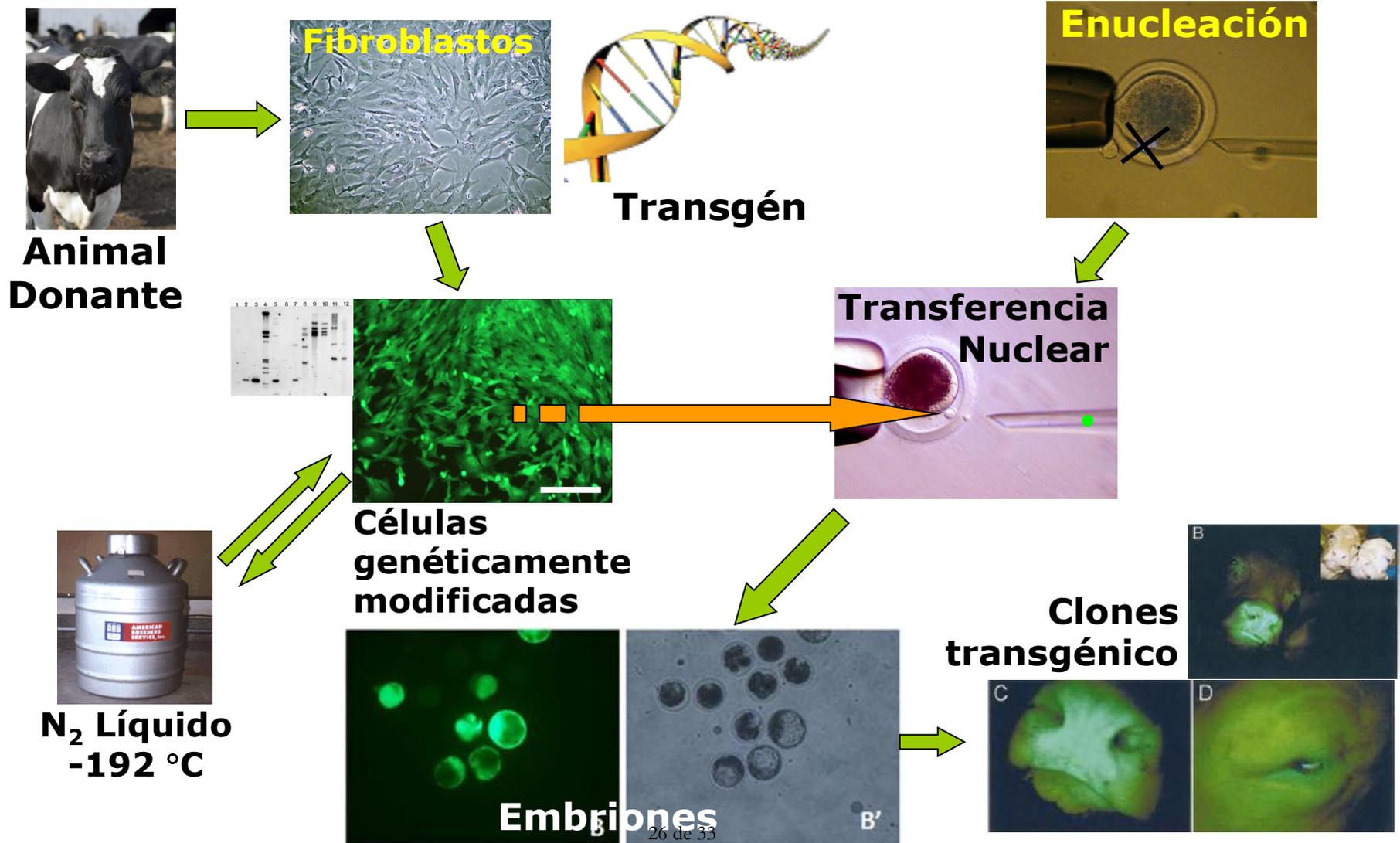
Hembras receptoras



Toros clonados

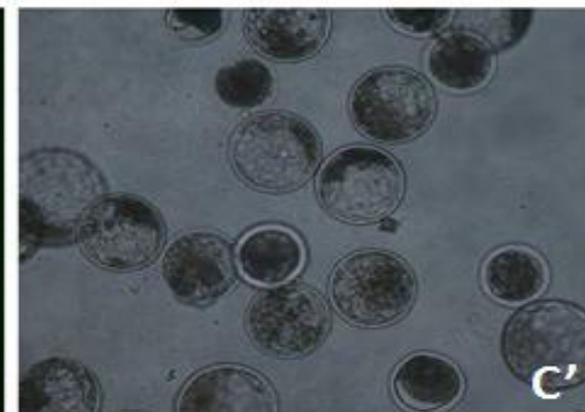
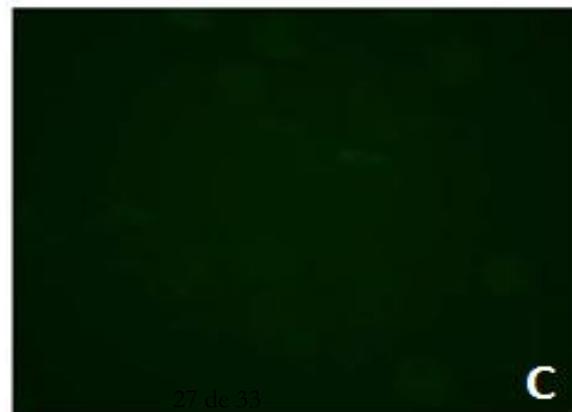
