

# Animals transgènics: què són, com s'obtenen i per què serveixen

**Anna Pujol**

Unitat d'Animals Transgènics, Centre de Biotecnologia Animal i Teràpia Gènica (UAT-CBATEG)

Departament de Bioquímica i Biologia Molecular, Universitat Autònoma de Barcelona

[Anna.Pujol@uab.cat](mailto:Anna.Pujol@uab.cat)

*La biotecnologia actual permet dissenyar i generar animals transgènics amb determinades característiques. Entre les seves utilitats hi ha la d'utilitzar-los com a models per a l'estudi de diverses malalties humanes.*

**Paraules clau:** gen, biologia, biotecnologia, cèl·lules mare embrionàries, animal transgènic

## QUÈ SÓN ELS ANIMALS TRANSGÈNICS?

Un animal transgènic és aquell al que li hem introduït en el genoma un ADN exogen amb la finalitat de modificar-li característiques ja existents o afegir-ne de noves, i que és capaç de transmetre a la descendència aquesta modificació genètica. Això s'aconsegueix modificant el seus gens o introduint-n'hi de nous.

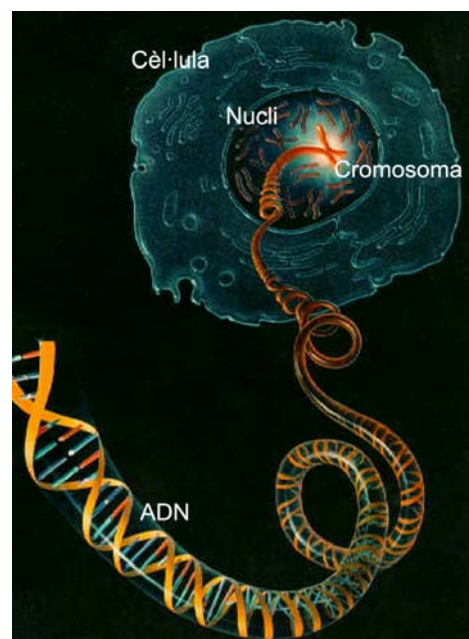
## COM S'OBTÉ UN ANIMAL TRANSGÈNIC?

Recordem que la informació genètica d'un individu està inscrita a l'ADN (fig. 1) de totes les seves cèl·lules. Aquesta informació la podem comparar a un seguit de frases, les paraules de les quals serien els gens. El significat d'aquestes paraules, allò per a què serveixen, serien les proteïnes elaborades seguint les instruccions dels gens.

Els animals més utilitzats per manipular-ne el genoma són els ratolins, per diversos motius: perquè són fàcils de criar, perquè tenen un genoma força semblant a l'humà i perquè tenen un cicle reproductiu força curt que permet obtenir diverses generacions en poc temps.

Hi ha dos grans mètodes per a l'obtenció d'animals transgènics: la transgènesi *additiva* (inserció d'un gen nou en un dels cromosomes del genoma)

i la *substitutiva* (modificar un gen concret del genoma). Vegem com funcionen.



**Figura 1.** De la cèl·lula a l'ADN (font)

## Transgènesi additiva

Consisteix en preparar el que anomenen "trans-gen" al laboratori i introduir-lo a l'atzar en el genoma d'un ratolí.

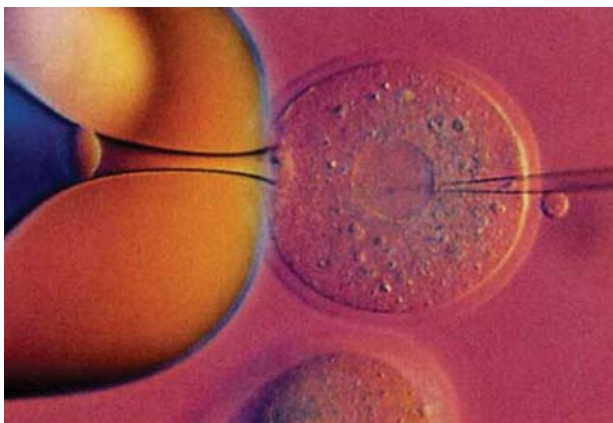
Abans de res cal determinar exactament el que perseguim: quina proteïna volem que expressi el gen introduït, on volem que es produeixi (no és el mateix que es produeixi en un sol òrgan o tipus cel·lular que a tot l'organisme) i quan i com ha d'actuar o s'ha d'expressar aquest gen...

