



XXVI Congreso de la SEBBM, Martes, 16 de Septiembre de 2003  
Reunión del grupo SEBBM de: **Transgénesis de Mamíferos**  
Universidad de A Coruña, Facultad de Informática, Aula 2.2, (15:30h)

Título de la reunión monográfica: **Generación y análisis de ratones transgénicos y mutantes en España: situación actual y perspectiva**

Patrocinadores: SEBBM, Harlan, BIONOSTRA S.L. y Charles River Laboratories

Coordinador: **Lluís Montoliu**. Centro Nacional de Biotecnología, Madrid

Ponentes

- 15:30-15:40** **Patrick Hardy**. CHARLES RIVER LABORATORIES, Barcelona  
*Genetically modified rodents: key issues in project management*
- 15:40-15:50** **Ana C. Martín**. BIONOSTRA S.L., Madrid  
*Herramientas biotecnológicas para llevar a cabo la selección asistida por marcadores*
- 15:50-16:00** **Graham Tobin**. HARLAN, Barcelona.  
*Diets for genetically-modified and poorly-performing strains of rodents*
- 16:00-16:10** **Oscar Pintado**. Centro de Experimentación Animal, Univ. de Sevilla  
*Creación de una unidad de ratones genéticamente modificados en el CPYEA de la universidad de Sevilla*
- 16:15-16:25** **Pedro Muniesa**. Dept. de Anatomía, Embriología y Genética, Fac. de Veterinaria, Univ. de Zaragoza  
*Unidad de transgénesis de la Universidad de Zaragoza: consolidación y futuro*
- 16:30-16:40** **Marta Casado**. Instituto de Biomedicina de Valencia (IBV-CSIC)  
*Perspectivas de la unidad de generación de animales transgénicos del IBV-CSIC*
- 16:45-16:55** **Joana Visa**. Servei d'Experimentació Animal, Parc Científic de Barcelona (PCB)  
*Monitorización de la unidad de transgénesis del servei d'experimentació del parc científic de Barcelona: primer año de funcionamiento*
- 17:00-17:10** **Ángel Ramírez**. Dept. de Biología Molecular y Celular, Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), Madrid  
*Manipulación genética de animales en el CIEMAT*
- 17:15-17:25** **Anna Pujol**. Centro de Biotecnología Animal y Terapia Génica (CBATEG) de la Univ Autónoma de Barcelona  
*El Centro de Biotecnología Animal y Terapia Génica (CBATEG) de la Universidad Autónoma de Barcelona*
- 17:30-17:40** **Pilar Pallarés**. Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC), Madrid  
*Servicio de Transgénesis, KO y Congelación del CNB-CSIC*
- 17:45-17:55** **Belén Pintado**. Dept. de Reproducción Animal, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Madrid  
*Unidad de transgénicos del INIA: 10 años de microinyección*
- 18:00-18:10** **Sagrario Ortega**. Unidad de ratones transgénicos, Programa de Biotecnología, Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), Madrid  
*Generación de modelos murinos para el estudio de genes implicados en cáncer*
- 18:15-18:25** **Manuel Sánchez Martín**. Instituto de Biología Molecular y Celular del Cáncer (IBMCC), Centro de Investigación del Cáncer (CIC), Salamanca  
*Estudio de desarrollo normal y cáncer en ratón: ratones modificados genéticamente para el estudio del cáncer humano*
- 18:30-18:40** **Mariona Arbonés**. Centre de Regulació Genòmica (CRG), Barcelona  
*Estudio funcional de genes del cromosoma 21 humano mediante la utilización de ratones genéticamente modificados*

SEBBM 2003 - Ref. R07-001

Autor que presenta: **Pintado Sanjuán, C. Oscar**

E-mail: oscarpaintado@us.es

Centro: Centro de Producción y Experimentación Animal. Universidad de Sevilla

Sesión: Reunión Transgénesis de Mamíferos

## **CREACIÓN DE UNA UNIDAD DE RATONES GENÉTICAMENTE MODIFICADOS EN EL CPYEA DE LA UNIVERSIDAD DE SEVILLA**

Pintado, C.O.

Centro de Producción y Experimentación Animal. Universidad de Sevilla

La utilización de animales genéticamente modificados es una herramienta de trabajo fundamental hoy en día en la investigación biomédica.

Aunque ya existe una ingente cantidad de ratones modificados genéticamente, la producción de nuevos ratones transgénicos no es probable que se ralentice a corto plazo puesto que las combinaciones posibles entre distintos promotores, diferentes genes, más o menos regiones reguladoras, ratones transgénicos condicionales etc. resulta en una cantidad prácticamente infinita de posibilidades.

En España son pocos los centros donde se producen animales transgénicos y en Andalucía no existía ninguna institución que pudiera facilitar a los investigadores este servicio. Cuando un grupo de investigación estaba interesado en la producción de un ratón transgénico debía encargarlo fuera con el consiguiente gravamen en los costes de la investigación.

Por este motivo, y para rentabilizar las inversiones ya realizadas, decidimos incorporar en nuestro centro la capacidad de producción de ratones modificados genéticamente.

En febrero de 2001 obtuvimos nuestro primer animal transgénico de sobreexpresión. En dos años se produjeron 16 líneas diferentes en fondo FVB y C57/Bl6Jlco. En febrero de 2003 tuvimos nuestro primer animal knock-out utilizando la línea R1.

En este trabajo se detalla cómo se ha concebido y creado esta unidad, las técnicas disponibles, las técnicas que se están desarrollando y los costes que conlleva, así como los gastos de explotación de este servicio.

© 2003 SEBBM.

SEBBM 2003 - Ref. R07-002

Autor que presenta: **PALLARES GARCIA, M<sup>a</sup> DEL PILAR**

E-mail: pallares@cnb.uam.es

Centro: CENTRO NACIONAL DE BIOTECNOLOGIA-CSIC

Sesión: Reunión Transgénesis de Mamíferos

### **SERVICIO DE TRANSGENICOS, KO Y CONGELACIÓN DEL CNB-CSIC**

Pallares,P

Animalario- Centro Nacional de Biotecnología-CSIC .Madrid.

Este servicio se inició en el año 1995 cuando dos investigadores pusieron a punto la técnica de microinyección de DNA en pronucleo.

Desde entonces, se han desarrollado nuevos procedimientos para la obtención de ratones modificados genéticamente (RMG) métodos como la microinyección en 8 células, microinyección en blastocisto o agregación morular en lo referente a KO o microinyección de lentivirus para transgénicos en cepas con fragilidad embrionaria.