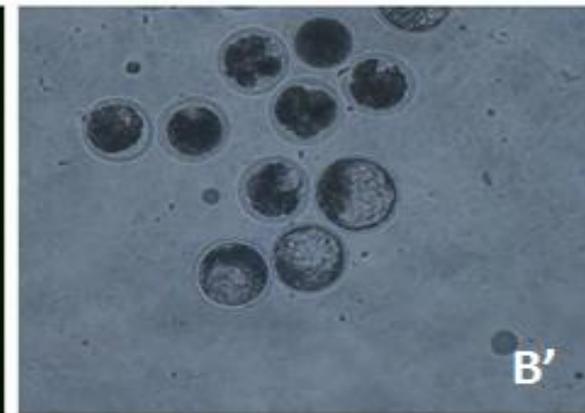
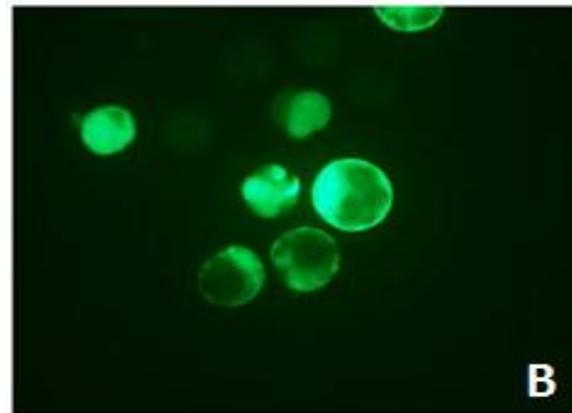
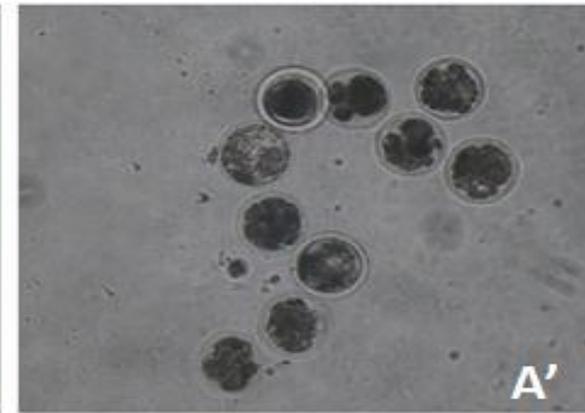
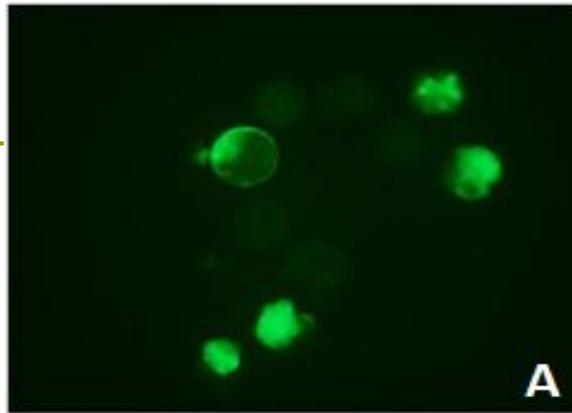