Això significa fer el disseny del transgèn que consta de dues parts: una seqüència d'ADN anomenada *codificant*, que és la que porta la informació de la proteïna que es produirà a partir del transgen, i una seqüència *promotora* que determinarà on, quan i com s'expressarà.

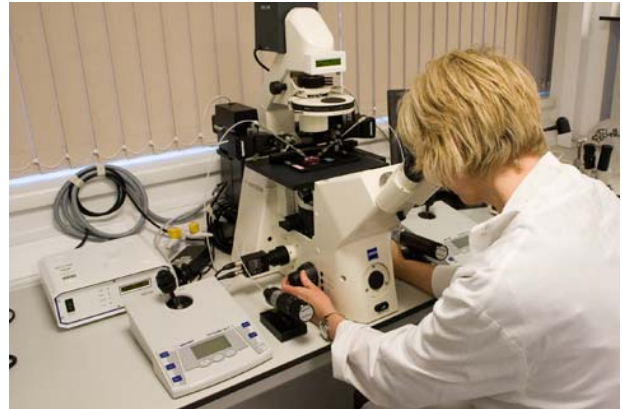
Un cop preparat el gen amb les seves dues seqüències, promotora i codificant, s'injecta en embrions de ratolins d'una sola cèl·lula. Per fer-ho cal retenir la cèl·lula amb una pipeta de subjecció que succona suaument l'embrió perquè amb una pipeta d'injecció es pugui introduir el material genètic exogen en un dels dos pronuclis de l'embrió (fig. 2). Això que és tan fàcil de dir és més complex de fer i requereix un equipament adequat i molta experiència tècnica (fig. 3).

Els embrions d'una cèl·lula s'obtenen de femelles superovulades i creuades amb un mascle. Després de la microinjecció, els embrions es transfereixen a una ratolina receptora, preparada hormonalment per a dur a terme la gestació. En transferir-li els embrions, la femella receptora els adopta com a propis.

En neixen diversos ratolins, només una part dels quals són transgènics, ja que no tots han arribat a incorporar el nou fragment d'ADN en el seu genoma. Cap a les tres setmanes deixen de mamar: és llavors que se'ls identifica, se'ls pren una mostra de teixit per analitzar el seu ADN genòmic i veure quins hi tenen incorporat el transgen.

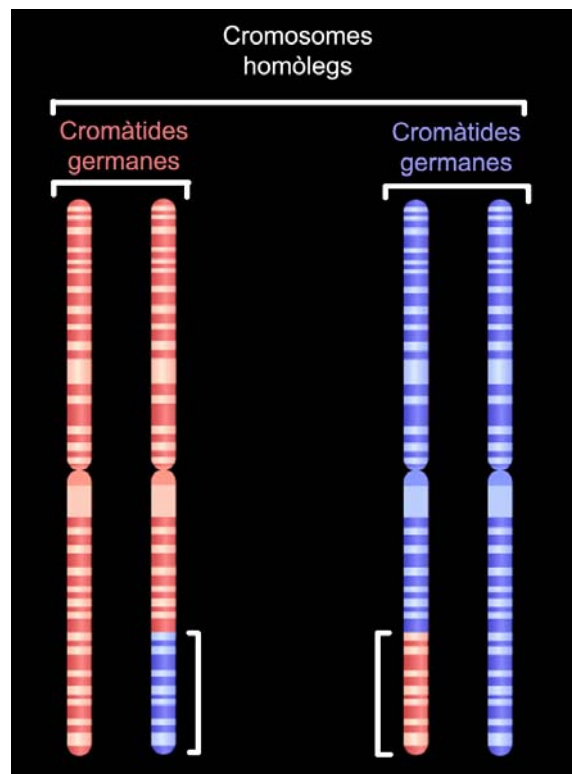


**Figura 2.** Microinjecció d'ADN en un pronuclí d'un embrió d'una cèl·lula. A l'esquerra, la micropipeta de subjecció que succona suaument la cèl·lula. A la dreta, la pipeta d'injecció. (font)