Este equipo, en la actualidad integrado por 7 personas, se ha especializado además, en la congelación de embriones por vitrificación y congelación de esperma. Ofrece estas prestaciones al centro y estudian nuevas posibilidades de trabajo con embriones, entre otros, métodos como ICSI y electrofusión para obtención de KO.

En el recorrido de los 8 años, se han creado mas de 30 líneas de transgénicos, 20 KO y se crioconservan 26 líneas de RMG(embrión y esperma), sin olvidar las 17 rederivadas que procedían de otros centros con algún tipo de contaminación y se mejoró su status sanitario, elevándolo a SPF.

M<sup>a</sup> Pilar Pallarés García

Jefe del Servicio de Animalario

Centro Nacional de Biotecnología.

Universidad Autonoma de Madrid.

© 2003 SEBBM.

Autor que presenta: **Sanchez Martín, Manuel**

E-mail: adolsan@usal.es

Centro: Centro de Investigación del Cáncer

Sesión: Reunión Transgénesis de Mamíferos

**ESTUDIO DE DESARROLLO NORMAL Y CANCER EN RATON: RATONES MODIFICADOS GENÉTICAMENTE PARA EL ESTUDIO DEL CÁNCER HUMANO.**

Sanchez-Martin,M.(1); Gonzalez-Herrero,I.(1); Perez-Caro,M.J.(1); Vicente-Dueñas,C.(1); Bermejo-Rodriguez,C.(1); Perez-Mancera,P.A.(1); Pintado,B.(2); Sanchez-Garcia,I.(1)

(1)Centro de Investigación del Cáncer (CSIC/USAL) Salamanca

(2)Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria.

Desde que fuera revelada la estructura del DNA hace 50 años, comenzó una sucesión imparable de descubrimientos que continúa en nuestros días. De hecho, la genética es la rama de la Biología que ha experimentado un mayor crecimiento. Alteraciones a este nivel se asocian a diferentes patologías humanas, entre ellas, quizás la que más repercusión social tenga sea el cáncer. En esta se encuentran afectados genes que regulan el número de células (proliferación y muerte celular), su diferenciación e incluso su localización. Estas alteraciones pueden ser mutaciones, deleciones, amplificaciones y traslocaciones. Las traslocaciones suponen, con gran frecuencia, la creación de un gen de fusión, y son, en general, características de tumores de origen mesemquimal. Cabe reseñar que muchas de estas traslocaciones se asocian específicamente con un determinado fenotipo tumoral y que aún no se comprende en su totalidad cuál es el mecanismo íntimo que lo produce. La introducción de estos oncogenes, mediante transgénesis convencional y recombinación homóloga, ha permitido obtener modelos que posibilitan el estudio in vivo de los procesos por los que estas alteraciones dirigen la transformación tumoral. Nuestro grupo de investigación lleva varios años implicado en estos estudios, para los cual hemos desarrollado distintos modelos de ratón que rememoran los procesos neoplásicos humanos, y que nos parecen de crucial importancia para el estudio y posible tratamiento de la enfermedad humana.

SEBBM 2003 - Ref. R07-004

Autor que presenta: **Pintado Sanjuanbenito, Belen**

E-mail: pintado@inia.es

Centro: INIA Dpto Reprod Animal

Sesión: Reunión Transgénesis de Mamíferos

#### **UNIDAD DE TRANSGÉNICOS DEL INIA: 10 AÑOS DE MICROINYECCIÓN**

Pintado,B.; Gutiérrez-Adán,A.; Jiménez-Jiménez,A.; Fernández,R.; Nuno Moreira,P.; Ramírez,M.A.; Pérez-Crespo,M.; Wiebe,J.

INIA. Dpto de Reproducción Animal. Carretera de La Coruña Km. 5,9. 28040 Madrid

Los ratones transgénicos son una de las herramientas más potentes para la caracterización de la información genética y su utilización se ha extendido de forma generalizada. Sin embargo, es una técnica compleja que requiere la puesta a punto de numerosos aspectos relacionados no sólo con la Biología Molecular, sino también con la Embriología y la Reproducción Animal. Se presentarán algunos ejemplos de factores que condicionan el éxito de la metodología, tanto en el aspecto molecular como en el reproductivo. La estrategia más eficiente en aquellos laboratorios que requieren la transgénesis de forma esporádica, es recurrir a grupos con experiencia en la producción de animales transgénicos. Esto ha dado lugar a la creación de unidades especializadas de este servicio. A lo largo de 10 años, nuestro grupo ha producido más de 1000 fundadores a partir de más de 50 construcciones de características y funcionalidad muy diversa. Gracias a ello hemos acumulado una experiencia muy extensa en este campo en nuestro país lo que ha permitido transferir tecnología a otros grupos. En relación a la metodología propiamente dicha nuestros objetivos se han centrado en aumentar su eficiencia y explorar sistemas alternativos de introducción de nueva información genética, tales como la transgénesis mediada por espermatozoides o la transferencia nuclear.

© 2003 SEBBM.

Autor que presenta: **Tovar Herrador, Victoria Eugenia**

E-mail: vtovar@cnb.uam.es

Centro Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC)

Sesión: Reunión Transgénesis de Mamíferos

### **CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE LA REGIÓN CONTROLADORA DE LOCUS (LCR) DEL GEN DE LA TIROSINASA DEL RATÓN EN EL ALELO ENDÓGENO Y EN TRANSGENES**

Tovar,V.; Regales,L.; Giraldo, P.; Jiménez,E.; Lavado,A.; Cozar,P.; Cantero,M.; Montoliu, L.

Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC), Departamento de Biología Molecular y Celular, Campus de la UAM en Cantoblanco, 28049 Madrid

Con objeto de estudiar los dominios de expresión de mamíferos y su relevancia en la transferencia génica se dispone de un modelo experimental especialmente indicado, basado en el gen de la tirosinasa y la corrección del albinismo en ratones transgénicos. Experimentos anteriores realizados en sistemas heterólogos (*Drosophila*) y en ratones transgénicos sugieren la existencia de una actividad aisladora genómica en la vecindad de la región controladora de locus (LCR) de este gen. En este trabajo se plantea la caracterización funcional de estas secuencias LCR/aisladoras genómicas analizando su papel en el propio gen endógeno en comparación con los fenotipos obtenidos a partir de diversas construcciones transgénicas. Mediante técnicas de recombinación homóloga en células ES se ha diseñado una estrategia para eliminar la secuencia LCR del gen endógeno de la tirosinasa. Se ha preparado un vector de recombinación homóloga usando la metodología loxP/CRE recombinasa, con objeto de poder regular la inactivación de esta secuencia LCR. Adicionalmente se están preparando ratones transgénicos con una expresión de la CRE recombinasa inducible restringida a células que expresan el gen de la tirosinasa. Los animales mutantes que se obtengan podrán compararse con otros animales transgénicos, ya obtenidos en el laboratorio, en los cuales la eliminación total o parcial de la secuencia LCR lleva asociada la pérdida importante o limitada, respectivamente, de los patrones normales de pigmentación.

