

Fincas Farmacéuticas o Moleculares

La biotecnología ha tenido un considerable impacto económico en sectores alimentarios, agrícolas, industriales, médicos, entre otros, lo que ha generado ambiciosos proyectos de Investigación y Desarrollo en el ámbito mundial; es por ello que los países están actualizando sus legislaciones para adaptarlas a los nuevos avances en la materia.

M.V. Francisco Maya M.

Coord. Programa Mejoramiento Genético COLANTA
E-mail: asisttecnica@colanta.com.co



MEJORAMIENTO GENÉTICO

Resumen

La biotecnología ha tenido un considerable impacto económico en sectores alimentarios, agrícolas, industriales, médicos, entre otros, lo que ha generado ambiciosos proyectos de Investigación y Desarrollo en el ámbito mundial; es por ello que los países están actualizando sus legislaciones para adaptarlas a los nuevos avances en la materia.

Los avances logrados en técnicas de ingeniería genética parten desde las mismas prácticas desarrolladas por nuestros antepasados; quienes utilizaban microorganismos para hacer pan, vino y queso; hoy existen técnicas tan avanzadas como la transgénesis y la clonación.

La transferencia de genes permite producir organismos (biorreactores) con cualidades productivas de gran utilidad, principalmente en la industria farmacéutica, de derivados lácteos (quesos), xenotransplantes, utilizando animales como cerdos, ovejas, cabras o vacas. Se convierten así las fincas en "fincas moleculares" o también llamadas "fincas farmacéuticas".

Científicos opinan que dentro de pocos años se producirán vacas transgénicas a gran escala y que sus productos adicionales estarán en el mercado unos años después.

Summary

Biotechnology has had a considerable economic impact on food, agricultural, industrial and medical sectors, among others, generating ambitious worldwide research and development projects. This is the reason why countries are updating their legislations to adjust them to the advances in this area.

Advances in genetic engineer techniques part from the same practices developed by our predecesors, who used microorganisms to manufacture bread, wine and cheese; today there are advanced techniques such as transgenesis and clonation. Gene transfer produces organisms (bioreactors) with high utility production qualities in the pharmaceutical, lactic (cheese), xenotransplant industries, using animales such as pigs, sheep, goats or cows, that convert farm in "molecular farms" also called "pharmaceutical farms".

Scientists think that in a few years transgenic cow will be produced at a great scale and their traditional products will be in the market some years later.



Fincas Farmacéuticas o Moleculares

INTRODUCCIÓN

El ADN (Ácido Desoxirribonucleico) constituye un compuesto esencial para la vida, ya que regula las funciones básicas de los seres vivos. Se sitúa normalmente dentro del núcleo de las células, aunque también es posible encontrarlo a nivel citoplasmático en bacterias como los Plasmidios. Contiene el material genético o genes, que permiten y regulan la síntesis de una serie de proteínas que van a formar parte estructural (por ejemplo, músculo o proteínas lácteas) o parte de enzimas y hormonas, que regulan el metabolismo tanto a nivel celular como general. Se transmite a la descendencia a través de los gametos (óvulos y espermatozoides) en el momento de la fecundación.

La genética molecular moderna ha desarrollado métodos adecuados que permiten trabajar específica y repetidamente con ADN, como portador de la información genética. Es posible pronosticar que el futuro de la producción animal será afectado directamente y que los métodos de la producción animal convencional serán complementados y posiblemente también parcialmente reemplazados.

La Biotecnología, entendida como la manipulación de células vivas y sus componentes a través de distintas técnicas y procedimientos, ya ha tenido un considerable impacto económico en diferentes sectores:

- **Alimentarios:** Produciendo y comercializando edulcorantes y saborizantes, aminoácidos, pigmentos, vitaminas, etc.



- **Agrícolas:** Produciendo variedades transgénicas de tomates, patatas, algodón, maíz, soya, entre otros.

