

“De la Revolución Neolítica a la Revolución Transgénica”

“Como se hace un animal
transgénico”



Dra. CONSTANZA CONTRERAS JURADO
Instituto de Investigaciones Biomédicas CSIC-UAM

ÍNDICE

- **INTRODUCCIÓN:**
DEFINICIÓN, TIPOS, HISTORIA,
TECNOLOGÍA DEL DNA RECOMBINANTE
- **CLONACIÓN VS TRANSGÉNESIS**
- **APLICACIONES**
- **TÉCNICAS**
- **COMO SE HACE UNA ANIMAL TRANSGÉNICO**

FARM → BIOPHARMING → PHARM



INTRODUCCIÓN

ANIMAL MODIFICADO GENÉTICAMENTE: Animal en el que se ha producido una modificación deliberada en su genoma.

TIPOS DE MODIFICACIONES GENÉTICAS

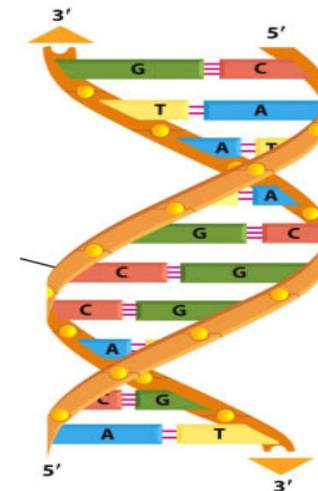
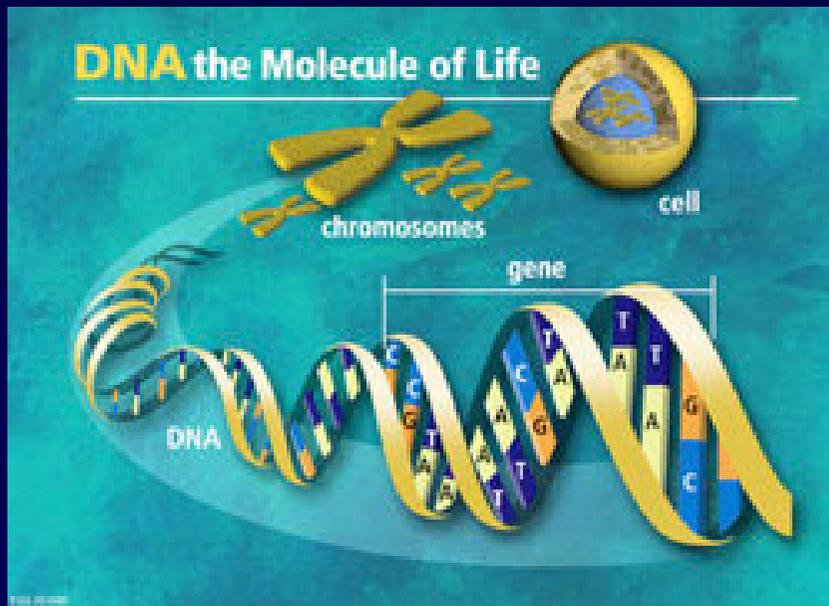
- Eliminación de un gen endógeno
- Modificación de un gen endógeno
- Introducción de un nuevo gen

TECNOLOGÍA DEL ADN RECOMBINANTE

GEN



PROTEÍNA

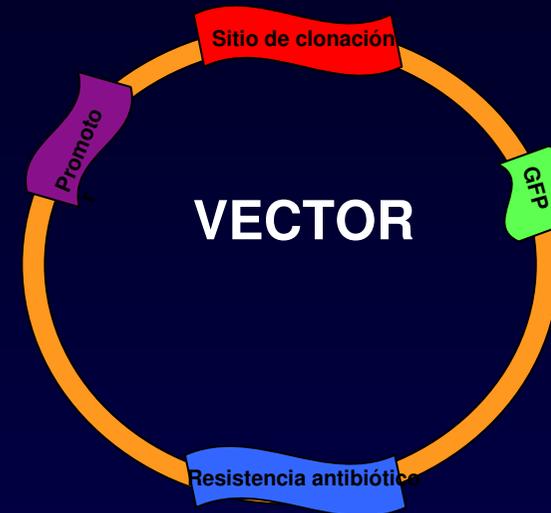
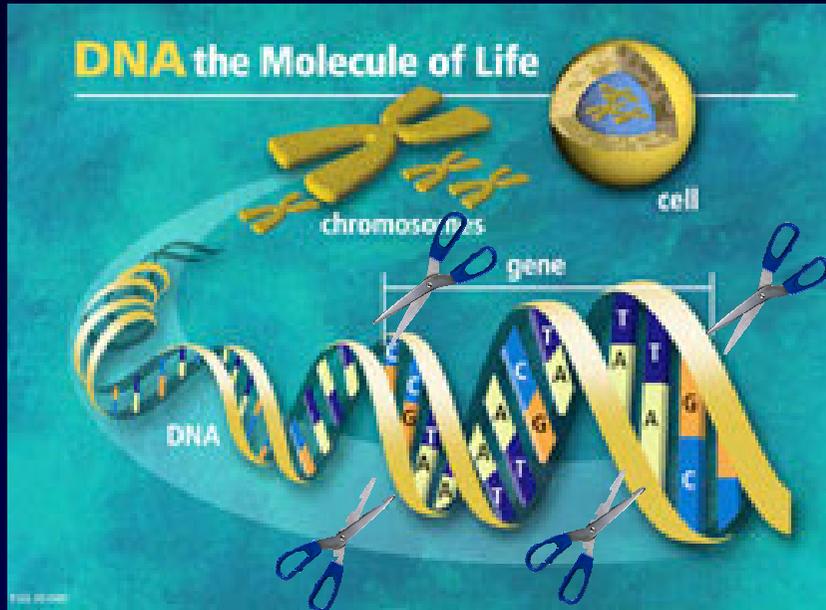


DNA strand



Figure 5-2b Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

TECNOLOGÍA DEL ADN RECOMBINANTE



ENZIMAS DE RESTRICCIÓN



INTRODUCCIÓN

ANIMAL MODIFICADO GENÉTICAMENTE: Animal en el que se ha producido una modificación deliberada en su genoma.