Autor que presenta: **Regales Álvarez, Lucía**

E-mail: lregales@cnb.uam.es

Centro: Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC)

Sesión: Reunión Transgénesis de Mamíferos

### **ANÁLISIS FUNCIONAL Y ESTRUCTURAL DE LA REGIÓN AISLADORA GENÓMICA ASOCIADA A LA LCR DEL GEN DE LA TIROSINASA DE RATÓN**

Regales,L.(1); García-Díaz, A.(1); González,I.(2); Giraldo,P.(1); Busturia,A.(2); Montoliu,L.(1)

(1) Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC), Departamento de Biología Molecular y Celular, Campus de la UAM en Cantoblanco, 28049 Madrid.

(2) Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (CBMSO-CSIC/UAM), Campus de la UAM en Cantoblanco, 28049 Madrid.

Experimentos previos han demostrado la existencia de una región con actividad aisladora genómica asociada a la región controladora de locus (LCR) del gen de la tirosinasa de ratón. En este trabajo nos planteamos abordar la caracterización funcional y estructural de estas secuencias. Para ello se han diseñado experimentos en sistemas heterólogos (*Drosophila*) con objeto de evaluar una de las propiedades asociadas a las regiones aisladoras: su capacidad de interferencia o bloqueo entre activadores transcripcionales y promotores. Experimentos análogos se han abordado en células de mamífero en cultivo junto con controles correspondientes a secuencias aisladoras conocidas (locus de la beta-globina de pollo). La secuencia LCR del gen de la tirosinasa de ratón contiene, por lo menos, un sitio hipersensible al corte por la enzima DNasa I, que es específico de células que expresan el gen. Se está evaluando la presencia de hipersensibilidades adicionales (y de su especificidad tisular) que pudieran corroborar la existencia de complejos DNA-proteína, puestos de manifiesto en experimentos *in vitro* mediante geles de retardo (EMSA). Mediante el uso de anticuerpos específicos se ha procedido a evaluar la posible asociación entre estos complejos con factores de transcripción conocidos. La relevancia funcional de estas secuencias se ha evaluado adicionalmente mediante el estudio comparado de secuencias homólogas en el genoma de otras especies de mamífero.

Autor que presenta: **Ramírez Merino, Angel**

E-mail: a.ramirez@ciemat.es

Centro: CIEMAT

Sesión: Reunión Transgénesis de Mamíferos

#### **MANIPULACIÓN GENÉTICA DE ANIMALES EN EL CIEMAT**

Ramírez,A.(1); Page,A.(1); Martínez,J.(1); Bravo,A.(2); Jorcano,J.(1)

(1)Programa de Daño, Reparación e Ingeniería Tisular de Epitelios. Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT). Madrid.

(2)Departamento de Patología Animal. Univ Santiago de Compostela.

En el CIEMAT disponemos de un animalario dedicado mayoritariamente a la estabulación de ratones en condiciones convencionales; una parte, actualmente en crecimiento, está dedicada a ratones inmunodeficientes en condiciones de barrera. En los últimos 13 años, una de las líneas importantes en las actividades realizadas en nuestro Departamento ha sido la generación y análisis de ratones transgénicos. La técnica más empleada por nosotros es la microinyección de DNA en el pronúcleo de embriones de una célula, realizada mayoritariamente en fondos genéticos híbridos. También hemos utilizado recombinasas específicas de secuencia (sistema Cre/loxP) para la manipulación del genoma de ratón, bien al inicio del desarrollo (mediante la inyección de vectores de expresión de la recombinasa Cre en embriones de una célula), bien de manera específica de tejido; en concreto, hemos generado y analizado numerosas líneas de transgénicos con expresión de diversas formas de la recombinasa Cre (constitutiva o inducible) en distintas subpoblaciones de células epiteliales.

Otras técnicas que utilizamos son el trasplante de ovario y la crioconservación de líneas interesantes de animales (mediante congelación de espermatozoides y fecundación in vitro). Es también destacable la organización y realización, con ayuda de la SECAL y de investigadores de diversos centros, de un curso sobre criopreservación de embriones y gametos, del cual se han realizado ya tres ediciones.

SEBBM 2003 - Ref. R07-008

Autor que presenta: **Casado Pinna, Marta**

E-mail: [mcasado@ibv.csic.es](mailto:mcasado@ibv.csic.es)

Centro: Instituto de Biomedicina de Valencia

Sesión: Reunión Transgénesis de Mamíferos

### **PERSPECTIVAS DE LA UNIDAD DE GENERACIÓN DE ANIMALES TRANSGÉNICOS DEL IBV-CSIC**

Cucarella, C.; Casado Pinna, M.

Instituto de Biomedicina de Valencia. Jaime Roig 11. 46010 Valencia. [mcasado@ibv.csic.es](mailto:mcasado@ibv.csic.es)

Los animales transgénicos constituyen una de las herramientas más poderosas que existen para comprender cómo funcionan los genes a lo largo del desarrollo. Además, se ha demostrado su utilidad para estudiar enfermedades humanas. La Unidad de Generación de Animales Transgénicos del Instituto de Biomedicina de Valencia (CSIC), en funcionamiento desde julio de 2002, tiene como objetivo primordial garantizar el soporte tecnológico que permita abordar, a los diferentes grupos de investigación ubicados en el Instituto y a la comunidad científica en general, la generación de modelos animales por manipulación genética. En la actualidad trabajamos en la creación de modelos animales que nos permitan estudiar procesos tan complejos como la epilepsia y el cáncer y hemos iniciado el uso de lentivirus para la generación de animales "knockdown" condicionales.

© 2003 SEBBM.

Autor que presenta: **Garcia Martinez, Miquel**

E-mail miguel.garciam@campus.uab.es

Centro: Centro de Biotecnología Animal y Terapia Génica, Universidad Autónoma de Barcelona

Sesión: Reunión Transgénesis de Mamíferos

**RATÓN KNOCK-OUT DEL GEN DE LA PFK-1M; UN MODELO MURINO DE GLUCOGENOSIS TIPO VII.**

Garcia, M.(1); Pujol, A.(1); Riu, E.(1); Arbós, A.(1); Ferre, T.(1); Otaegui, P.(1); Roca, C.(1); Felíu, J.E.(2); Bosch, F.(1)

(1)Centre de Biotecnologia Animal i Teràpia Gènica (CBATEG). Universitat Autònoma de Barcelona.