- **Industriales:** Influyendo en los sistemas de producción de metano o etanol, producción de variedades de microorganismos capaces de elaborar sustancias farmacológicas o alimenticias y de metabolizar aceites para eliminar contaminaciones, mercado de enzimas, etc.

- **Médicos:** Revolución en métodos terapéuticos de tratamiento de las enfermedades hereditarias y adquiridas como los anti-mieloma por inyección de TIL (Linfocitos T infiltrados), transformados con TNF (Factor Necrótico de Tumores).

Todo esto ha generado ambiciosos proyectos de Investigación y Desarrollo a gran escala, convirtiendo a la biotecnología en un sector estratégico de la economía.

Como cualquier instrumento, la biotecnología no es mágica. El éxito de su aplicación depende de reconocer atentamente la ocasión y tomar en cuenta la necesidad de

incluirla en un conjunto tecnológico más amplio. También exige evaluar atentamente los costos y los riesgos que acarrea, así como los beneficios que pueda producir. Y de igual importancia, estas decisiones tienen que tomarse en un marco normativo que promueva y proteja el interés público.

RESEÑA HISTÓRICA

La biotecnología existe desde hace miles de años, quizás se inició desde que nuestros antepasados utilizaban microorganismos para hacer pan, vino y queso.





En el decenio de 1860 adquirió una condición más científica, gracias al trabajo de Pasteur con microorganismos y a la fitogenética de Mendel. El trabajo de ambos dio lugar, a inicios del siglo XX, a experimentos de selección y mejoramiento y 50 años después a la producción comercial de variedades de cultivos y animales, especies mejoradas e híbridos.

A continuación se relacionan cronológicamente una serie de eventos que impactaron al mundo científico:

Cuadro No. 1 Cronología de eventos científicos reproductivos

AÑO	EVENTO
1950	Se logra congelar con éxito semen de toro a 79 grados bajo cero para transporte e insimulación de vacas.
1952	Thomas King y Robert Briggs clonan ranas a partir de células indiferenciadas.
1962	Jhon Gurdon clona también ranas, pero a partir de células de renacuajos adultos.
1973	Stanley Cohen y Herbert Boyer elaboran la técnica de clonación de genes.
1978	Nace Baby Louise, el primer bebé concebido mediante fecundación in vitro.





1982

Científicos de la U. de Seattle, San Diego y California, obtienen un ratón transgénico portador del gen de la hormona del crecimiento de la rata.

1984

Primer nacimiento de un bebé a partir de un embrión congelado.

1985

El laboratorio de Ralph Brinster obtiene cerdos transgénicos que producen la hormona humana del crecimiento.

1987

PPL Therapeutic consigue una oveja transgénica que produce en la leche la proteína humana alfa-1 antitripsina.

1987

Primera cepa de ratones portadores de genes humanos.

1991

Steve Rosenberg realiza la primera terapia génica en pacientes con melanoma maligno.

1992

Primera inyección intracitoplasmática nuclear de espermatozoides.

1995

Ian Wilmut y Keith Campbell obtienen a Megan y Morag, dos corderos nacidos de células de un feto de 26 días.

1995

Nace el primer bebé concebido a partir de un ovocito y una espermátida.



1996

Primer xenotransplante de un corazón de cerdo humanizado a un babuino.

1997

Ian Wilmut presenta a Dolly.

1997

Don Wolf consigue los primeros clones de macacos a partir de células de diferentes embriones.

1998

Nacen George y Charley, una pareja de terneros engendrados a partir de núcleos de células embrionarias.

1998

El Dr. Richard Seed anuncia su intención de clonar bebés humanos.

1998

Cibelli y col. obtienen vacas clónicas transgénicas por transferencia nuclear a partir de células fetales diferenciadas.

1999

Baguisi y col. obtienen cabras transgénicas por transferencia nuclear.

2001

Nace ANDI, macaco modificado con genes de medusa (proteína fluorescente).

2003

En Australia presentan vacas transgénicas que producen mayores niveles proteínicos en la leche.