TIPOS DE MODIFICACIONES GENÉTICAS

- Eliminación de un gen endógeno “KNOCK-OUT”
- Modificación de un gen endógeno “KNOCK-IN”
- Introducción de un nuevo gen “TRANSGÉNICO”

LUGAR DE EXPRESIÓN DEL TRANSGEN

-PROMOTORES UBICUOS

-PROMOTORES ESPECÍFICOS

Nestina: sistema nervioso

Keratinas: epitelios

Pit-1: células hipofisarias

LCK: linfocitos T

Albúmina: hígado

Lisozima: macrófagos

CONTROL DE LA EXPRESIÓN DEL TRANSGEN

-PROMOTORES CONSTITUTIVOS

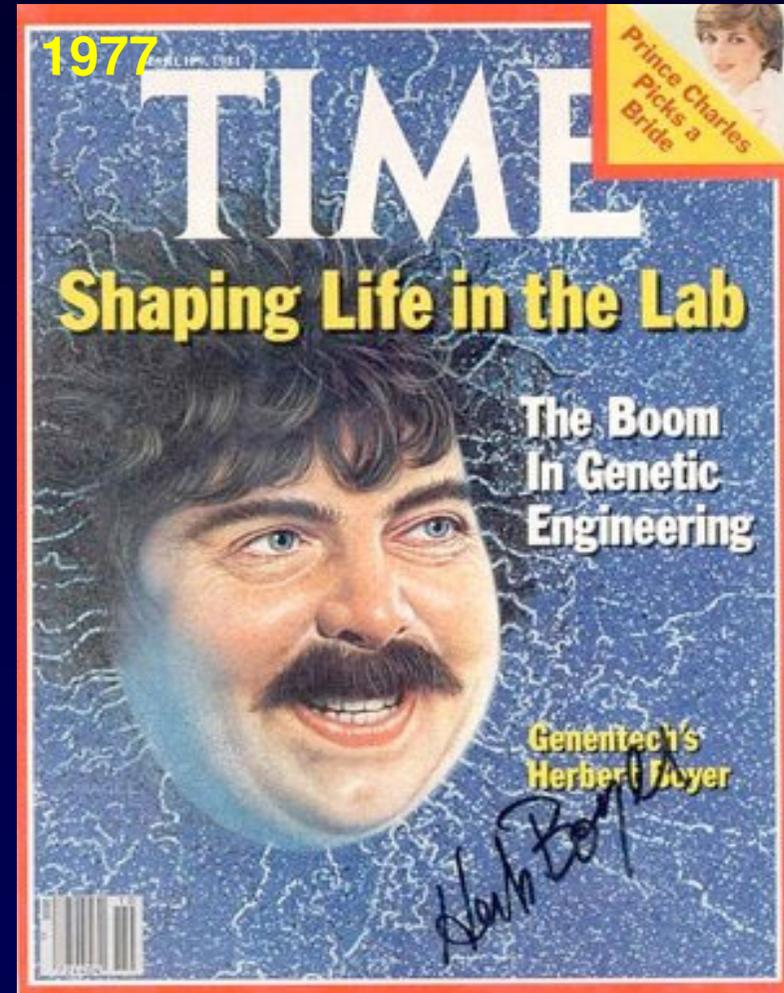
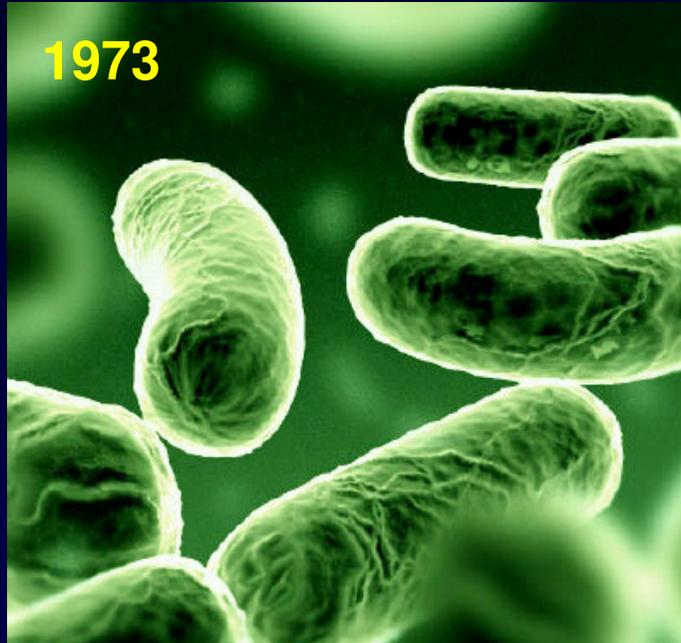
-PROMOTORES INDUCIBLES

Por hormonas **Tamoxifen - Cre-LoxP**

LoxP **LoxP**
13bp 8bp 13bp
ATAACTTCGTATA - GCATACAT - TATACGAAGTTAT

Tetraciclina **tet-on/ tet-off**

UN POCO DE HISTORIA...



