

# SEBBM DIVULGACIÓN

## LA CIENCIA AL ALCANCE DE LA MANO

### Ratones transgénicos en investigación biomédica

Sagrario Ortega  
Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO)

#### SUMMARY

*Genetically engineered mice (GEMs) are an important tool for understanding gene function and the genetic basis of disease as well as for the generation of animal models of many genetic disorders. Here we summarize the different types of transgenic mice and their applications.*

#### Resumen

**Los ratones modificados genéticamente (RMGs) son herramientas clave para el estudio de la función génica y de las bases genéticas de las enfermedades, así como para la generación de modelos animales de múltiples patologías. A continuación se resumen los diferentes tipos de ratones modificados genéticamente que se pueden obtener mediante transgénesis y sus aplicaciones.**

En el ratón podemos diferenciar claramente dos tipos de modelos transgénicos: los ratones transgénicos convencionales y los modelos de "gene targeting" o de mutagénesis dirigida del genoma.

#### Ratones transgénicos

Descripción.- Son RMGs portadores de un transgén (material genético externo) integrado al azar en su genoma. Son generalmente modelos de ganancia de función: conducen a la expresión de un nuevo gen o a la sobre-expresión de un gen ya existente. En este tipo de modelos se puede controlar con total precisión la estructura del "transgén" pero no la posición del genoma en éste que se integra. Generalmente se utilizan construcciones transgénicas compuestas por un promotor eucariótico y la secuencia codificante del gen de interés para expresar dicho gen, o sobreexpresarlo, en todas las células del ratón (expresión ubicua) o en un tejido concreto (expresión tejido-específica) (Figura 1). Transgenes de mayor tamaño clonados en

cromosomas artificiales de bacteria (BACs) o de levadura (YACs) normalmente incluyen todas las secuencias reguladoras de la expresión del gen de interés y en general son menos sensibles a efectos posicionales reproduciendo más fielmente el patrón de expresión deseado. Los sistemas de expresión condicional permiten, además, controlar la expresión del transgén en el tiempo. El sistema más utilizado en el ratón es el regulado por tetraciclina que tiene dos modalidades: tet-ON (la expresión del transgén sólo ocurre cuando se administra doxiciclina al ratón en el agua de bebida) o tet-OFF (la doxiciclina impide la expresión del transgén).

Tecnología.- La técnica más utilizada para la generación de ratones transgénicos es la microinyección del ADN transgénico directamente en uno de los dos pronúcleos del embrión de una célula (cigoto) (Figura 1). Normalmente el ADN se integra en el genoma del 5-30% de los cigotos inyectados.

Aplicaciones.- Los modelos transgénicos han sido ampliamente utilizados para la identificación y el estudio de secuencias reguladoras de la expresión génica en construcciones transgénicas en que estas secuencias se fusionan a una molécula fácil de detectar (lacZ o EGFP) dirigiendo su expresión. La sobre-expresión de un gen o la expresión de mutaciones dominantes mediante transgénesis es también una herramienta muy útil para el estudio de la función génica en el contexto del animal completo y para la generación de modelos de



<http://www.sebbm.es/>

#### HEMEROTECA:

[http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos\\_10/la-ciencia-al-alcance-de-la-mano-articulos-de-divulgacion\\_29](http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/la-ciencia-al-alcance-de-la-mano-articulos-de-divulgacion_29)

enfermedades genéticas causadas por dichas mutaciones.

**Mutagénesis dirigida del genoma (gene targeting)**

Descripción.- Estos modelos se diferencian de los anteriores en que la integración del ADN que se introduce en el genoma se dirige a una posición concreta del mismo, con el objetivo de generar una mutación intencionada y previamente diseñada en dicha posición. En general se puede hablar de dos tipos de modelos generados mediante gene targeting:

**Ratones knockout:** Son ratones en los que se inactiva un gen determinado en el genoma, generalmente por delección de toda o parte de su secuencia codificante. También se puede interrumpir la secuencia codificante por la integración de otro gen.

**Ratones knockin:** Son ratones en los que se introducen mutaciones dirigidas en la secuencia de un determinado gen; por ejemplo la modificación de un codón concreto en la secuencia codificante para generar un cambio de aminoácido en la proteína correspondiente o la sustitución de la secuencia codificante de un gen, o de uno de sus dominios, por la de otro.