Métodos transgénicos: Clonado por Transferencia Nuclear



Embriones bovinos transgénicos generados por SCNT

TRANSPOSONES



Conclusiones

- Métodos transgénicos están en constante evolución
- Modificación del genoma de células en cultivo asociado a TNCS representa un método transgénico con mucha potencialidad en grandes animales
- Los animales transgénicos ocuparán un lugar muy importante como modelo de enfermedades humanas y como biorreactores

Conclusiones

➤ **Producción animal:**

- Complemento de programas de selección por apareamiento
- Introducción de nuevas características (ej. carácter mocho)
- Incorporación de genes de resistencia a enfermedades
- Mejoras en la producción (mutación del gen de la miostatina)

Laboratorio de Reprogramación Celular e Ingeniería Genética, UNRC

INTEGANTES

Dr. Pablo Bosch

Dra. Nancy Rodríguez

Dr. Diego Forcato

Dr. Fabrisio Alustiza

Dr. Cecilia Liaudat

Lic. Florencia Olmos

Mic. Ana Alessio

Mic. Alejandro Fili

Est. Virginia Capella



COLABORADORES

Dr. Wilfried Kues, GERMANY

Dr. Stefan Moisyadi USA

Dr. Daniel Salamone Bs.As.

SUBSIDIOS

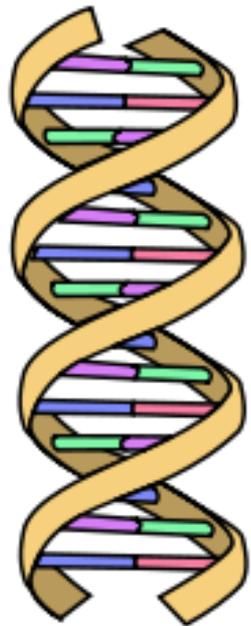
MINCyT

CONICET

UNRC

MINCyT, Córdoba

Genoma animal



DNA

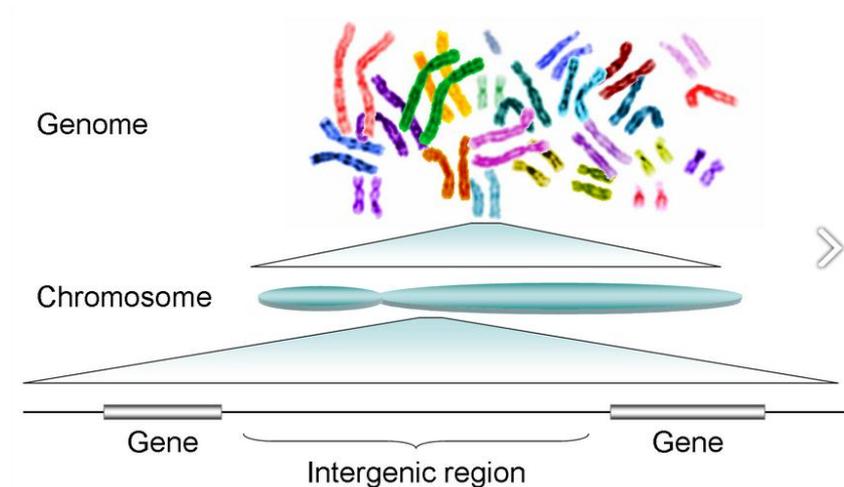
-  = Adenina
-  = Timina
-  = Citosina
-  = Guanina

-  = Struttura laterale (gruppo fosfato e 2-deossiribosio)

Tamaño del genoma bovino:

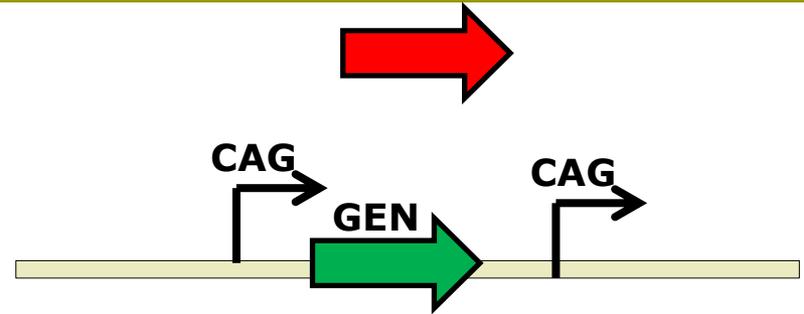
3.000.000.000 pb

22.000 genes

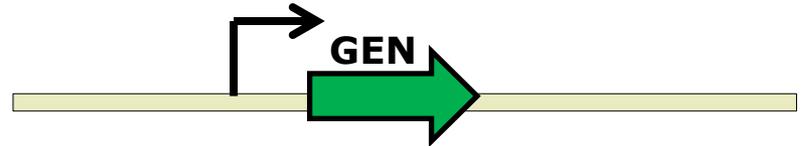


Tipo de modificación

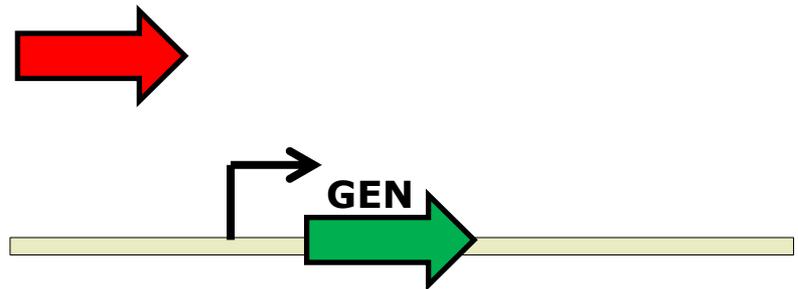
➤ Adicionar



➤ Suprimir

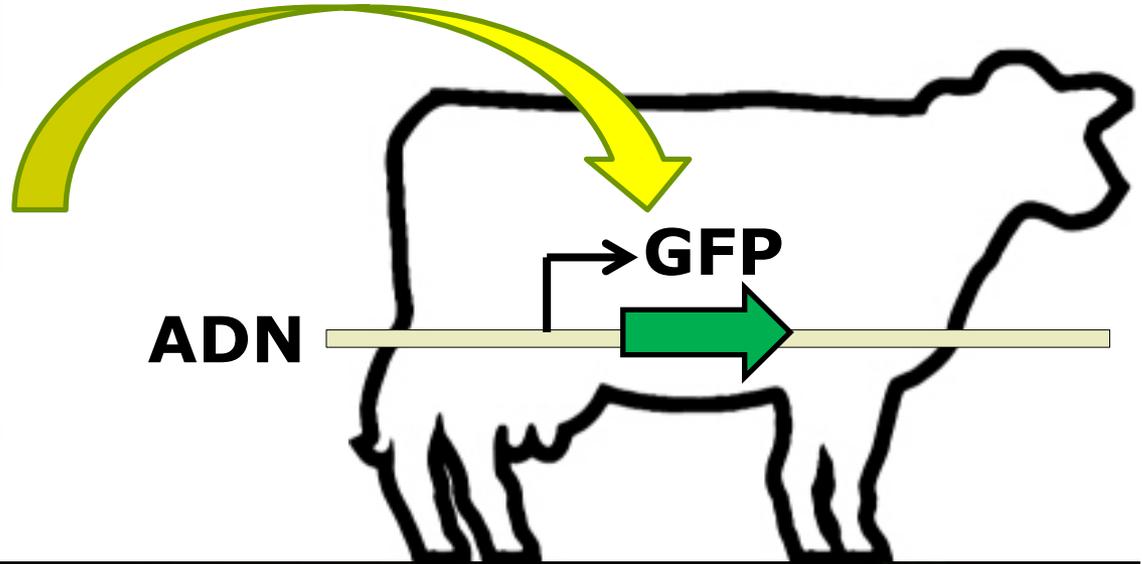
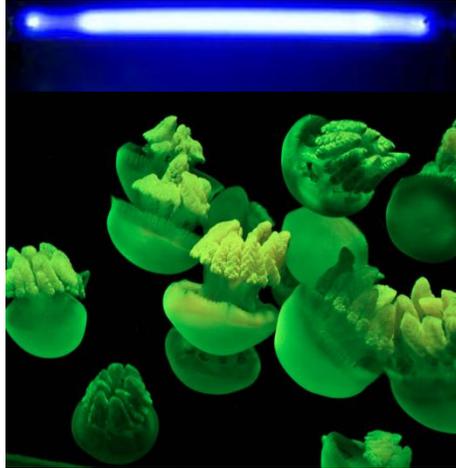


➤ Modificar



Green Fluorescent Protein

Luz
UV



linked from mongabay.com