E. Coli hSomastotatina

1974



1992



nature

Vol 300 No 5893 16-22 December 1982 £1.80 \$4.50

1982

INSTITUTO DE
ENZIMOLOGIA
FAP-CGNE



GIGANTIC MICE - FROM EGGS
INJECTED WITH GROWTH HORMONE GENES

Tracy Transgénica
 α 1-antitripsina
Fibrosis quística



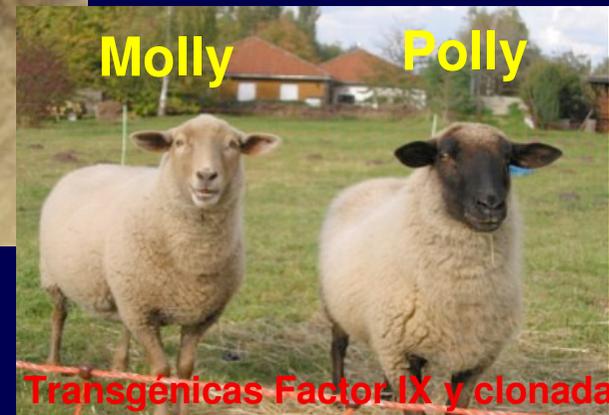
Megan y Morag
clonadas Cél Madre



Dolly clonada
Cél. diferenciadas

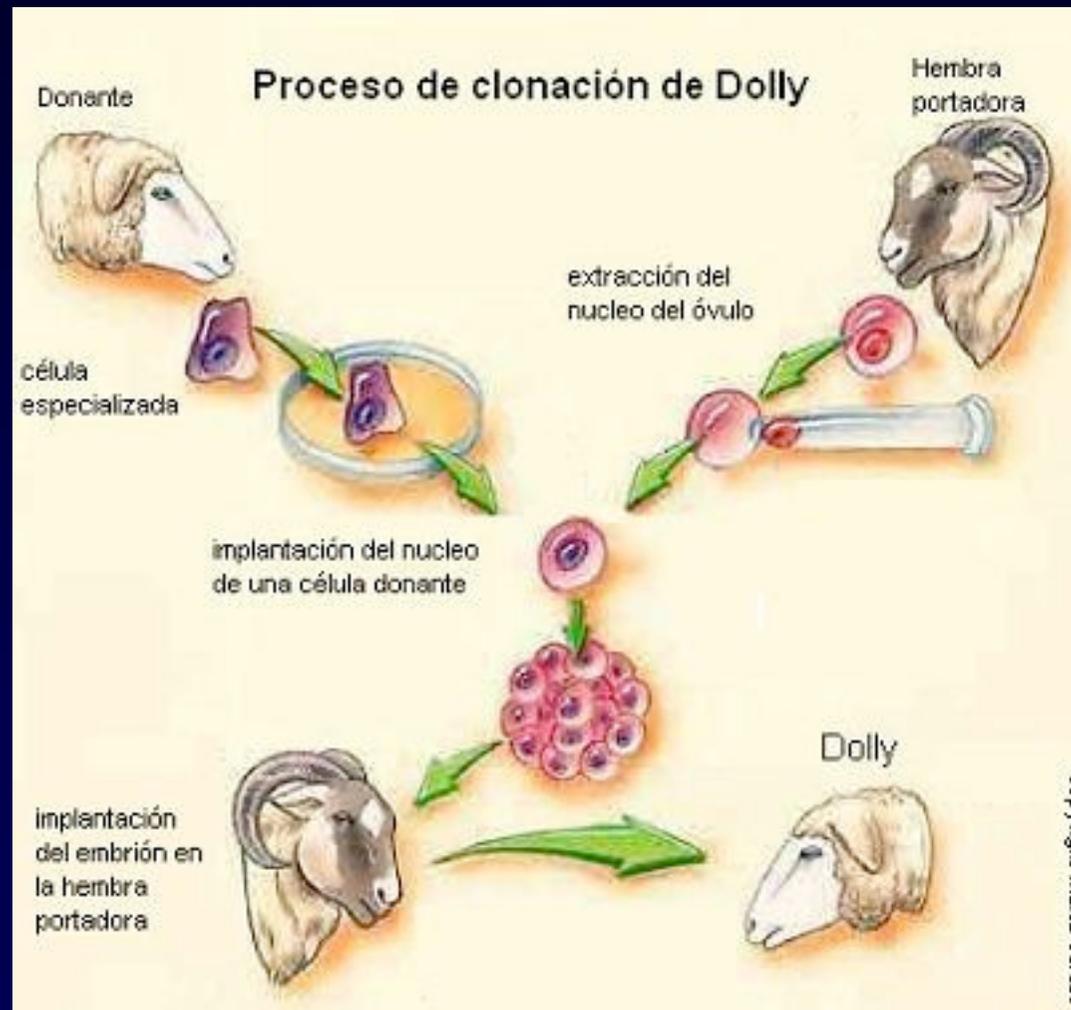


Molly **Polly**



Transgénicas Factor IX y clonada

TRANSFERENCIA NUCLEAR



APLICACIONES

- **CIENCIA BÁSICA**

- **INDUSTRIA**

 - FARMACÉUTICA
 - AGRÍCOLA

- **BIOMEDICINA**

 - MODELOS DE ENFERMEDADES
 - VALIDACIÓN DE MEDICAMENTOS
 - XENOTRASPLANTES

- **ZOOTECNIA**

APLICACIONES: CIENCIA BÁSICA



APLICACIONES

➤ CIENCIA BÁSICA

➤ **INDUSTRIA**

FARMACÉUTICA
AGRÍCOLA

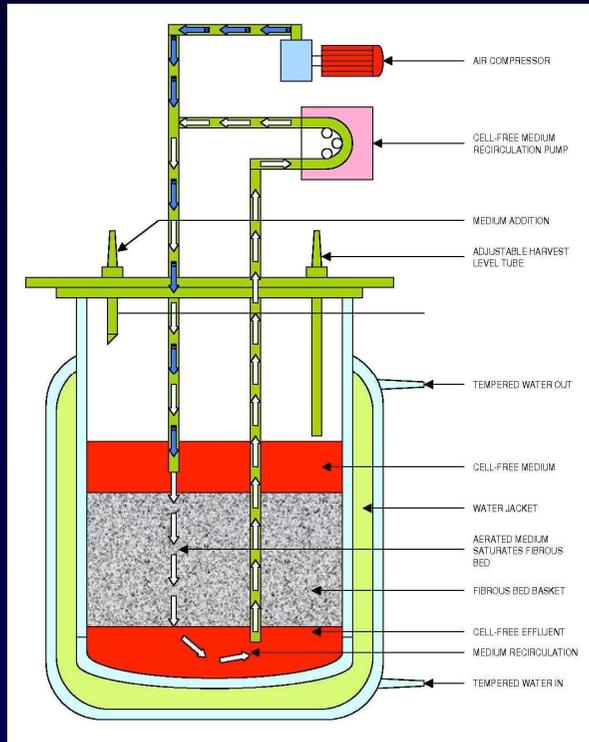
➤ BIOMEDICINA

MODELOS DE ENFERMEDADES
VALIDACIÓN DE MEDICAMENTOS
XENOTRASPLANTES

➤ ZOOTECNIA

APLICACIONES: INDUSTRIA FARMACÉUTICA

BIORREACTOR



Producción de
Hormona Humana del
Crecimiento

5 g/L

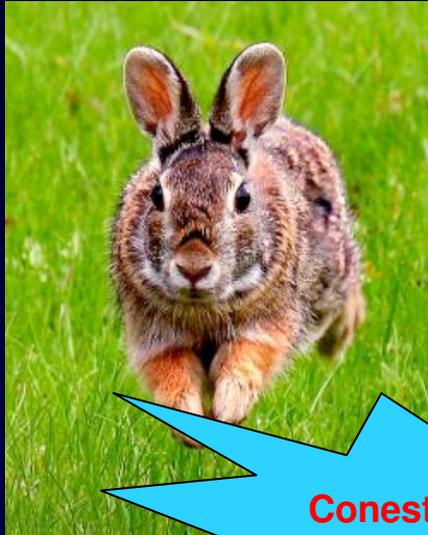
250 >

20 mg/L

DESVENTAJAS:
COSTE
CANTIDADES
SENSIBLE A CAMBIOS



APLICACIONES: INDUSTRIA FARMACÉUTICA



Conestat alfa humana
Angioedema



Antitrombina humana III
Trombosis



Investigación y Desarrollo de Medicinas

Medicamento	Enfermedad	Animal	Empresa
A-lactoalbúmina	Infección	vacas	PPL
A1-antitripsina	Enfisema	ovejas	PPL
CFTR	Fibrosis quística	ovejas, ratones	PPL
Proteína C	Trombosis	cerdos, ovejas	PPL
Factor VIII	Hemofilia	cerdos, ovejas	Pharming, PPL
A-glucosidasa	Pompe	conejos	Pharming
Colágeno I	Reparación tisular	vacas	Pharming
Fibrinógeno	Cicatrización	Vacas, ovejas	Pharming, PPL
Ac glutámico descarboxilasa	Diabetes I	Ratón, cabra	GTC
Pro542	HIV	Ratone, cabra	GTC