**Figura 3.** Equip per manipular embrions i realitzar-hi la microinjecció. Damunt de la platina es veuen la micropipeta de subjecció i la d'injecció. (font)

Un ratolí d'aquestes característiques, com que té integrats els canvis genètics a totes les seves cèl·lules, tant les somàtiques com les germinals, els podrà transmetre a la descendència, i és per això que se l'anomena *fundador*. Dels ratolins transgènics se n'estudia el fenotip per constatar quines són les característiques que el nou material genètic li ha proporcionat.



**Figura 4.** Recombinació homòloga entre dos cromosomes homòlegs. Els dos fragments indicats han estat intercanviats.

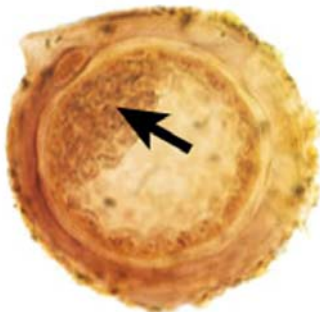
Aquesta tècnica té alguns problemes importats. Per una banda, la integració del genoma a l'atzar pot ocasionar l'alteració involuntària d'algun altre gen del genoma; i per altra, amb aquesta tecnologia de transgènesi per addició no es pot suprimir totalment l'expressió d'un gen endogen. És per aquests motius que s'han desenvolupat tècniques de transgènesi substitutiva.

### Transgènesi substitutiva

En aquest procés de transgènesi ja no es deixa res a l'atzar. Un cop triat un gen endogen concret que es vol modificar es tracta d'introduir-li una modificació per recombinació homòloga (fig. 4), ja sigui per suprimir l'expressió d'aquest gen (*Knock-out*) o per modificar-lo (*Knock-in*).

En aquesta tècnica hi tenen un paper clau les famoses cèl·lules mare embrionàries, CME (*embryony stem cells, ES cells*).

Per obtenir-les cal partir d'un embrió en fase de blastocist, concretament de la seva *massa cel·lular interna* (fig. 5) (*inner central mass, ICM*). La principal característica d'aquestes cèl·lules és de ser capaces de diferenciar per produir tots els tipus cel·lulars que constituiran la totalitat de l'organisme, una característica anomenada *pluripotència*.



**Figura 5.** Embrió de conill de 5 dies en fase de blastocist. Les cèl·lules indicades són les anomenades massa cel·lular interna. La resta de l'interior és sobretot líquid. (font)

Per obtenir un ratolí o animal *Knock out*, primer s'introdueix la modificació genètica d'interès en CME i després aquestes s'utilitzen per obtenir l'animal transgènic o *Knock out*. Per fer-ho s'utilitza un vector de recombinació, que és un fragment d'ADN que porta regions homòlogues amb el gen d'interès del genoma que es vol modificar. El vector de recombinació s'introdueix en les cèl·lules mare; és capaç de localitzar el gen d'interès del genoma i modificar-lo mitjançant recombinació homòloga. El resultat és una substitució de seqüències i el gen ja

no podrà produir la proteïna que donava. Finalment les CME modificades s'introdueixen per microinjecció en un blastocist (fig. 6) que serà implantat en una ratolina preparada que seguirà el procés d'embaràs, part i cria.



