

ANIMALS MODIFICATS GENÈTICAMENT: RATOLINS TRANSGÈNICS I MUTANTS. DEFINICIÓ, OBTENCIÓ I APLICACIONS EN BIOLOGIA, BIOMEDICINA I BIOTECNOLOGIA

LLUÍS MONTOLIU

CSIC, Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC)

Adreça per a la correspondència: Lluís Montoliu. CSIC, Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC). Campus de Cantoblanco, Darwin, 3. 28049 Madrid.
Adreça electrònica: montoliu@cnb.csic.es.

RESUM

Una vegada s'ha aconseguit obtenir la informació genètica del genoma cal interpretar-la. En particular, un dels reptes més importants de la biologia actual és esbrinar quina és la funció de cadascun dels gens que es troben en el genoma. Dins de les tècniques de la genòmica funcional, les que aporten més informació són les de modificació genètica d'animals, les de generació i anàlisi d'animals transgènics i mutants. Amb aquestes estratègies, es pot sobreexpressar un determinat gen o fer-lo treballar en entorns diferents de l'habitual, i deduir-ne quina seria la funció normal a partir del fenotip, de les característiques observables en el model animal transgènic generat. O, millor encara, es pot suprimir específicament la funció d'un gen determinat, en totes les cèl·lules de l'organisme o només en un tipus cel·lular en concret, i analitzar l'efecte d'aquesta mutació en el desenvolupament i la vida adulta de l'animal generat. De qualsevol de les dues maneres, la modificació genètica d'animals ens permet avaluar directament la funció gènica i deduir-ne la rellevància fisiològica dins de l'organisme. A continuació es descriuen les tècniques més habituals de generació d'animals transgènics i mutants i les seves aplicacions en els camps de la biologia, la biomedicina i la biotecnologia.

Paraules clau: ratolí transgènic, genoanul·lació, recombinació homòloga, cèl·lula troncal, animal modificat genèticament.

GENETICALLY MODIFIED ANIMALS: TRANSGENIC AND KNOCK-OUT MICE. DEFINITION, PRODUCTION AND APPLICATIONS IN BIOLOGY, BIOMEDICINE AND BIOTECHNOLOGY

SUMMARY

Once it has been possible to obtain the genetic information present in the genome it is necessary to interpret it. In particular, currently, one of the most important challenges of Biology is to find out the function of every single gene located in the genome. Among the techniques known as functional genomics, those bringing more information are the genetic manipulation of animal, the generation and analysis of transgenic and mutant animals. With these strategies, it is possible to over-express a given gene, or trigger its function in places other than the usual, and then to infer which would be its normal function from the observed phenotype, the observed traits in the produced transgenic animal model. Or, even better, it is possible to specifically inactivate the function of a given gene, either in all cells of the body or only within a subset of them, and then to analyse the effects associated with this mutation during development and throughout the adulthood of the generated animal. Either way, the genetic modification of animals allows us the direct assessment of the corresponding gene function and hence, to derive its physiological relevance within the whole organism. What follows, it contains the description of the most common techniques of generating transgenic and mutant animals and their applications in the fields of Biology, Biomedicine and Biotechnology.

Key words: transgenic mice, knock-out, homologous recombination, stem cells, genetically modified animals.

La possibilitat de generar animals modificats genèticament, els animals transgènics, fa que els investigadors que treballen en biologia tinguin a l'abast actualment una poderosa eina que s'ha demostrat com a molt important per a la interpretació i comprensió correctes del contingut funcional dels genomes de mamífers. L'elevada similitud existent entre els genomes de primats, i entre aquests i els dels rosegadors, fa que el que es pugui descobrir en altres espècies de mamífers tingui el seu ressò i la seva repercussió directes en el genoma humà. Sovint, grans segments cromosòmics es mantenen amb una organització similar o, en qualsevol cas, comparable, entre humans i rosegadors. Llavors, en esbrinar la funció dels gens en els ratolins s'està dilucidant implícitament la funció dels mateixos gens en

humans, ja que aquesta és la gran pregunta a resoldre una vegada s'ha aconseguit obtenir la informació genètica del genoma.