DEFINICIONES NORMATIVAS

En el ámbito mundial, los países están actualizando sus legislaciones para adaptarlas a los nuevos avances biotecnológicos. Como ejemplo tenemos las definiciones realizadas sobre el término "Organismo Modificado Genéticamente" (OMG):

1. Protocolo de Cartagena:

"Un organismo cuyo material genético ha sido modificado de una manera que no acaece en el apareamiento y/o recombinación natural".

En los términos de esta definición, la modificación genética se entiende producida por el uso de técnicas como:

- La obtención de moléculas de ADN recombinante mediante la utilización de vectores.
- La incorporación directa en un organismo de ADN extraño, incluyendo las técnicas de microinyección, macroinyección y microencapsulación.

- Técnicas de fusión o hibridación celular, incluyendo la fusión de protoplastos.

Se excluyen, en cambio, de forma explícita otras técnicas como son la fecundación in vitro, la conjugación, transducción y transformación bacterianas y la inducción de poliploides.

2. Legislación Argentina:

Aquel organismo en el que cualquiera de sus genes u otro material genético ha sido modificado por medio de las técnicas siguientes:

- La inserción por cualquier método de un virus, del plasma bacteriano u otro sistema vector de una molécula de ácido nucleico, que ha sido producido por cualquier método fuera de ese virus, plasma bacteriano u otro sistema vector, de manera tal de producir una combinación nueva de material genético, el cual es capaz de ser insertado en un organismo en el que esa combinación no ocurra naturalmente y dentro del cual será material genético heredable.
- La inserción en un organismo, por microinyección, macroinyección, microencapsulación u otros medios



directos, de material genético heredable preparado fuera de ese organismo.

- Donde se involucre el uso de moléculas de ADN recombinante en fertilización in vitro que implique la transformación genética de una célula eucariótica.

3. Directiva 2001/18/CE del Parlamento Europeo y del Consejo (12/03/2001):

"El organismo, con excepción de los seres humanos, cuyo material genético haya sido modificado de una manera que no se produce naturalmente en el apareamiento ni en la recombinación natural".

Según esta definición, se produce una modificación genética siempre que se utilicen técnicas como:

- Recombinación del ácido nucleico que incluya la formación de combinaciones nuevas de material genético mediante la inserción de moléculas de ácido nucleico - obtenidas por cualquier medio, fuera de un organismo en un virus, plásmido bacteriano u otro sistema de vector y su incorporación a un organismo hospedador en el que no se encuentren de forma natural, pero puedan seguir reproduciéndose.

- Técnicas que suponen la incorporación directa en un organismo de material hereditario preparado fuera del organismo, incluidas la microinyección, la macroinyección y la microcapsulación.

- Técnicas de fusión de células (incluida la fusión de protoplastos) o de hibridación en las que se formen células vivas con combinaciones nuevas de material genético hereditario mediante la fusión de dos o más células utilizando métodos que no se producen naturalmente.

4. Resolución No. 2935 de octubre 23 de 2001, del Ministerio de Agricultura y Desarrollo rural de Colombia:

"Por la cual se reglamenta y establece el procedimiento de bioseguridad para la introducción, producción, liberación, comercialización, investigación, desarrollo biológico y control de calidad de Organismos Modificados Genéticamente (OMG) de interés en salud y producción pecuaria, sus derivados y productos que los contengan".



ANIMALES TRANSGÉNICOS

Normalmente, en los organismos superiores animales o vegetales, la información genética se transmite por mecanismos de reproducción sexual; es lo que se conoce como transmisión genética vertical. Sin embargo, hace ya unos 20 años se logró obtener los primeros ratones transgénicos mediante transferencia génica por inyección directa de ADN extraño en un cigoto obtenido por fecundación in vitro; es decir, se trataba de una transmisión genética horizontal, también llamada **Transgénesis**.