(2)Dpt.Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Medicina.

Universidad Autónoma de Madrid

La glucogenosis tipo VII, o enfermedad de Tarui, es un desorden muscular caracterizado por la aparición de un cuadro clínico de fatiga muscular, hemólisis y mioglobulinuria después del ejercicio. Está asociada a una acumulación anormal de glucógeno muscular, debida a un incremento de la síntesis y al bloqueo de su movilización. El defecto molecular responsable es una deficiencia en la isoenzima muscular de la fosfofructoquinasa 1 (PFK-1M). Con el objetivo de obtener un modelo murino de esta enfermedad, hemos generado ratones knock-out heterocigotos (PFK-1M KO +/-) y homocigotos (PFK-1M KO -/-) para esta enzima. En los ratones PFK-1M KO +/- se observó una disminución del 50% tanto en los niveles de mRNA como en la actividad del enzima. Sin embargo, estos animales no presentaban alterados los niveles de glucógeno muscular. En cambio, en los ratones PFK-1M KO -/- no se detectó expresión del gen ni actividad de la enzima. Estos animales presentaban niveles de glucógeno muscular tres veces superiores a los de los controles de forma análoga a lo que se ha descrito en pacientes de glucogenosis tipo VII. Por lo tanto, estos resultados indican que hemos obtenido un ratón carente de actividad PFK-1M. Estos animales representan el primer modelo murino de glucogenosis tipo VII para estudiar la enfermedad y ensayar nuevas aproximaciones terapéuticas.

SEBBM 2003 - Ref. R07-010

Autor que presenta: **Pujol Altarriba, Anna**

E-mail: anna.pujol@uab.es

Centro: Centro de Biotecnología Animal y Terapia Génica. Universidad Autónoma de Barcelona.

Sesión: Reunión Transgénesis de Mamíferos

### **CENTRO DE BIOTECNOLOGÍA ANIMAL Y TERAPIA GÉNICA (CBATEG) DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BARCELONA.**

Pujol, A.; Chillón, M.; Ruberte, J.; Pumarola, M.; Ferré, T.; Otaegui, P.; Bosch, F.

Centre de Biotecnologia Animal i Teràpia Gènica (CBATEG). Universitat Autònoma de Barcelona. 08193-Bellaterra, Barcelona.

El CBATEG es un centro de investigación especializado en desarrollar, producir y utilizar técnicas de transferencia génica en Biomedicina. Dentro del CBATEG se consideraran dos grandes áreas de actividad:

1- Desarrollar proyectos propios de investigación centrados en estudiar las causas que dan lugar a diversas enfermedades metabólicas (en especial diabetes mellitus tipo 1 y 2, obesidad y sus complicaciones secundarias) mediante la utilización de animales transgénicos, así como, en desarrollar nuevas aproximaciones de terapia génica para estas enfermedades.

2- Ofrecer a la comunidad científica sus servicios para la generación y análisis de modelos animales y la producción de vectores virales y no virales para la transferencia génica.

Para ello cuenta con las siguientes Unidades:

- Unidad de Animales Transgénicos. Diseño y generación de ratones transgénicos convencionales y knock-out/in totales o específicos de tejido i/o inducibles, criopreservación de embriones y esperma de ratón, fertilización in vitro y rederivación de animales.

- Unidad de Producción de Vectores y Transferencia Génica. Diseño y producción; control de calidad de vectores virales (adenovirus, virus adenoasociados, lentivirus HIV); administración in vivo de vectores virales y no virales.

- Unidad de Análisis Metabólico.

- Unidad de Análisis Morfológico.

- Unidad de Patología de ratón.

- Unidad de Estabulación de ratones manipulados genéticamente libres de patógenos específicos (SPF).

© 2003 SEBBM.

Autor que presenta: **Marqués Martínez, Margarita**

E-mail: dp1mmm@unileon.es

Centro: Instituto de Desarrollo Ganadero

Sesión: Reunión Transgénesis de Mamíferos

### **MODIFICACIÓN GENÉTICA DIRIGIDA EN ANIMALES DE GRANJA: ESTRATEGIAS DE TRABAJO PARA LA MEJORA DE SU EFICIENCIA**

Marqués,M.M.(1); Thomson,A.J.(2); McWhir,J.(2); San Primitivo,F.(3)

(1) Instituto de Desarrollo Ganadero. Universidad de León.

(2) Department of Gene Expression and Development. Roslin Institute. UK

(3) Departamento de Producción Animal I. Universidad de León.

El desarrollo de las técnicas de transgénesis y modificación genética dirigida ("gene targeting"), en las especies domésticas, ha sido muy inferior al obtenido en ratón. Las principales causas son la baja eficiencia de la microinyección pronuclear, junto con los intentos fallidos de aislamiento de células ES. La tecnología de clonación mediante transferencia nuclear, ha ampliado el potencial de los animales transgénicos hasta límites insospechados hace unos años ya que, finalmente, es posible realizar modificaciones genéticas precisas en células en cultivo, que luego podrán ser utilizadas como donantes de núcleo para generar transgénicos. La obtención de animales resistentes a determinadas enfermedades, o productores de proteínas de interés, el desarrollo de transgénicos como modelo de enfermedades humanas o como donantes de órganos (xenotransplantes), son sólo algunos ejemplos de posibles aplicaciones. Sin embargo, todavía existen puntos críticos que frenan el progreso en este área: (a) ausencia de expresión fiable de los transgenes, (b) escasa eficiencia del proceso de recombinación homóloga en células somáticas, (c) dificultad para modificar genes que no se expresan en las células donantes de núcleo y (d) imposibilidad de mantener estas células en cultivo sin que entren en senescencia.

Presentamos nuestras estrategias de trabajo para intentar conseguir una mayor eficiencia del proceso de "gene targeting" en animales domésticos.

SEBBM 2003 - Ref. R07-012

Autor que presenta: **Carnicer Hijazo, Ricardo**

E-mail: riccar@unizar.es

Centro Departamento de Bioquímica y Biología Molecular

Sesión: Reunión Transgénesis de Mamíferos

### **SEVERA ESTEATOSIS EN ANIMALES DEFICIENTES EN CISTATIONINA BETA-SINTASA COMO CAUSA DE MORTALIDAD NEONATAL**

Guzmán-García, M.A.(1); Carnicer, R.(1); Navarro, M.A.(1); Arnal, C.(2); Acín, S.(1); Arbonés, J.M.(1); Maeda, N.(3); Osada, J.(1)

(1)Departamentos de Bioquímica y Biología Molecular

(2)Patología Animal. Universidad de Zaragoza

(3)Department of Pathology. University of North Carolina at Chapel Hill. USA.