En particular, un dels reptes més importants de la biologia actual és esbrinar quina és la funció de cadascun dels gens que es troben en el genoma. Dins les tècniques de la genòmica funcional, les que aporten més informació són les de modificació genètica d'animals, les de generació i anàlisi d'animals transgènics i mutants. Amb aquestes estratègies es pot sobreexpressar un gen determinat o fer-lo treballar en entorns diferents de l'habitual i deduir-ne quina seria la funció normal a partir del fenotip, de les característiques observables en el model animal transgènic generat. O, millor encara, es pot suprimir específicament la funció d'un gen determinat, en totes les

cèl·lules de l'organisme o només en un tipus cellular concret, i analitzar l'efecte d'aquesta mutació en el desenvolupament i la vida adulta de l'animal generat. De qualsevol de les dues maneres, la modificació genètica d'animals ens permet avaluar directament la funció gènica i deduir-ne la rellevància fisiològica dins de l'organisme.

En aquest capítol es descriuen les tècniques més habituals de generació d'animals transgènics i mutants i les seves aplicacions en els camps de la biologia, la biomedicina i la biotecnologia. A causa de la complexitat i novetat del tema, s'ha optat per presentar els diferents conceptes en format gràfic, i ho trobareu en el CD adjunt al volum. Cada diapositiva porta associada un text breu que serveix per interpretar el gràfic i de fil conductor de la presentació. Aquest text també el podeu trobar adjuntat en el CD. En aquest capítol, doncs, es documenta com es poden obtenir animals transgènics, quins tipus d'animals transgènics existeixen i què podem esperar descobrir dels experiments realitzats amb animals transgènics, amb exemples ilustratius.

Inicialment, les imatges il·lustren el concepte de *transgènesi*, els estadis embrionaris preimplantatius en què habitualment s'esdevenen la majoria d'intervencions experimentals per a l'obtenció d'animals transgènics. Seguidament es descriuen els animals transgènics clàssics, els que reben informació genètica externa nova, heteròloga, i les aplicacions bàsiques d'aquesta tècnica. S'aprofiten aquests animals per aprofundir en el tema de la regulació induïble de l'expressió de transgens, és a dir, com poden determinar els investigadors on i quan es pot obtenir l'expressió del transgèn. A continuació es presenten les limitacions de la

tècnica i els problemes inherents al seu ús, encara no resolts, i les vies per optimitzar la generació de ratolins transgènics.

La generació dels ratolins mutants (genoanullats) i les seves aplicacions ocupen les imatges següents, en què es presenten els sistemes actuals per anullar la funció d'un gen en un teixit determinat i en un moment determinat del desenvolupament o vida de l'organisme. S'il·lustren amb diferents models animals la generació tant de ratolins transgènics com de mutants.

Finalment, s'esmenta la generació d'animals modificats genèticament per transferència nuclear, els animals coneguts com a *clònics* i la seva implicació i aplicacions en biologia, biomedicina i biotecnologia.

BIBLIOGRAFIA

- MONTOLIU, L. (1997). «Transgénesis por microinyección». *Revista de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 91: 63-70.
- (1998). «Generación de animales transgénicos con cromosomas artificiales y genes inducibles». *Porci*, 45: 57-71.
- (2000). «Modificación genética d'animals». *Treballs de la Societat Catalana de Biologia*, 50: 133-140.
- (2003a). «Trasiego de genes (animales transgénicos, mutantes y clónicos)». A: GARCÍA BARRENO, P. [ed.]. *50 años de ADN*. Madrid: Espasa-Fórum, 183-227.
- (2003b). «Células troncales: aspectos científicos». A: LACADENA, J. R. [ed.]. *Células troncales humanas: aspectos científicos, éticos y jurídicos*. Publicaciones de la Universidad Pontificia Comillas: Editorial Desclée de Brouwer, SA (col. Dilemas Éticos de la medicina actual; 17), 23-62.
- (2004). «Clonación en mamíferos: aspectos científicos e implicaciones terapéuticas» A: PIQUERAS, J. F. [ed.]. *Últimas investigaciones en biología: células madre y células embrionarias*. Madrid: Publicaciones de la Universidad Internacional Menéndez y Pelayo (UIMP): Ministerio de Educación y Ciencia, 55-88.