Los primeros avances logrados en técnicas de ingeniería genética se refirieron al manejo de ADN recombinante (portador de la información genética), construcción de plásmidos (ADN circular citoplasmático) y técnicas asociadas como la manipulación de embriones y cultivo de tejidos. Actualmente es perfectamente posible aislar ADN, fragmentarlo en lugares específicos, introducir un trozo de él (un gen) en vectores o vehículos para transportarlo de un individuo a otro (de la misma o de diferente especie) y obtener múltiples copias de un gen a través del proceso de clonación del ADN.

Transferencia de genes significa transferencia e integración del ADN recombinado in vitro y su estructura acoplada al genoma del receptor. Si la estructura de ADN se integra en el genoma del receptor, éste se denomina **Transgénico**. El producto de ese transgén, una proteína codificada por el ADN transferido, es el **producto Transgénico**.

Con la ayuda de la transferencia de genes se pretende lograr que una determinada cualidad en el organismo receptor sea modificada o una nueva sea incorporada. Además se espera que el transgén integrado en el genoma sea transmitido a la herencia, con el fin de establecer una línea transgénica.

Una proteína puede ser producida a partir de un gen foráneo por bacterias, levaduras, células animales en cultivo o animales transgénicos. Un gen puede ser introducido in vivo a células somáticas únicas, tratamiento denominado terapia génica que produce tejidos transgénicos con alguna nueva función o propiedad, o puede ser incorporado a células germinales (embrionales), de donde se obtiene un animal transgénico propiamente.