Los animales deficientes en cistationina beta sintasa se crearon como modelos de hiperhomocisteinemia. Los animales homocigotos presentan una elevada mortalidad neonatal que dificulta el uso de los mismos para verificar la influencia de la hiperhomocisteinemia severa en los diversos sistemas biológicos. Al objeto de verificar la causa de muerte de estos animales, se les ha seguido su mortalidad tras diversas estrategias enfocadas a la recuperación del máximo número de ratones homocigotos posibles. Se probaron diversos enfoques de aporte de metabolitos relacionados con el metabolismo de la homocisteina tales como colina, glicocola, taurina, así como un abordaje quirúrgico tal como el transplante de ovarios. Con los datos de mortalidad y el análisis histopatológico de los tejidos de los diferentes animales se ha llegado a la conclusión de que la esteatosis es la causa de muerte en este tipo de animales y que ninguna de las estrategias fue eficaz para evitar la aparición de dicha patología.

© 2003 SEBBM.

Autor que presenta: **ACIN PEREZ, REBECA**

E-mail: rbkacin@posta.unizar.es

Centro: UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

Sesión: Reunión Transgénesis de Mamíferos

### **GENERACIÓN DE MODELOS ANIMALES DE ENFERMEDADES PROVOCADAS POR ALTERACIONES EN EL DNA MITOCONDRIAL**

Acin-Perez,R. (1); Brown,D.T.(2); Tatangelo, L.(3); Tiveron, C.(3); Freyer,C.(2); Moreno-Loshuertos, R.(1); Fernandez-Silva, P.(1); Perez-Martos, A.(1); Turnbull,D.M.(2); Agostino,A.(4); Tiranti,V.(4); Zeviani,M.(4); Lightowlers,R.N.(2); Enriquez,J.A.(1).

(1)Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular. Universidad de Zaragoza. Spain

(2)Department of Neurology. University of Newcastle. UK

(3)Transgenic Mice Service Center. Istituto Regina Elena. Rome. Italy

(4)Division of Molecular Neurogenetics.National Neurological Institute "C.Besta". Milano. Italy

La generación de modelos animales de enfermedades causadas por alteraciones del DNA mitocondrial (mtDNA) se ha visto frenada hasta la fecha por la imposibilidad de transformar mitocondrias animales y por tanto de manipular el mtDNA. Sin embargo, en nuestro laboratorio hemos diseñado una metodología para generar y aislar mutantes en el mtDNA en células de ratón que pueden ser utilizados para este fin.

Aunque la mitocondria de células animales no puede ser transformada, si es posible transferir mitocondrias intactas (y por tanto mtDNA) entre células. Se ha demostrado también que se puede transferir mitocondrias desde células en cultivo a embriones de ratón mediante la previa transformación de células pluripotenciales embrionarias (ES) o directamente a embriones. En nuestro laboratorio se han transferido mitocondrias portadoras de mutaciones patológicas a células ES de ratón que han sido inyectadas en blastocistos e implantadas en hembras pseudogestantes. En paralelo, se han transferido mitocondrias portadoras de mutaciones en su mtDNA a embriones en estadio de una o dos células que fueron también implantados en hembras pseudogestantes. Ambas metodologías han resultado en el nacimiento de ratones con la mutación exógena introducida.

Autor que presenta: **Parra Arrondo, Beatriz**

E-mail: parra@inia.es

Centro Centro de Investigación en Sanidad Animal

Sesión: Reunión Transgénesis de Mamíferos

**RATONES TRANSGÉNICOS QUE EXPRESAN UN OCTAPÉPTIDO REPETIDO ADICIONAL EN LA PROTEÍNA DEL PRIÓN (PrP) MUESTRAN UN COMPORTAMIENTO DIFERENCIAL RESPECTO A AQUELLOS QUE EXPRESAN LA PrP WILD TYPE**

Parra, B.(1); Castilla, J.(1); Brun, A.(1); Gutiérrez, A.(2); Pintado, B.(2); Ramírez, M.A.(2); Cano, M.J.(1); Salguero, F.J.(1); Díaz-Sansegundo, F.(1); Torres, J.M.(1).

(1) Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA). INIA. Valdeolmos. 28130 Madrid.

(2) Departamento de Reproducción Animal y Recuperación de Recursos Zoonosarios. INIA. Carretera de La Coruña. Km 5,9. Madrid.

Las mutaciones insercionales en la región de los octapéptidos repetidos (OR) de la proteína del prión (PrP) humana se asocian a menudo a encefalopatías espongiformes transmisibles (EETs) familiares. En este estudio, ratones transgénicos que expresan la PrP bovina con un octapéptido adicional (bo7ORTg) muestran tiempos de incubación de la enfermedad reducidos después de su inoculación intracerebral con el agente patógeno (PrPSc) bovino respecto a aquellos ratones transgénicos que expresan la PrP con 6OR (bo6ORTg). Los tiempos de incubación se vieron influenciados drásticamente por los niveles de expresión de la PrP en ambos modelos. El 100% de ratones transgénicos que expresan las PrP bovinas con 6 o con 7 OR mostraron una degeneración espongiforme en el SNC, característica de las EETs, así como PrP resistente a proteínas (PrPres) analizada por Western blot y por inmunohistoquímica. Los ratones bo7ORTg mostraron una mayor capacidad para detectar presencia de PrPres en muestras previamente diagnosticadas como negativas utilizando las técnicas convencionales. Tanto la PrPC como la PrPres con 7 OR (7OR-PrPC y 7OR-PrPres) mostraron las mismas propiedades bioquímicas de sensibilidad e insolubilidad respecto a sus homólogas de 6 OR (6OR-PrPC y 6OR-PrPres). El prión (7OR-PrPres) obtenido como resultado de la inoculación de PrPSc bovina en bo7ORTg se propagó en ambos modelos de ratones transgénicos de forma similar. Estudios de cinética realizados con el objetivo de verificar cuál de los dos modelos era capaz de detectar con anterioridad PrPres después de la inoculación con el agente causal de la BSE mostraron que los ratones bo7ORTg presentaban, en el 80% de los casos, PrPres a los 120 días después de su inoculación respecto al 0% en los ratones bo6ORTg.

Autor que presenta: **Pozueta Larios, Julio**

E-mail: [jpozueta@cnb.uam.es](mailto:jpozueta@cnb.uam.es)

Centro Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC) y Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" CBMSO (CSIC/UAM)

Sesión: Reunión Transgénesis de Mamíferos

### **ESTRATEGIAS PARA LA GENERACION DE UN NUEVO MODELO ANIMAL PARA EL ESTUDIO DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER**

Pozueta, J.(1); Valdivieso, F.(2); Montoliu, L.(1)

(1) Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC), Departamento de Biología Molecular y Celular, Campus de la UAM en Cantoblanco, 28049 Madrid.

