

# USO DE TRANSPOSONES COMO VECTORES EN LA INGENIERÍA GENÉTICA

MIGUEL ÁNGEL MANCEBO FERNÁNDEZ FACULTAT DE BIOCIÈNCIES

## INTRODUCCIÓN

- ¿Es posible el uso de transposones como herramienta genética para la transgénesis?

Un transposón es una secuencia de DNA que se mueve de forma autosuficiente por el genoma

Retrotransposones  
Mecanismo de transposición: *copy and paste*

Transposon de DNA  
Mecanismo de transposición: *cut and paste*

## VENTAJAS FRENTA A RETROVIRUS

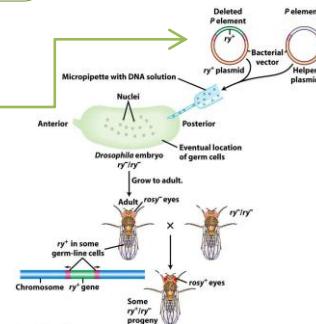
- 1. Uso a bajas concentraciones
- 2. Pueden incorporar una cantidad de DNA mayor
- 3. No infectan al experimentador

## REQUISITOS

- 1. Incorporación de una mayor longitud de material genético (mínimo un gen)
- 2. Que puedan ser movilizados por la transposasa
- 3. Que tengan un uso fácil y un amplio rango de huéspedes
- 4. Que su integración en los cromosomas sea eficiente
- 5. Debe mantenerse estable durante posteriores generaciones

## ELEMENTOS MÓVILES DE ESTUDIO

- Disociación en dos componentes para evitar la inestabilidad genética que produce una transposición masiva.

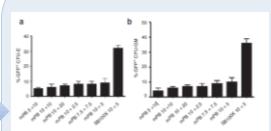


## ELEMENTO P

- Introducción del gen *ry* en un embrión de *Drosophila*
- Embrión M, de machos M y hembras P (M → sin elemento P)
- Disociación en dos componentes
- Evitar la disgénesis híbrida (adultos estériles a causa de la inestabilidad genética por transposición masiva)<sup>3</sup>

TRANSPOSÓN	FAMILIA	SECUENCIA DIANA	PREFERENCIA DE INTEGRACIÓN	CAPACIDAD DE CARGA	OPI (OVERPRODUCTION INHIBITION)	IMPRENTA	TRANSPOSASA HÍPERACTIVA
Sleeping Beauty	Tc1/mariner	TA	31-39% en genes	~10 kb	Sí	C(A/T)GTA	SB100X
Tol2	hAT	Aleatoria	39-48% en genes	>11 kb	Limitada	Aleatoria	No
PiggyBac	PiggyBac	TTAA	47-67% en genes	100 kb	Indeterminada	No	hyPBasa mPB

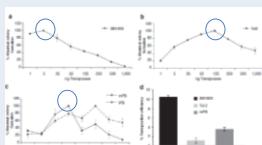
## INDUCCIÓN DE CÉLULAS CD34<sup>+</sup> HEMATOPOYÉTICAS



El gráfico muestra el porcentaje CFU-E/GM en función a los transposones utilizados (SB100X y mPB) y las diferentes cantidades empleadas<sup>4</sup>

SB100X es más eficiente que mPB en la inserción de genes para la diferenciación de estas células a granulocitos y eritrocitos.

## OPI EN CÉLULAS HEla



Después del pico de transposición hay un descenso en los tres

Sugiere que existe una inhibición a elevadas cantidades de transposasa

Evita así la inestabilidad por transposición masiva

Gráfico que muestra, a bajas cantidades de plásmido donador del gen de interés (10ng), como varía el porcentaje de máxima formación de colonias (células HeLa) con el gen insertado, en función de la cantidad de transposasa inculcada.<sup>4</sup>

## INSERCIÓN DE Tol2 EN CÉLULAS HEla



Imagen que muestra la probabilidad de la estructura nucleotídica de la secuencia diana del transposón Tol2<sup>4</sup>

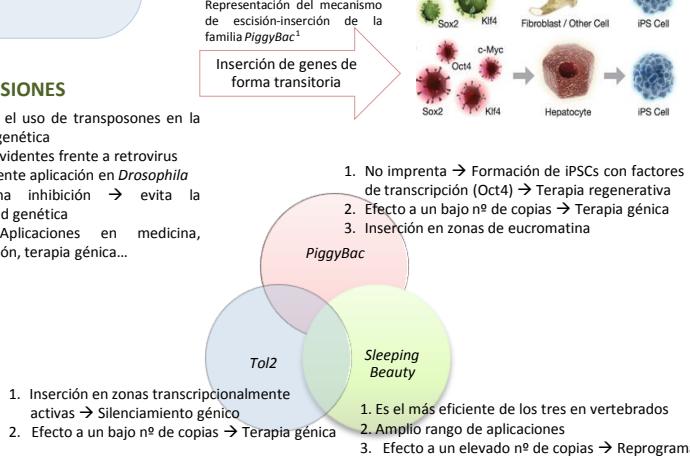


La inserción en su secuencia diana bastante aleatoria, pero a su vez se inserta en zonas cromosómicas transcripcionalmente activas

Imagen que muestra 113 inserciones de Tol2 en diferentes locus del genoma de células Hela<sup>4</sup>

## CONCLUSIONES

- Es posible el uso de transposones en la ingeniería genética
- Ventajas evidentes frente a retrovirus
- Útil y eficiente aplicación en *Drosophila*
- Existe una inhibición → evita la inestabilidad genética
- Futuro: Aplicaciones en medicina, secuenciación, terapia génica...



1. Inserción en zonas transcripcionalmente activas → Silenciamiento génico
2. Efecto a un bajo nº de copias → Terapia génica

1. No impronta → Formación de iPSCs con factores de transcripción (Oct4) → Terapia regenerativa
  2. Efecto a un bajo nº de copias → Terapia génica
  3. Inserción en zonas de eucomatina
1. Es el más eficiente de los tres en vertebrados
  2. Amplio rango de aplicaciones
  3. Efecto a un elevado nº de copias → Reprogramación de células tumorales
  4. Más eficiente en inducción de células multipotentes de la línea hematopoyética
  5. Inserción en zonas heterocromáticas

## BIBLIOGRAFÍA

1. Skipper, K. A., et al. DNA transposon-based gene vehicles - scenes from an evolutionary drive. *Journal of Biomedical Science* **20**:92, 1-23 (2013)
2. Coll, J. M. El Transposón SB de salmonidos como vector para transferencia de genes en vertebrados. **16** (2), 2001
3. Rubin, G. M. & Spradling, A. C. Genetic transformation of *Drosophila* with transposable element vectors. *Science* **218**, 348-353 (1982).
4. Grabundzija, I., et al. Comparative analysis of transposable element vector systems in human cells. *Mol. Ther.* **18**, 1200 - 1209 (2010).