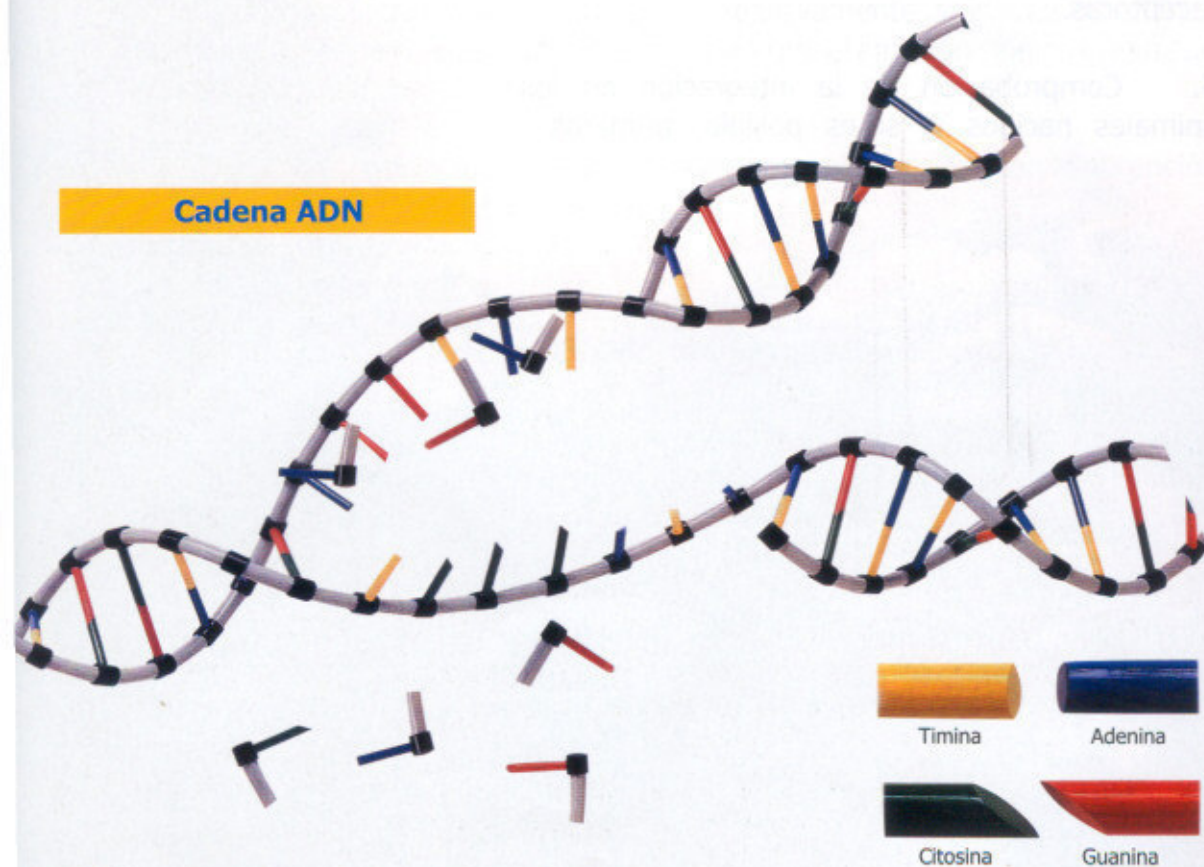


TÉCNICAS DE OBTENCIÓN

Para la obtención de animales transgénicos se utilizan técnicas como:

- Microinyección de ADN en núcleo de ovocito.
- Microinyección de ADN en pronúcleo o en citoplasma de cigoto (óvulo fecundado).
- Electroporación de cigoto.
- Transfección de células totipotentes.
- Co-inyección en ovocitos de una mezcla de cabezas de espermatozoides y ADN exógeno.
- Vectores virales.
- Transfección de gametos.

Cadena ADN





- Transferencia de núcleos transfectados (clonación).

La producción de mamíferos transgénicos puede dividirse básicamente en seis fases:

1. Clonado de las estructuras génicas y producción de la solución inyectable de ADN.
2. Preparación de los animales donantes y obtención de los ovocitos o embriones.
3. Exposición de los pronúcleos y microinyección del ADN.
4. Transferencia de los embriones inyectados al oviducto o, después de un cultivo temporal, al útero de receptoras.
5. Comprobación de la integración en los animales nacidos y, si es posible, primeras





evaluaciones de la expresión del transgen en los niveles de transcripción (ARN) y translación (proteína).

6. Producción de descendencia transgénica por medio de métodos convencionales y evaluación de eventuales mutaciones presentes a través de la formación de líneas homocigotas (test de homocigosis).

Como reconocen los genetistas, el éxito de la microinyección, que sólo se puede saber después del nacimiento, es terriblemente bajo. Por ejemplo, los científicos de PPL Therapeutics invirtieron años en obtener un rebaño de 600 ovejas transgénicas, productoras en la leche de la proteína humana alfa-1 antitripsina, para el tratamiento de la fibrosis quística; de ellas, únicamente el 6% portaba el gen deseado.

Por el contrario, la tecnología de transferencia nuclear permite a los investigadores seleccionar como donantes exclusivamente las células que tienen el gen de la proteína terapéutica. Así se asegura que el embrión clónico origine un auténtico transgénico.

En el cuadro No. 2 se incluyen los principales hitos relacionados con la obtención y desarrollo de mamíferos transgénicos:

Cuadro No. 2. Desarrollo histórico de mamíferos transgénicos

AÑO	EVENTO
1938	Spemann propone experimento con transferencia nuclear.
1949	Hammond mantiene embriones de ratón en cultivo in vitro.



1961

Tarkowski obtiene ratones quiméricos agregando embriones.

1966

Lin describe la técnica de microinyección de embriones de ratón.

1980

Gordon, Ruddle y col. obtienen los primeros ratones Transgénicos por microinyección de ADN en el pronúcleo de cigotos de ratón.

1981

Evans y Kaufman obtienen células embrionarias totipotentes de ratón.

1982

Palmiter y col. obtienen ratones transgénicos gigantes mediante transgenes de hormona de crecimiento humana.

1983

McGrath y Solter desarrollan una nueva técnica para experimentos de transferencia nuclear en ratón

1985

Hammer y col. obtienen animales de granja transgénicos (conejos, ovejas, cerdos) con el transgen de la hormona de crecimiento humana.