(2) Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (CBMSO-CSIC/UAM), Departamento de Biología Molecular, Campus de la UAM en Cantoblanco, 28049 Madrid.

La enfermedad d Alzheimer (EA), está caracterizada por la presencia de placas seniles y ovillos neurofibrilares. Mutaciones en los genes de las presenilinas 1 y 2 y de la proteína precursora del beta-amiloide son responsables de los casos conocidos de la variante genética de esta enfermedad, que abarca el 1% de los pacientes diagnosticados. El resto de casos de la EA se incluyen dentro de la enfermedad esporádica, de la cual se desconocen las causas y mecanismos moleculares por los que se produce la neurodegeneración. El objetivo último de este proyecto es la generación de un ratón transgénico para el gen de APP humano. La construcción transgénica debe tener todas las regiones reguladoras para que su expresión sea la misma que la del gen endógeno, para ello estamos modificando un YAC de 600kb que contiene el gen de APP y las regiones colindantes. Las modificaciones tanto en 5' como en 3' están diseñadas para eliminar los genes adyacentes, incluidos en modelos animales anteriores, que podrían interferir en el fenotipo del ratón transgénicos. Este ratón podría servir como herramienta para la generación de un modelo animal de la EA, puesto que se pretende obtener el gen humano APP expresándose correctamente en los tejidos del raton, pudiéndose valorar los cambios en su expresión, maduración de la proteína y su procesamiento proteolítico debido a factores externos.

SEBBM 2003 - Ref. R07-016

Autor que presenta: **Muniesa Lorda, Pedro**

E-mail: pmuniesa@unizar.es

Centro: Facultad de Veterinaria

Sesión: Reunión Transgénesis de Mamíferos

#### **UNIDAD DE TRANSGÉNESIS DE LA UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA: CONSOLIDACIÓN Y FUTURO**

Muniesa, P.

Departamento de Anatomía, Embriología y Genética. Universidad de Zaragoza

En 1997 se creó en la Facultad de Veterinaria el Laboratorio de Neurobiología, grupo de investigación que aglutina a personal de varios Departamentos de nuestra Universidad con un interés común en realizar investigación de calidad en biología del desarrollo del sistema nervioso y su conexión con enfermedades neurodegenerativas ligadas al envejecimiento, aprovechando al máximo los limitados recursos humanos, materiales y económicos disponibles.

En dicho grupo se inició la puesta en marcha de los métodos de transgénesis, que estuvieron plenamente funcionales a partir del año 2000. Desde entonces se han producido numerosos linajes transgénicos, tanto enmarcados en proyectos del propio grupo, como fruto de colaboraciones con otros grupos nacionales. Recientemente, gracias a la financiación recibida desde la Universidad de Zaragoza, Gobierno de Aragón y FIS, pudo realizarse el equipamiento y puesta en marcha de la Unidad de Transgénesis en el seno del animalario registrado de la Unidad Mixta de Investigación Universidad de Zaragoza-Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Además de los ya establecidos de microinyección directa en pronúcleos zigóticos, en un futuro próximo podrán iniciarse los procedimientos de transgénesis mediante recombinación homóloga en células ES, así como el desarrollo de métodos de producción de ratones transmitocondriales, proporcionando el servicio adecuado a la creciente demanda de estas tecnologías por parte de la comunidad investigadora.

© 2003 SEBBM.

Autor que presenta: **Rico Sánchez, Laura**

E-mail: laura.rico@ciemat.es

Centro: Ciemat

Sesión: Reunión Transgénesis de Mamíferos

**RATÓN TRANSGÉNICO QUE SOBREEXPRESA LEPTINA DESDE CÉLULAS EPITELIALES: UN MODELO MURINO PARA EL ESTUDIO DE LA RESISTENCIA A LEPTINA E INSULINA.**

Rico, L.(1); Bravo, A.(2); del Río, M.(1); Ramírez, A.(1); Page, A.(1); Jorcano, J.L.(1) y Larcher, F.(1).

(1)Daño, Reparación e Ingeniería Tisular en Epitelios. CIEMAT-Fundación M. Botín para Terapia Génica. Madrid, España.

(2)Anatomía Patológica Veterinaria. Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela, Lugo, España.

La leptina, hormona producida principalmente por adipocitos, está implicada en el control de la ingesta, gasto energético, angiogénesis y formación de hueso a través de vías hipotalámicas. Deficiencias severas de leptina (ratones ob/ob y lipodistróficos), caracterizadas por trastornos del apetito y resistencia a insulina, revierten con administración de leptina. Paradójicamente, individuos obesos suelen tener hiperleptinemia. Las bases de la resistencia a leptina y/o insulina se desconocen. Los ratones transgénicos generados, que sobreexpresan leptina en queratinocitos, alcanzando niveles séricos 20 veces superiores a los controles, presentan extrema delgadez y un incrementado metabolismo de glucosa. Pero, a partir de los 3-4 meses de edad, los valores de peso (las hembras 3 meses después o tras gestación), ingesta y grasa corporal de los transgénicos se igualan a los controles, desarrollan severa resistencia a insulina-hiperinsulinemia y, algunos, islotes pancreáticos hiperplásicos, organomegalia y aumento de masa ósea. Según estos resultados, la sobreexposición a leptina circulante, sin aumento masivo de adiposidad, es suficiente para establecer un fenotipo de resistencia a leptina e insulina, indicativo de una regulación disociada entre vías hipotalámicas de control de ingesta-balance energético y las vías de acción de la insulina. Este modelo puede ser extremadamente útil para el estudio de los mecanismos de estas resistencias ("diabesidad") y el desarrollo de fármacos.

Autor que presenta: **BOSCH TUBERT, Fatima**

E-mail: fatima.bosch@uab.es

Centro: Universidad Autònoma de Barcelona

Sesi3n: Reuni3n Transg3nesis de Mamíferos

**RATONES TRANSGÉNICOS CON NIVELES DE IGF-I INCREMENTADOS EN EL OJO DESARROLLAN ENFERMEDAD OCULAR DIABÉTICA.**

Bosch, F.(1,3); Ayuso, E. (1,3); Navarro, M. (2,3); Carretero, A. (2,3); Nacher, V. (2,3); Haurigot, V. (1,3); George, M. (1,3) Llombart, C. (2,3); Casellas, A. (1,3); Costa, C. (1,3); Bosch, A. (1,3); Ruberte, J. (2,3)

(1)Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universitat Autònoma de Barcelona.