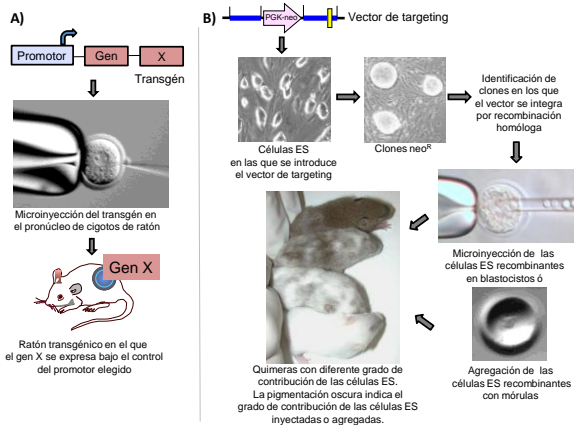
Tecnología.- Se basa en la utilización de las células madre embrionarias (células ES) como vehículo para introducir modificaciones genéticas en la línea germinal del ratón (Figura 1). A diferencia de los modelos transgénicos, el ADN exógeno o “vector de targeting” se introduce en las células ES, no en el cigoto. El

vector contiene dos fragmentos de ADN genómico llamados brazos de homología (5’ y 3’ respectivamente) que pertenecen al gen que interesa modificar y que dirigen la integración de dicho vector en el gen de interés mediante recombinación homóloga. Las células ES, una vez modificadas por recombinación homóloga se incorporan a un embrión huésped donde compiten con las células ES del propio embrión para generar todos los linajes celulares embrionarios, incluida la línea germinal. Los animales que nacen se denominan quimeras porque derivan del embrión huésped y de las células ES introducidas (ver Figura). La recombinación homóloga permite también dirigir la integración de sitios de reconocimiento de enzimas llamadas recombinasas (Cre y Flp) a cualquier posición en el genoma del ratón. Estas enzimas catalizan la recombinación entre dos de sus sitios diana (loxP y *frt* respectivamente). La combinación de técnicas de recombinación homóloga y de los sistemas Cre/loxP y Flp/*frt* permiten introducir cualquier tipo de mutación en el genoma y además controlar el momento y el lugar dónde ésta se expresa (modelos knockout y knockin condicionales y tejido específicos). Aplicaciones.- Un ratón knockout es el mejor modelo para estudiar la función de un gen en el contexto fisiológico, analizando el fenotipo que resulta de la pérdida de su función. Los modelos knockin se utilizan sobre todo para reproducir en el ratón alteraciones genéticas tales como mutaciones puntuales o

pequeñas delecciones o inserciones que se encuentran en patologías humanas o que son relevantes para el estudio de la función génica. Por ejemplo, mutaciones oncogénicas identificadas en tumores humanos. La posibilidad de generar ratones knockout o knockin condicionales permite controlar el tipo celular y el momento del desarrollo en que se expresan estas mutaciones. Todos estos modelos son de gran utilidad en el desarrollo de nuevas y mejores terapias.

**Referencias**

1. <http://jaxmice.jax.org>
2. <http://sanger.ac.uk>
3. <http://mshri.on.ca>
4. <http://www.cnb.uam.es>
5. <http://roslin.ac.uk>
6. Nagy A. Gertsenstein M. Vintersten K. and Behringer R. (2002) Manipulating the Mouse Embryo: a Laboratory Manual. 3rd edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.
7. Voncken J.W. and Hofker M. (2005). Transgenic mice in biomedical research. Encyclopedia of Molecular Cell Biology and Molecular Medicine 2nd Edition. Vol 14. Ed. Robert A. Meyers. Wiley-Verlag-Weinheim.
8. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genomes/>
9. European Bioinformatics Institute: <http://www.ebi.ac.uk/Databases/genomes.html>
10. J. Craig Venter Institute: <http://www.jcvi.org/cms/home/>



*Esquema de la generación de ratones transgénicos clásicos A) y de modelos de gene targeting: knockout o knockin B).*