1987

Thomas y Capecchi obtienen los primeros ratones Knockout por recombinación homóloga.

1989

Clark y col. obtienen ovejas transgénicas con el gen humano del factor IX de coagulación de la sangre mediante microinyección de ADN en el pronúcleo del cigoto.

1991

Wright y col. obtienen ovejas transgénicas con el gen humano de la alfa1 antitripsina mediante microinyección de ADN en el pronúcleo de cigotos.

1991

Ebert y col. obtienen cabras transgénicas con el gen AtPH humano (activador tisular de plasminógeno) mediante microinyección de ADN en pronúcleo de cigoto.

1991

Krimpenfort y col. obtienen vacas transgénicas con el gen humano de la lactoferrina mediante microinyección de ADN en el pronúcleo de cigotos.

1993

Nagy y Rossant obtienen ratones quiméricos por co-cultivo de embriones.

1993

Schedl y col. obtienen ratones transgénicos con cromosomas artificiales de levaduras.

1994

Brinster y col. obtienen ratones transgénicos por transplante de espermatogonias.



1996

Campbell y col. obtienen ovejas clónicas por transferencia de células embrionarias en cultivo.

1997

Wilmut y col. obtienen ovejas clónicas por transferencia nuclear de células diferenciadas fetales y adultas en cultivo.

1997

Schnieke y col. obtienen ovejas clónicas clónicas transgénicas por transferencia nuclear a partir de células fetales diferenciadas.

1998

Cibelli y col. obtienen vacas clónicas transgénicas por transferencia nuclear a partir de células fetales diferenciadas.

1999

Baguisi y col. obtienen cabras transgénicas por transferencia nuclear.

1999

Yanagimachi y col. obtienen ratones transgénicos mediante la coinyección de cabezas de espermatozoides y ADN exógeno.