APLICACIONES: INDUSTRIA AGRÍCOLA

AquAdvantage

**AUMENTO DE LA TASA DE CRECIMIENTO
ACELERACIÓN DE LA MADURACIÓN SEXUAL**

**1er Animal
Transgénico
APROBADO
para CONSUMO
HUMANO**



APLICACIONES

➤ CIENCIA BÁSICA

➤ INDUSTRIA

FARMACÉUTICA
AGRÍCOLA

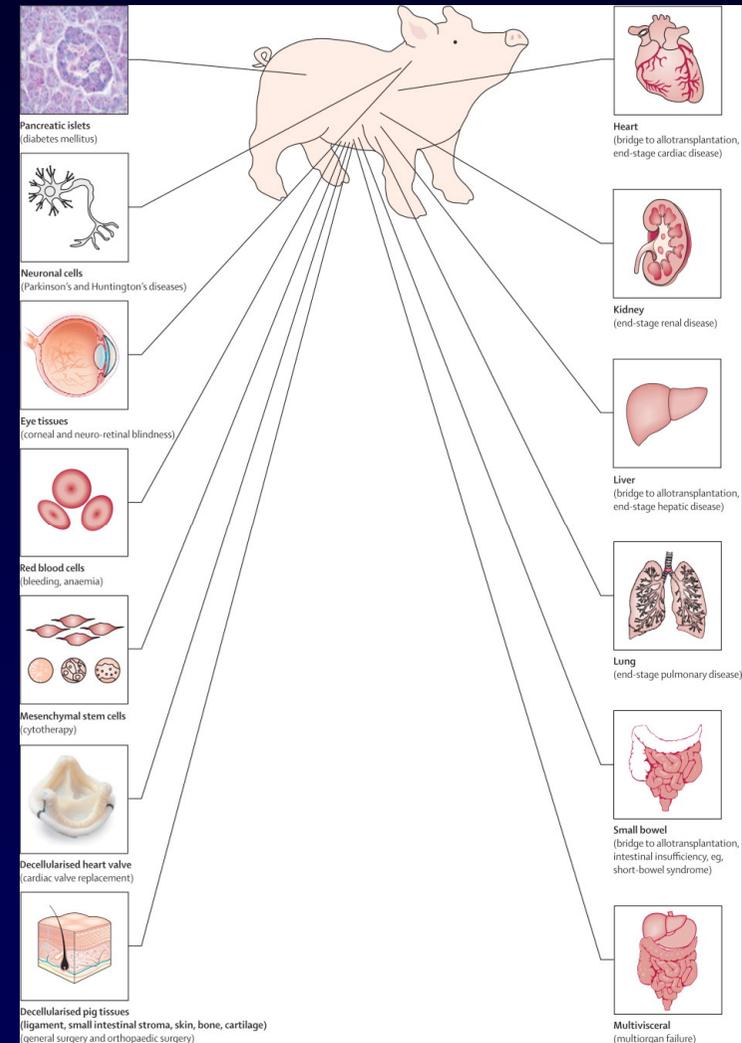
➤ BIOMEDICINA

MODELOS DE ENFERMEDADES
VALIDACIÓN DE MEDICAMENTOS
XENOTRASPLANTES

➤ ZOOTECNIA

APLICACIONES: BIOMEDICINA

XENOTRASPLANTES



APLICACIONES

➤ CIENCIA BÁSICA