(2)Departamento de Sanidad y Anatomía Animales. Universitat Autònoma de Barcelona.

(3)Centro de Biotecnología Animal y Terapia Génica. Universitat Autònoma de Barcelona.

El factor de crecimiento similar a la insulina de tipo I (IGF-I) está asociado con la patogénesis de la enfermedad ocular diabética. Sin embargo, el papel que desarrolla en la patología no es del todo conocido. En nuestro laboratorio observamos que ratones transgénicos normoglucémicos/normoinsulinémicos que sobrexpresaban IGF-I en la retina desarrollaban la mayoría de alteraciones oculares observadas en los pacientes diabéticos. El efecto paracrino de IGF-I en la retina iniciaba alteraciones vasculares características de la retinopatía no proliferativa que progresaban a proliferativas y al desprendimiento de retina. Este proceso de neovascularización correlacionaba con un incremento en la expresión del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) en las células gliales de la retina. En estos animales se detectó un incremento de IGF-I en humor acuoso. Este aumento podría ser responsable del desarrollo de rubeosis iridis, glaucoma neovascular y cataratas observadas en los ratones transgénicos. Estos resultados indican que IGF-I tiene un papel importante en el desarrollo de las complicaciones oculares a largo plazo observadas en los pacientes diabéticos. Además, estos ratones transgénicos constituyen un buen modelo para ensayar nuevas aproximaciones terapéuticas.

Autor que presenta: **Ortega Jiménez, Sagrario**

E-mail: s.ortega@cniio.es

Centro: CNIO

Sesión: Reunión Transgénesis de Mamíferos

### **GENERACION DE MODELOS MURINOS PARA EL ESTUDIO DE GENES IMPLICADOS EN CANCER**

Ortega, S.; Riffo, M.; Gómez, C.; Muñoz, J.

Unidad de Transgénicos, Programa de Biotecnología, Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO) Madrid

El avance en el conocimiento del genoma y de las bases genéticas de las enfermedades, incluido el cáncer, demanda la generación de modelos animales donde estudiar estas patologías a nivel molecular, evaluar hipótesis, validar posibles dianas y ensayar terapias a nivel preclínico. En los últimos diez años ha tenido lugar un enorme desarrollo de tecnologías que permiten la manipulación genética de la línea germinal murina. Los modelos transgénicos y knockout convencionales han sido superados por modelos más sofisticados de activación y/o inactivación génica condicional. Las técnicas de recombinación homóloga en células ES combinadas con sistemas de recombinación dependientes de secuencia (sistemas Cre/loxP y Flp/frt) permiten hoy día introducir mutaciones somáticas en el genoma murino que pueden ser inducidas de forma controlada tanto espacial como temporalmente y que reproducen más fielmente la formación y el desarrollo de tumores. Estos modelos combinados con la utilización de marcadores fluorescentes o luminiscentes permiten hacer un seguimiento in vivo de las células en las que se expresa una determinada mutación, determinar qué células son resistentes o sensibles a la expresión de un determinado oncogen y qué otras alteraciones genéticas cooperan en el desarrollo y la progresión de diferentes tipos de tumores. Asimismo, estos modelos de segunda generación en combinación con tecnologías de siRNA, genómica y proteómica proporcionan una nueva vía para estudiar la contribución de genes (nuevos o conocidos) a la iniciación y progresión del cáncer, así como a avanzar de forma más eficaz en su diagnóstico y su tratamiento.

Autor que presenta: **Arbonés de Rafael, Maria L.**

E-mail: mariona.arbones@crg.es

Centro: Centre de Regulació Genòmica

Sesión: Reunión Transgénesis de Mamíferos

### **ESTUDIO FUNCIONAL DE GENES DEL CROMOSOMA 21 HUMANO MEDIANTE LA UTILIZACIÓN DE RATONES GENÉTICAMENTE MODIFICADOS**

Arbonés, M.L.; Fillat, C.; Dierssen, M.; Estivill, X.

Programa Genes y Enfermedad, Centre de Regulació Genòmica-CRG, Barcelona.

El síndrome de Down (SD) es un trastorno complejo que presenta una gran variabilidad fenotípica y constituye la causa genética más frecuente de retraso mental. Muchas de las alteraciones características de este síndrome son probablemente debidas a la presencia de tres copias de un número reducido de genes "dosis-dependientes" del cromosoma 21 (HSA 21). Para estudiar el SD se han utilizado distintos modelos de ratón con trisomía total o parcial del cromosoma 16, que contiene una región de homología conservada con el cromosoma 21 humano. Estos modelos han permitido definir fenotipos neurológicos concretos asociados a esta trisomía.

Nuestro grupo ha utilizado la transgénesis en ratón para el análisis individual de genes del HSA 21 que por su expresión en sistema nervioso, posible función de la proteína y localización cromosómica, son candidatos a contribuir a algunas de las alteraciones neurológicas asociadas al SD. Con esta finalidad, se generaron ratones que sobreexpresan un determinado gen o son deficientes en la función del mismo. Los resultados obtenidos hasta el momento al caracterizar a nivel morfológico y conductual algunas de estas líneas de ratones apuntan a DYRK1A (el homólogo del gen minibrain de *Drosophila* implicado en neurogénesis), como uno de los genes relevantes en este síndrome. Este gen participa en el desarrollo del sistema nervioso central del ratón, es dosis-dependiente y su sobreexpresión causa algunas de las alteraciones conductuales observadas en ratones con trisomía parcial del cromosoma 16 y en individuos con SD.

SEBBM 2003 - Ref. R07-021

Autor que presenta: **Tobin, Graham**  
E-mail: GT@HARLANUK.CO.UK  
Centro: HARLAN TEKLAD EUROPE  
Sesión: Reunión Transgénesis de Mamíferos

## **DIETS FOR GENETICALLY-MODIFIED AND POORLY-PERFORMING STRAINS OF RODENTS**

Tobin, Graham  
Harlan Teklad Europe

Diets for genetically-modified and poorly-performing strains of rodents

Dr Graham Tobin  
Harlan Teklad Europe

### 1. Background

Several years ago from discussions with customers in the US and Europe we became aware of anecdotal evidence that:

- a. there is often variable success in the superovulation/pronuclear injection technique in a strain over time, which is not accounted for by changes in operator or technique;
- b. many strains of transgenic/knockout mice fail to thrive.

With the growing importance of genetically-modified strains and the existence of such problems, we began to consider the potential factors that could give rise to these problems and the possibility of producing a specific diet to alleviate them. We considered that in most cases poor performing genetically-modified strains were not different from poorly performing conventional strains, and a diet that met the requirements for one would probably satisfy the other. It appeared possible that diet could be an important factor in these observations through nutritional and/or non-nutritional components of the diet. Our main areas for investigation were dietary phyto-oestrogens, fat content of the diet and diet hardness.

