

Introducción de genes en la línea germinal del ratón: ratones transgénicos.

Miguel Angel Vidal.

Laboratory of Gene Structure and Expression.
National Institute for Medical Research.

El potencial de los métodos de transferencia genética se ha incrementado desde principios de la década de los ochenta con la introducción de genes en la línea germinal del ratón. Los animales así producidos se denominan transgénicos y los genes introducidos transgenes. El hecho de que ratones transgénicos primarios son capaces de transmitir los transgenes a su descendencia, así como la observación de que la expresión de los transgenes puede afectar la biología del ratón ha abierto una nueva vía en el estudio de problemas biológicos en mamíferos. Esta nueva capacidad (todavía no muy eficaz) de manipular el genoma del ratón permitirá abordar en mamíferos complejas cuestiones hasta ahora restringidas a organismos más sencillos (insectos, levaduras).

Existen varios procedimientos para la obtención de ratones transgénicos. El más frecuentemente utilizado es la microinyección de ADN clonado en el pronúcleo de huevos fertilizados. Estos huevos son transferidos posteriormente a hembras receptoras para la gestación de los embriones transplantados. Parte de los animales así nacidos llevan una o más copias del ADN inyectado. Los ratones nacidos de embriones en los que la integración del ADN exógeno en el cromosoma del ratón se produce después de la primera división celular son mosaicos para el transgen y sólo ocasionalmente pasan el gen a su descendencia. Otros medios de obtención de ratones transgénicos son más elaborados, pero, en contrapartida, permiten mayores posibilidades de manipulación. Así, ratones transgénicos pueden obtenerse a partir de células pluripotentes embrionarias (células ES). La inyección de estas células en

blastocistos da lugar a animales quiméricos en los que las células ES pueden haber contribuido a la línea germinal. El hecho de que las células ES puedan mantenerse en cultivo (ADN puede introducirse por métodos similares a los utilizados para otras líneas celulares) permite una mayor flexibilidad en la preparación de un genotipo particular. La relativa dificultad de este procedimiento hace que, a pesar de su enorme potencial, su utilización sea restringida a diseños experimentales específicos, de modo que en la actualidad la casi totalidad de líneas transgénicas se producen a partir de microinyección nuclear.

En los pocos años desde que estas metodologías se han establecido prácticamente no queda área de estudio biológico que no haya sido afectada. A modo de resumen sólo citaré en términos generales algunas de ellas.

Regulación de expresión genética: probablemente en la base de cualquiera otra aplicación. Ratones transgénicos son insustituibles en muchos casos en el estudio de secuencias que regulan la expresión de genes. Esto es particularmente cierto para genes que se expresan en células para las que no existen líneas celulares (cultivo de tejidos) equivalentes. Así mismo, en el estudio de la expresión de genes individuales durante el desarrollo (o la expresión coordinada de grupos de genes). Finalmente, la identificación de elementos que confieren expresión específica de tejido (y su magnitud) son imprescindibles en la mayoría de otros esquemas experimentales en ratones transgénicos.

Biología del desarrollo: en los últimos años se han identificado y clonado genes implicados en el desarrollo de mamíferos. Estos genes pueden ser manipulados para obtener ratones transgénicos en los que los patrones de expresión

temporal o de especificidad pueden ser alterados (por ejemplo genes homeobox). Otro abordaje consiste en la utilización de toxinas que se expresan restringidamente, bajo el control de elementos genéticos constitutivos o inducibles, en uno o pocos tipos celulares (por ejemplo células acinares de páncreas). La muerte de estas células permite estudiar la interacción de esos grupos celulares con otros vecinos y su efecto en un patrón de desarrollo dado, así como las subsecuentes alteraciones funcionales que puedan derivarse.

Oncogénesis: la introducción de oncogenes en ratones reproduce la fisiopatología de la condición cancerosa, de modo que la expresión de oncogenes en diferentes tejidos y su efecto en la fisiología del ratón son un elemento nuevo en el estudio del control del crecimiento y la transformación celular. Son abordables, así mismo, el análisis de la cooperación de oncogenes y su interacción con otros factores en la formación de tumores y su metastasis. Ya existe una línea de ratones transgénicos para un determinado oncogen que ha sido patentada y es disponible para su explotación comercial.

Inmunología: la expresión y utilización de genes de las inmunoglobulinas y de receptores de antígeno de las células T en relación con los distintos tipos celulares implicados han sido abordadas con éxito en ratones transgénicos. Progreso es evidente también en la dilucidación de los mecanismos de autoinmunidad, tolerancia y ontogénesis de tipos celulares del sistema inmune.

Mutagénesis: la posición de integración de transgenes en el cromosoma de ratón es incontrolable y con cierta frecuencia (aunque baja) se producen mutaciones

presumiblemente debidas a la interrupción de determinados genes; al revés puede suceder la activación de genes silenciosos. Estas mutaciones, que normalmente son recesivas, pueden identificarse y el transgen ser utilizado y el transgen ser utilizado para el clonaje de las secuencias afectadas. Con un poco de suerte pueden así identificarse genes desconocidos y su función asociarse a un fenotipo determinado. En la situación inversa uno puede desear mutar con precisión un gen dado cuya función es desconocida. Esto se hace a través de recombinación homóloga con variantes mutadas del gen en cuestión, en células ES. La expresión de ARN complementarios es otra posibilidad.

En los próximos años se generarán, con los métodos disponibles ahora, un número creciente de líneas de ratones transgénicos para abordar problemas como los mencionados. En el futuro se producirán, sin duda, innovaciones que optimizarán en general estos métodos. Ello supondrá una mayor eficiencia y seguridad en la manipulación del genoma de ratón y otros mamíferos (ya que se está trabajando activamente en la mejora de especies con interés económico como cerdos, ovejas, etc.). Ratones transgénicos, también, constituirán modelos de enfermedades hereditarias para su posible corrección mediante terapia genética.