

CIENTÍFICOS ARGENTINOS LOGRAN UN AVANCE CLAVE EN LA EDICIÓN GÉNICA DE BOVINOS

INTRODUJERON CAMBIOS EN EL GENOMA PARA OBTENER LECHE HIPOALERGÉNICA



Adrián Mutto, Nicolás Mucci y Germán Kaiser

A poco más de seis años de que la ternera Rosita ISA diera leche con características similares a la humana, debido a la presencia de lisozima y lactoferrina, el mismo equipo de investigadores del INTA y de la Universidad Nacional de San Martín, a partir del uso de “tijeras génicas” –CRISPRs–, logró introducir cambios en el gen de la beta-lactoglobulina en embriones bovinos de raza lechera. Tres de los cuatro animales en estudio manifestaron distintos tipos de edición del gen de la beta-lactoglobulina, principal alérgeno de la leche bovina. El objetivo final *“es obtener un animal productor de leche hipoalérgica, que no tenga la capacidad de producir esa proteína”*, explicó Nicolás Mucci, investigador del grupo de Biotecnología del INTA Balcarce, responsable del proyecto llevado a cabo en el marco de su tesis doctoral. *“Nuestro trabajo busca apagar y sacar el alérgeno más importante que tiene la leche de vaca para el ser humano, como es la beta-lactoglobulina, que corresponde al 50% de las proteínas del suero de la leche”*, indicó Adrián Mutto, investigador de la UNSAM y del CONICET.

Para que la edición génica pueda producir leche sin beta-lactoglobulina, se deben obtener animales homocigotas no mosaico, es decir que presenten la edición en ambas copias del gen y en todas sus células.

Investigadores del INTA y de la Universidad Nacional de San Martín utilizaron “tijeras génicas” –CRISPRs– para modificar el genoma de embriones producidos in vitro. En tres de los cuatro animales en estudio, pudieron editar el gen de la beta-lactoglobulina, principal alérgeno presente en la leche bovina. Son los primeros animales obtenidos en el país como resultado de la generación de una plataforma completa de edición génica y es la primera vez que se aplica esta tecnología en este gen en el mundo.

Del total de transferencias embrionarias realizadas a hembras receptoras se lograron nacimientos de cuatro terneras entre febrero y julio de 2018. Según los análisis, se verificó que la primera ternera no registró modificaciones en el genoma, mientras que la segunda y la tercera mostraron la edición del gen en uno de los alelos y no en todas sus células. En tanto, la cuarta manifestó la edición en uno de los alelos en todas sus células. *“Si bien aún no logramos la obtención de un animal homocigota no mosaico, que hubiera sido el resultado óptimo, las terneras nacidas abren la posibilidad de conseguir el genotipo buscado a través del cruzamiento con un macho homocigota o heterocigota”*, sostuvo Germán Kaiser, investigador del INTA Balcarce. En esta línea, Mucci remarcó la importancia de los resultados de la experiencia como precedentes en el campo científico. *“Hasta el momento, no existen informes de bovinos editados en este gen a partir del uso de CRISPR en el mundo”*, puntualizó. Según los investigadores, con

quienes colabora Pablo Ross desde la Universidad de California, estos nacimientos permitirán multiplicar esta genética y dar origen a futuros rodeos de vacas de la raza Holando Argentino que produzcan leche hipoalérgica para ser consumida sin inconvenientes. En la actualidad, el equipo se encuentra a la espera de los resultados de 40 transferencias efectuadas a hembras receptoras, mientras concluye la estrategia para reeditar las células de la ternera heterocigota no mosaico y transformarlas en homocigotas. *“Una vez obtenidas estas células, se podrán generar animales mediante clonación por transferencia nuclear que serán genéticamente idénticos a esta ternera, pero, dada la edición completa del gen, será posible producir leche hipoalérgica”*, adelantó Mucci.

NO SON TERNEROS TRANSGÉNICOS

“Estos terneros se diferencian de Rosita ISA”, dijo Mutto, y agregó: *“No son transgénicos, no tiene ningún agregado en forma artificial”*. De acuerdo con el investigador, lo único que hicieron fue una modificación en el genoma. Se trató de una intervención que consistió en inducir a que apague ese gen. En esta tarea, aplican la técnica denominada CRISPR o “tijera genética” que les permite editar el genoma directamente y cortar el gen de la beta-lactoglobulina para modificar su secuencia.

La herramienta genera un corte en el ADN donde es requerido y la propia maquinaria celular intenta repararlo. *“Debido a que no posee la información para agregar en el segmento del corte y repararlo tal cual estaba, genera una cicatriz que es, precisamente, la responsable de generar un cambio de lectura del ADN que lleva a que el gen se apague y que la proteína beta-lactoglobulina no se encuentre en la leche de vaca”*, explicó Mucci, quien se especializó en la generación de “bovinos knock outs” –llamados así por la inactivación de genes específicos– mediante la tecnología de edición génica y mediada por CRISPR-CAS 9. De todos modos, *“no todos los animales que nacen tienen la edición que deseamos”*, aclaró Kaiser. Esto se debe a que la probabilidad de éxito de la población de embriones generados con CRISPR que desarrollarán la modificación genética deseada ronda entre un 30 a 40%.

Según Nicolás Mucci, desde el punto de vista regulatorio, la edición génica es ventajosa para la investigación, ya que los costos durante el proceso son menores. Además, *“si se puede demostrar que no se agregó ninguna secuencia foránea, ese animal no es considerado genéticamente modificado y puede ser manejado en un campo con otros animales”*, explicó. Esto es diferente de lo que sucede con un animal transgénico que, de acuerdo



con la regulación vigente, debe manejarse en confinamiento. Actualmente este es el único proyecto en el país con este grado de avance y con el estatus de animales no regulados, según la nueva reglamentación aprobada a finales del 2017 por la Dirección Nacional de Biotecnología del Ministerio de Agroindustria. Al ser animales a los que se les indujo un pequeño cambio en la secuencia de su ADN, sin agregado de genes o secuencias de otra especie, no son considerados genéticamente modificados.

DIEZ AÑOS DE INVESTIGACIONES

Los primeros diseños biotecnológicos y estudios bioinformáticos para generar este silenciamiento los hicieron junto con Ross en los EE.UU. En 2014, en la UNSaM y en el INTA Balcarce se avanzó en el desarrollo de CRISPR para el silenciamiento en embriones bovinos producidos por fecundación in vitro. Comenzaron con la identificación de la secuencia del gen a alterar, luego se proveyeron de ovarios de vacas Holando Argentino para obtener los óvulos. Éstos fueron fecundados con semen sexado y, a las 16 horas les inyectaron las herramientas de biología molecular para que corten el ADN en el gen de beta-lactoglobulina. En 2017 se realizaron las primeras transferencias embrionarias y se fueron confirmando las gestaciones.

Esta investigación formó parte del proyecto específico “Genómica y biotecnología aplicada a la cría animal” y estuvo enmarcado en el proyecto integrador del INTA “Biotecnología y genómica aplicada al sector pecuario”. Además, recibió fondos de un proyecto PICT 2015, otorgado al Instituto de Investigaciones Biotecnológicas Dr. Rodolfo Ugalde del CONICET y de la UNSAM, provenientes de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT) del entonces Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva de la Nación.

Fuente: INTA Informa.