### Practical Solutions

The consequences of our investigations was the development of Harlan Teklad 2019 rodent diet whose main characteristics were:

- a. absence of isoflavones and coumestrol;
- b. a protein content of 19% and a fat content of 9%;
- c. an extruded form.

© 2003 SEBBM.

SEBBM 2003 - Ref. R07-022

Autor que presenta: **Martín Rodríguez, Ana Carmen**

E-mail: [acmartin@bionostra.com](mailto:acmartin@bionostra.com)

Centro: BIONOSTRA S.L.

Sesión: Reunión Transgénesis de Mamíferos

### **HERRAMIENTAS BIOTECNOLÓGICAS PARA LLEVAR A CABO LA SELECCIÓN GENOTÍPICA ASISTIDA POR MARCADORES MOLECULARES**

Fuente B.; Martín A.C.

Departamento de Identificación Genética

BIONOSTRA, S.L.

Disponer de líneas de ratones genéticamente uniformes, así como trasladar genes de acción conocida a las líneas adecuadas para el estudio que se desea realizar ha sido una necesidad constante desde Snell que se ha hecho más acuciante desde que es posible la obtención de ratones transgénicos o knock-out, ya que el estudio de la acción de un gen requiere un estricto control de fondo genético con el que trabajamos.

Hay numerosas líneas de ratones con características especiales, pero no todas son transformables. Es frecuente que nos encontremos en la situación de tener un transgen o una mutación en una línea inadecuada para estudiar dicho gen o mutación. La solución tradicional es la introgresión de genes mediante retrocruzamientos sucesivos.

Los mejoradores genéticos desarrollaron un método para acelerar el proceso de introgresión de caracteres y genes de interés, basado en la utilización de marcadores moleculares polimórficos (MASP) para las dos razas, o cepas en el caso de ratones, que se necesita cruzar, y mediante PCR detectar aquellos animales que, llevando el gen o la mutación de interés, presentan un mayor porcentaje de genoma de la cepa receptora. En cada generación como media, la descendencia del retrocruzamiento presente la mitad de loci en heterocigosis que la generación anterior. El porcentaje de heterocigosis se distribuirá según una normal, habiendo siempre individuos por debajo de la media que al utilizarlos como parentales nos permitirá acelerar el proceso.

© 2003 SEBBM.

Autor que presenta: **Visa, Joana**

E-mail: [jvisa@pcb.ub.es](mailto:jvisa@pcb.ub.es)

Centro: SEA - Parc Científic de Barcelona

Sesión: Reunión Transgénesis de Mamíferos

## **MONITORIZACIÓN DE LA UNIDAD DE TRANSGÉNESIS DEL SERVEI D'EXPERIMENTACIÓ DEL PARC CIENTÍFIC DE BARCELONA: PRIMER AÑO DE FUNCIONAMIENTO**

Oset, M.; Visa, J.

Servei d'Experimentació Animal

Parc Científic de Barcelona

La monitorización de una unidad de transgénesis es indispensable para tener un índice de calidad y de eficiencia de la unidad. Una buena monitorización permite la detección precoz de posibles problemas que repercutirán directamente sobre el rendimiento y la optimización de la unidad. La definición de los parámetros que se deben incluir en la monitorización no están estandarizados, sin embargo, el Dr Lluís Montoliu (2002), definen un listado muy completo que debe permitir analizar la eficacia de una unidad de transgénesis.

La Unidad de Transgénesis (UT) del SEA-PCB ofrece sus servicios de transgénesis a los investigadores de la UB, a otras instituciones públicas y al sector empresarial. Está ubicada dentro de la zona de barrera y ocupa una superficie de 60 m<sup>2</sup> (tres salas y dos laboratorios exclusivos). Dentro de la UT se encuentra el laboratorio de criopreservación de células germinales. La UT está incluida dentro de la gestión de todo el SEA-PCB por lo que sus medidas de control se orientan en dos grandes direcciones:

- Monitorización general de la UT.

Se incluyen los sistemas de control generales para todo el SEA-PCB: registro de entrada y salida de personas y animales, elaboración de PNT para las diferentes actividades, control microbiológico de aire y de superficies, control de las condiciones climáticas y control sanitario de los animales.

- Monitorización específica de la UT

Se incluye la recogida, anotación y almacenamiento de los datos específicos de la UT: identificación de usuario, datos relativos a las hembras donadoras de oocitos, datos relativos a la obtención, microinyección e incubación de oocitos fecundados, datos relativos a la transferencia de los embriones microinyectados y datos relativos a la sesión de microinyección.

Las microinyecciones en la UT se iniciaron a finales del año 2002 realizando una sesión de microinyección cada semana, tres veces al mes. Hasta la fecha se han realizado microinyecciones de dos construcciones diferentes y se ha obtenido una línea de transgénicos de sobreexpresión. Desde el mes de abril del 2003, se están realizando microinyecciones de medio de cultivo (DMEM y HEPES) en blastocitos para optimizar la técnica de generación de knock outs. Finalmente, está prevista la puesta en marcha del laboratorio de criopreservación para finales del presente año.

### Bibliografía

Lluís Montoliu. Simple databases to monitor the generation and organization of transgenic mouse colonies. *Transgenic Research* (2003) 12: 251-253

Página WEB de "Transgenesis en Mamíferos"

<http://www.cnb.uam.es/~transimp/>

SEBBM 2003 - Ref. R07-025

Autor que presenta: **Hardy, Patrick**

E-mail

Centro: Charles River Laboratories

Sesión: Reunión Transgénesis de Mamíferos

### **GENETICALLY MODIFIED RODENTS: KEY ISSUES IN PROJECT MANAGEMENT**

Hardy, P.

DVM, DipECLAM, Scientific Director

Charles River Laboratories, Barcelona

The contribution of transgenic technology and emerging models to biomedical research is critical (genomic research, rational drug discovery...).

Any institution or company involved in the creation or use of genetically modified rodents should be aware of key issues in order to address them in the most relevant way (genetic background, gene of interest, congenic controls, microbial status, project security, diet, environment control...).

This short presentation is reviewing some of these key issues in the field of health and genetic management when designing and conducting a project:

- Assessment of the gene(s) of interest,
- selection and quality of genetic background,
- risk associated to residual heterozygosity or poorly defined genetic background,
- interference between microbial status and phenotype,
- health definition and control,
- time and cost management,
- project security.

© 2003 SEBBM.