➤ INDUSTRIA

FARMACÉUTICA
AGRÍCOLA

➤ BIOMEDICINA

MODELOS DE ENFERMEDADES
VALIDACIÓN DE MEDICAMENTOS
XENOTRASPLANTES

➤ ZOOTECNIA

APLICACIONES: ZOOTECNIA

GLOFISH

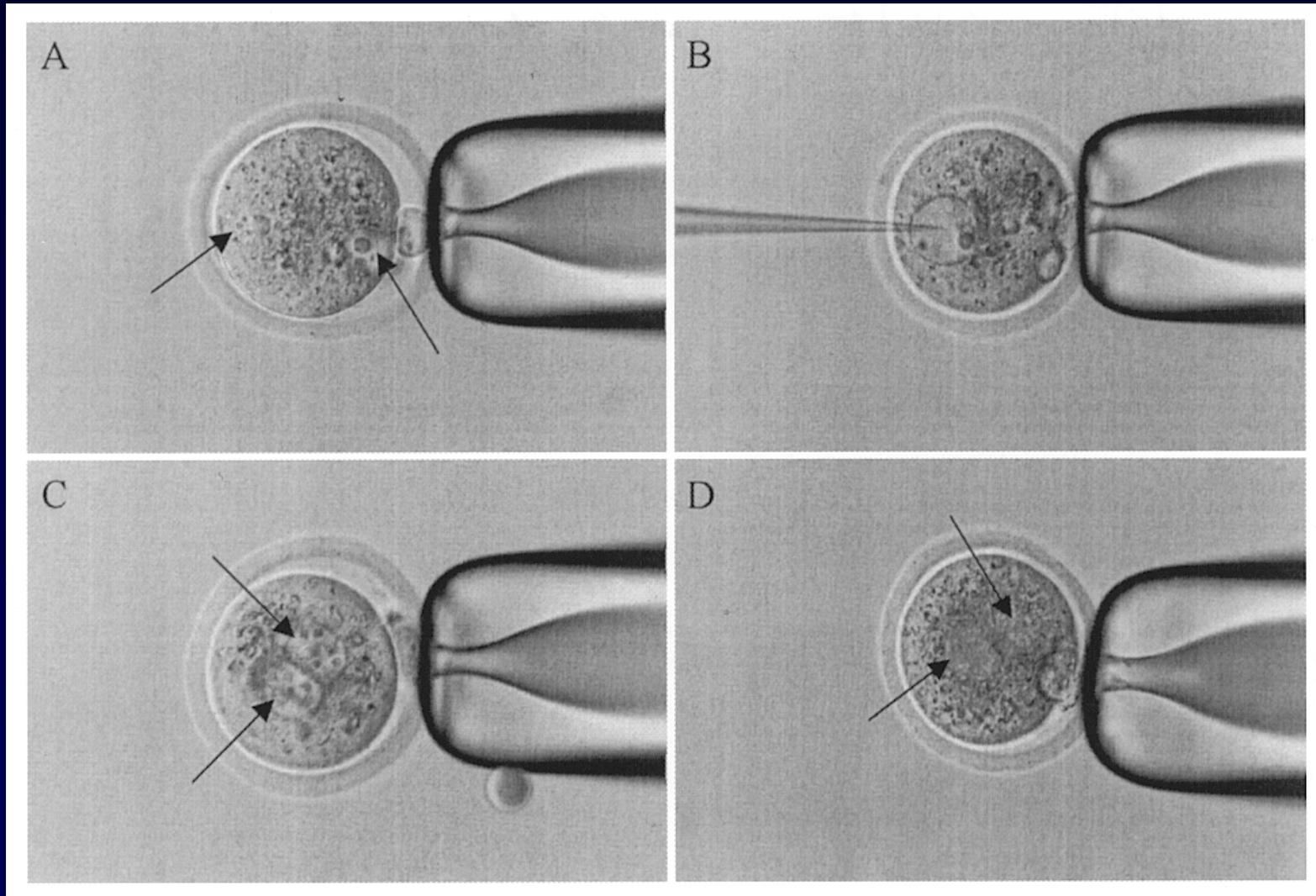


RESISTENTES FIV

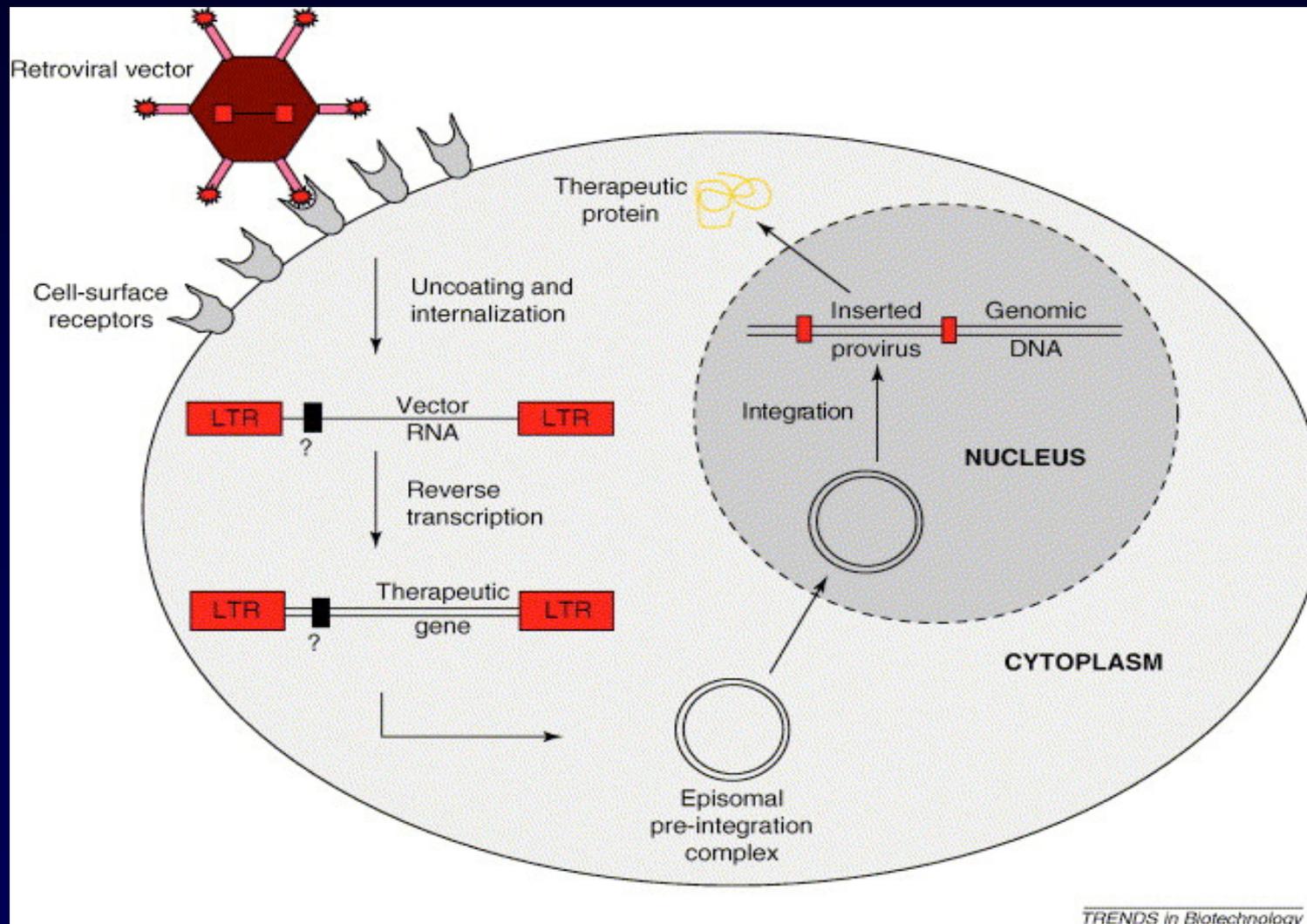
TECNICAS DE OBTENCIÓN DE TRANSGÉNICOS

- **MICROINYECCIÓN PRONUCLEAR**
- **VECTORES VIRALES**
- **TRANSFERENCIA DE GENES MEDIADA POR ESPERMA**
- **TRANSFERENCIA NUCLEAR**
- **GENE TARGETING**