**Figura 6.** Microinjecció en un blastocist de cèl·lules mare embrionàries modificades. (font)



**Figura 7.** Ratolí quimera. Els diversos colors del pèl provenen de cèl·lules amb un gen actiu i d'altres cèl·lules amb el mateix gen suprimit. (font)

D'aquesta manera, l'animal que s'obtindrà tindrà dos tipus de cèl·lules: les que estan modificades i les que no. S'anomenen animals *quimera* (fig. 7).

Quan creuem aquest animal quimera amb un altre de control, s'obtenen ratolins heterozigots pel *Knock out* del gen d'interès. Si creuem dos ratolins heterozigots obtindrem animals homozigots per la modificació genètica o *Knock out* totals, que presenten el gen d'interès suprimit en totes les cèl·lules de l'organisme i d'ençà que s'originen.

Per altra banda es poden també obtenir animals *Knock out* condicionals, en els que es pot triar el teixit o tipus cel·lular on es produeix la modificació

genètica o el moment durant la vida de l'animal que s'inicia aquesta modificació.

Per les recerques en les tecnologies per introduir modificacions en gens específics de ratolí utilitzant cèl·lules mare embrionàries es va atorgar el premi Nobel en Medicina i Fisiologia del 2007, als Doctors Capecchi, Evans i Smithies (fig. 7).



**Figura 7.** Els guanyadors del premi Nobel de medicina i fisiologia de l'any 2007. (font)

El Dr. Evans va descobrir i desenvolupar el mètode de cultiu de cèl·lules mare embrionàries mentre que els Drs. Capecchi i Smithies van descobrir la modificació genètica en cèl·lules de mamífer per recombinació homòloga entre un ADN exogen i el genoma de les cèl·lules. Tots plegats van obrir el camp de recerca en ratolins *Knock-out*. Un camp de recerca, el dels animals transgènics, actualment ben actiu.

Per què serveixen?

Els animals transgènics tenen actualment un ventall molt ample d'aplicacions.

#### En ciència bàsica

- Estudiar la funció d'una proteïna, sobreexpressant el gen corresponent o alterant en l'espai o el temps el seu patró d'expressió.
- Estudi de promotors gènics.
- Mitjançant ratolins *Knock-out* és possible analitzar la funció d'un gen concret.

#### En biomedicina

- Estudiar la implicació d'un gen en el desenvolupament d'una malaltia, ja sigui per sobreexpressió o per inhibició.
- Si es té constància que un gen és responsable d'una malaltia (malaltia genètica) és possible obtenir models animals que poden ser un recurs

molt important per a l'estudi de fàrmacs o per trobar maneres efectives d'evitar el desenvolupament de la malaltia. Serà útil per a l'estudi de malalties com el parkinson o l'alzheimer.

- Provar noves aproximacions a la teràpia gènica, és a dir, utilitzar els gens per intentar curar. Seria relativament fàcil per a malalties monogèniques. Per exemple, fer expressar gens de factors de coagulació per a malalts d'hemofília.
- Es poden manipular animals o plantes perquè facin de bioreactors, és dir, donar-los els gens necessaris per produir determinats fàrmacs. Per exemple, ratolines que juntament amb la llet produeixen medicaments.
- Per utilitzar òrgans animals per a pacients humans (*xenotransplantament*) fa falta modificar els antígens de superfície per així reduir o evitar el rebuig. En aquests moments, els xenotransplantaments de cor, ronyons i illots pancreàtics són els que estan més avançats.



**Figura 8.** Comparació de dos salmons adults, un dels quals és transgènic i expressa l'hormona del creixement (font)

#### En producció animal

Mitjançant tècniques de transgènesi animal és possible millorar la producció de carn i peix per a l'alimentació humana.

- Augmentant la seva massa muscular (fig. 8) o la producció de llet.
- Fent-los més resistents a les malalties.
- Augmentant-ne el valor nutritiu.
- Millorant-ne la capacitat reproductora.

De totes formes, cal dir que actualment no està permesa la venda d'animals transgènics per a l'alimentació humana, però sí la de plantes transgèniques.