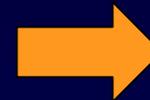
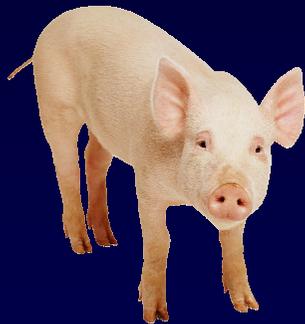
MICROINYECCIÓN DE ADN EN PRONUCLEOS



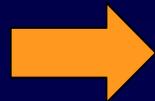
VECTORES VIRALES



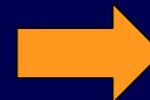
TRANSFERENCIA MEDIADA POR ESPERMA



**INSEMINACIÓN
ARTIFICIAL**



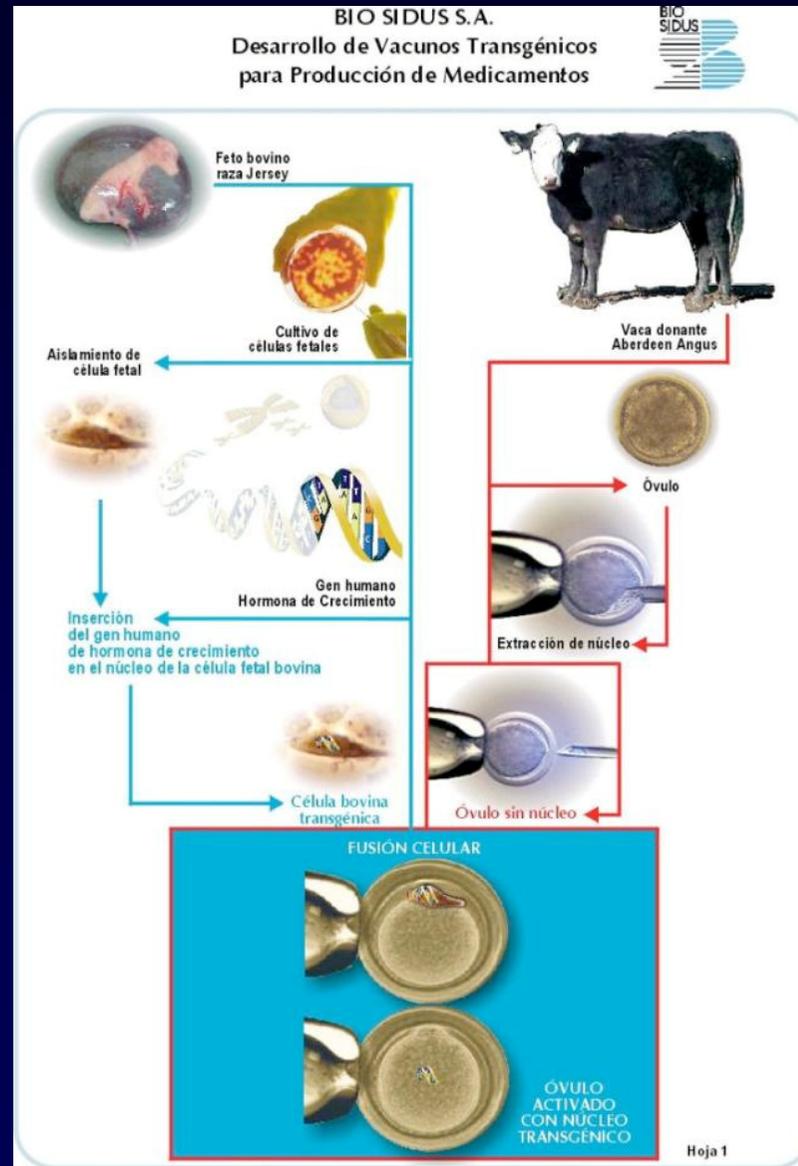
**EXTRACCIÓN
DEL EYACULADO**



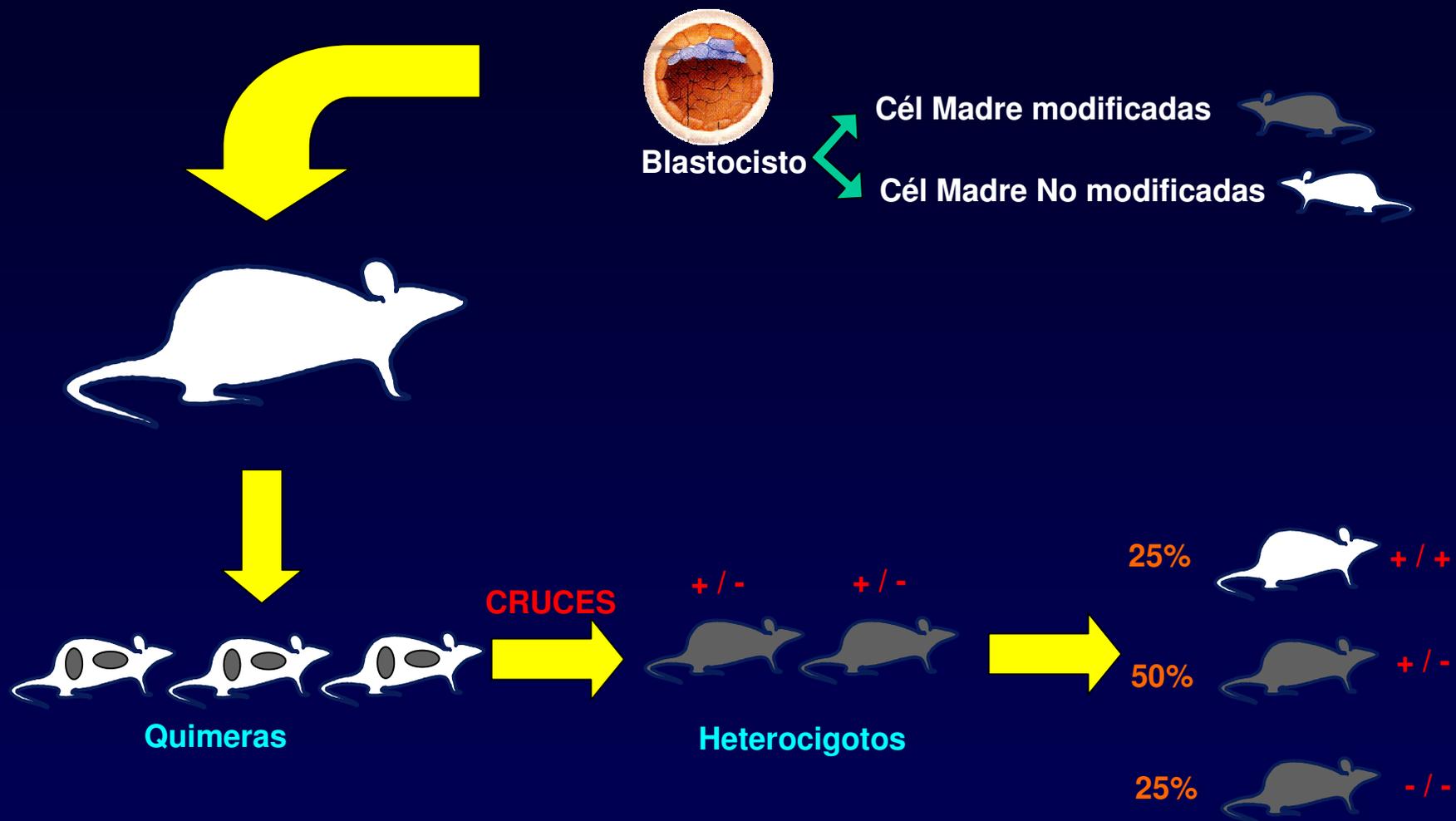
**INYECCIÓN
INTRACITOPLASMÁTIC**

A

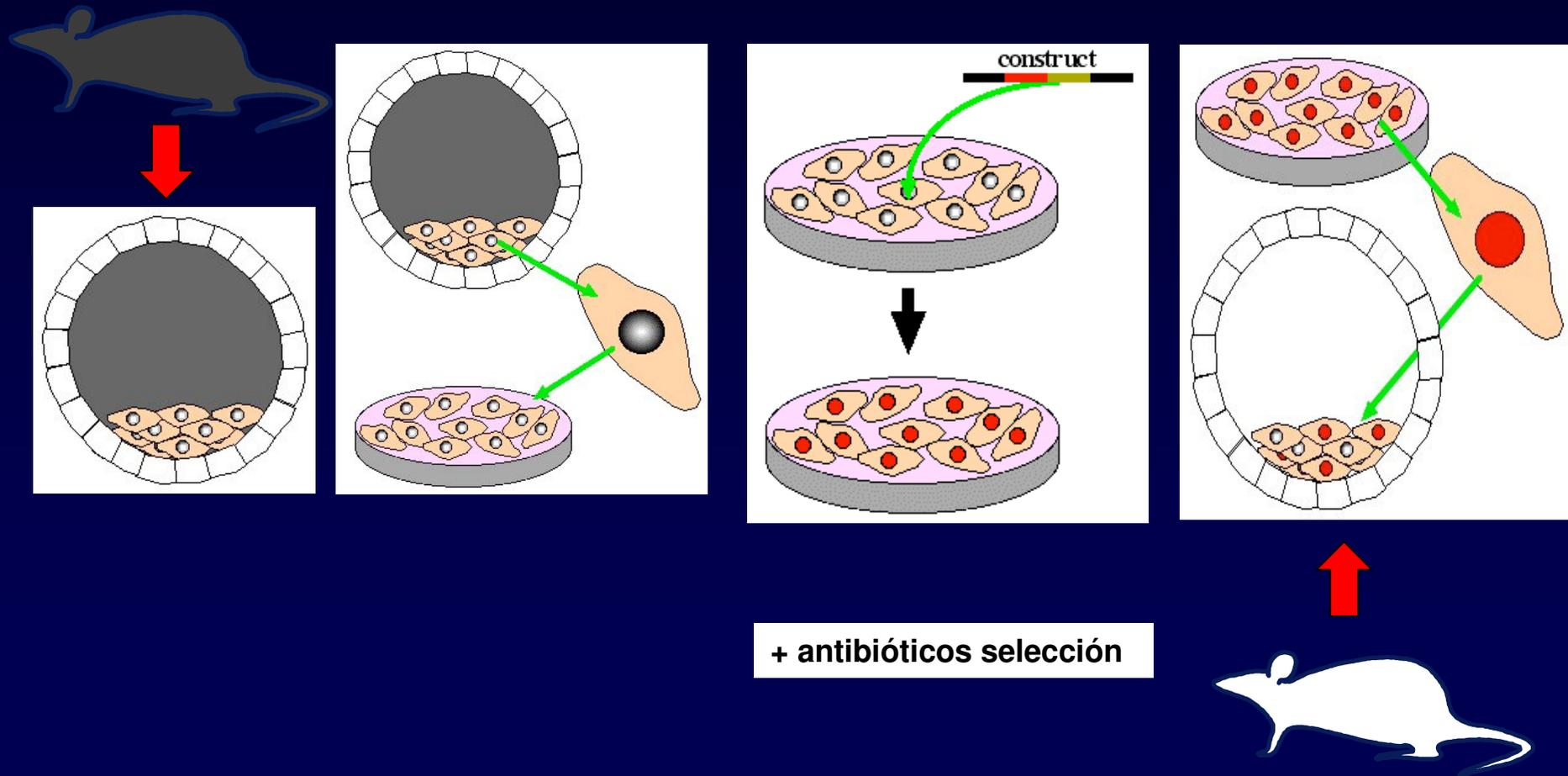
TRANSFERENCIA NUCLEAR



“ GENE TARGETING “

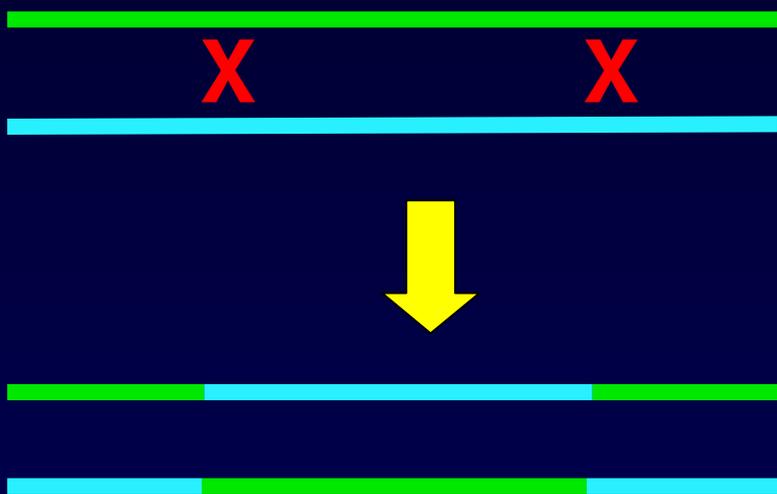


“ GENE TARGETING “



Sistema de recombinación Cre-LoxP

Generación de ratones Knock-out Condicionales



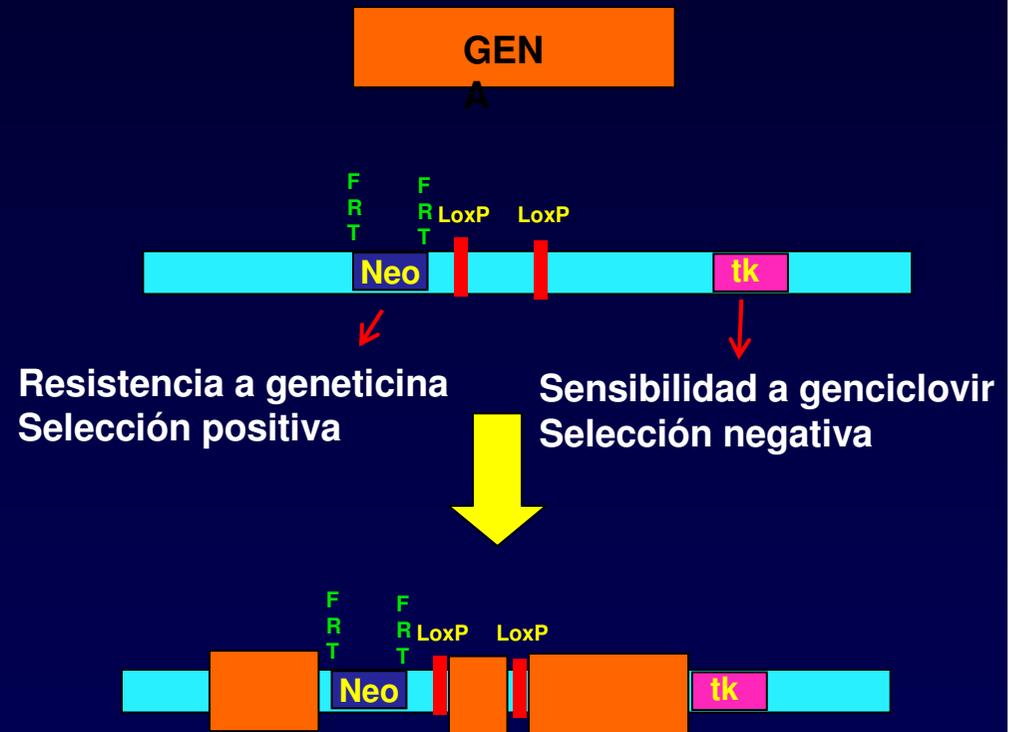
LoxP ----- **LoxP**

13bp

8bp

13bp

ATAACTTCGTATA - GCATACAT - TATACGAAGTTAT

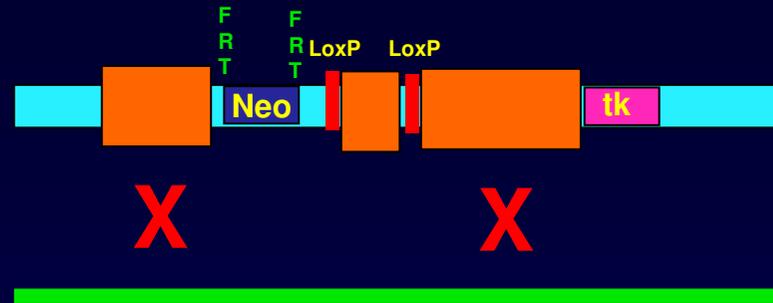


Resistencia a geneticina
Selección positiva

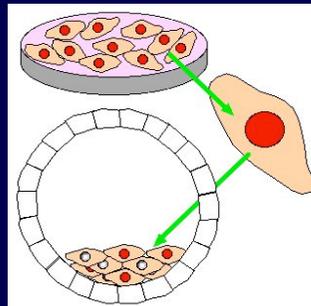
Sensibilidad a genciclovir
Selección negativa

Sistema de recombinación Cre-LoxP

Generación de ratones Knock-out Condicionales



**RESISTENTES A GENETICINA
NO SENSIBLES A GENCICLOVIR**



¿La proteína ...

Se secreta en suficiente cantidad?

Donde esperamos?

Produce algún efecto negativo?

Esta en un nivel que asegura
la salud del animal ?

GRACIAS POR VUESTRA ATENCIÓN



Dra. CONSTANZA CONTRERAS JURADO
Instituto de Investigaciones Biomédicas CSIC-UAM

A *ceRNA* Hypothesis: The Rosetta Stone of a Hidden RNA Language?

Leonardo Salmena,¹ Laura Poliseno,^{1,2} Yvonne Tay,¹ Lev Kats,¹ and Pier Paolo Pandolfi^{1,*}

¹Cancer Genetics Program, Beth Israel Deaconess Cancer Center, Departments of Medicine and Pathology, Beth Israel Deaconess Medical Center, Harvard Medical School, Boston, MA 02215, USA

²Present address: Department of Dermatology, New York University School of Medicine, New York, NY 10016, USA

*Correspondence: ppandolf@bidmc.harvard.edu

DOI 10.1016/j.cell.2011.07.014

Here, we present a unifying hypothesis about how messenger RNAs, transcribed pseudogenes, and long noncoding RNAs “talk” to each other using microRNA response elements (MREs) as letters of a new language. We propose that this “competing endogenous RNA” (*ceRNA*) activity forms a large-scale regulatory network across the transcriptome, greatly expanding the functional genetic information in the human genome and playing important roles in pathological conditions, such as cancer.