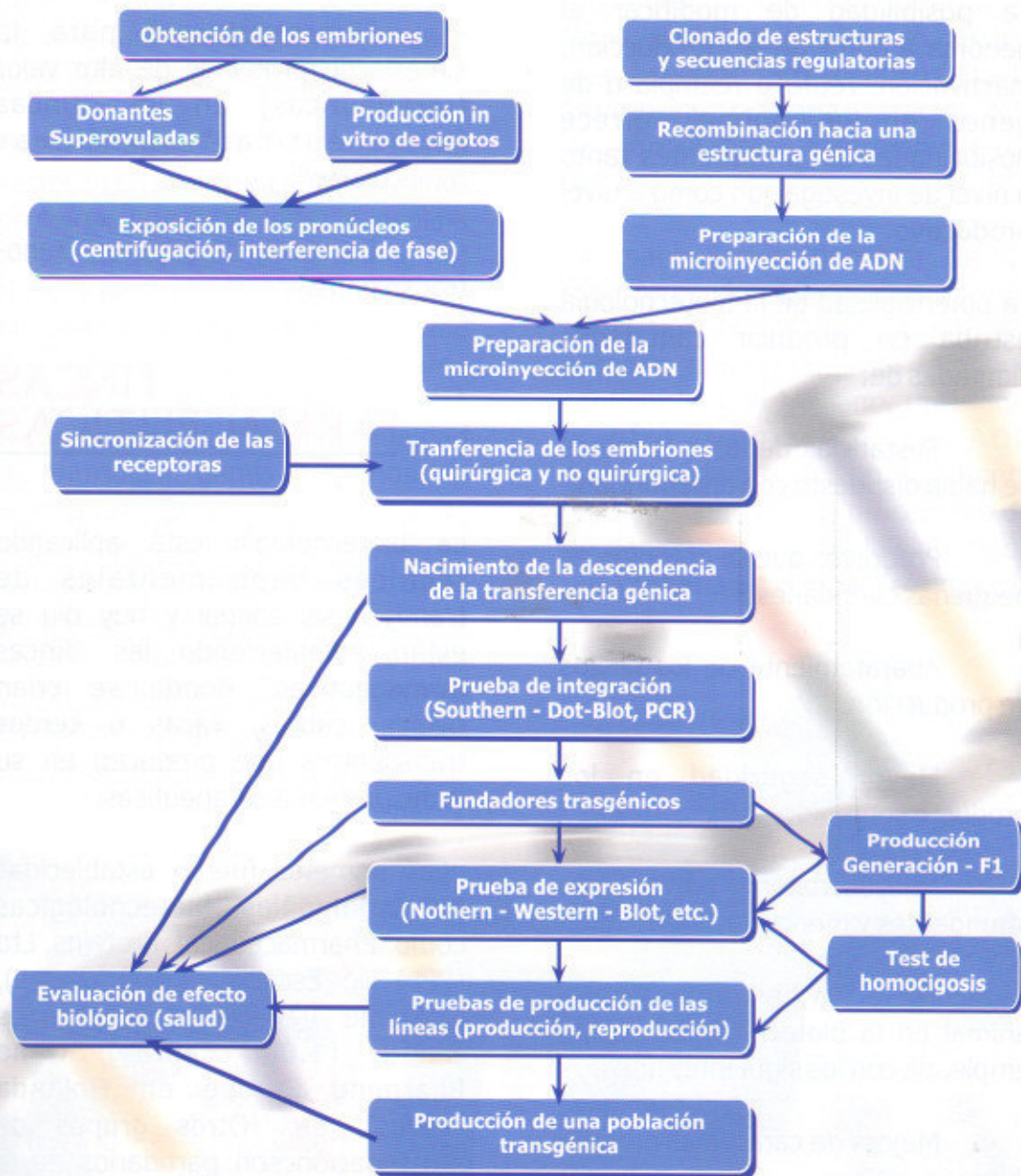
2001

En el Centro de Investigación de Primates de Oregon nace Macaco modificado genéticamente con proteína Fluorescente verde de Medusa.

Tomado de GENÉTICA Y BIOÉTICA, 1999.



Figura No. 1. Desarrollo esquemático de un programa de transferencia génica en animales de interés productivo.





APLICACIONES DE LA TRANSGÉNESIS

La posibilidad de modificar el genoma a partir de la introducción, inactivación, retiro o reemplazo de genes en un animal, ofrece posibilidades sin precedentes tanto a nivel de investigación como a nivel productivo.

La potencialidad de la biotecnología estriba en producir cantidades ilimitadas de:

- Sustancias de las que nunca se había dispuesto con anterioridad.
- Productos que se obtenían en pequeñas cantidades.
- Abaratamiento de los costos de producción.
- Mayor seguridad en los productos obtenidos.
- Nuevas materias primas, más abundantes y menos costosas.

La incorporación de la transgénesis animal en la biotecnología ha sido empleada con los siguientes fines:

- Mejora de caracteres productivos.

- Resistencia a enfermedades.
- Modelos animales de enfermedades humanas (ratones Knockout).

- "Biorreactores" para la síntesis de proteínas de alto valor (terapéuticas) en las "fincas farmacéuticas" o "fincas moleculares".

- Donación de órganos: Xenotransplantes.

FINCAS FARMACÉUTICAS

La biotecnología está aplicando técnicas experimentales de transgénesis animal y hoy día se están estableciendo las "fincas farmacéuticas" donde se crían ovejas, cabras, vacas o cerdos transgénicos que producen en su leche proteínas terapéuticas.

Las primeras fueron establecidas por compañías biotecnológicas como Pharmaceutical Proteins Ltd (PPL) en Escocia (1.500 ovejas), Genzyme Transgenics en Estados Unidos (1.000 cabras), Gene Pharming Europe en Holanda (Vacas), etc. Otros grupos de investigación son partidarios de la



utilización de cerdos transgénicos por su corto tiempo de gestación (cuatro meses), el intervalo generacional (un año) y el tamaño de la camada (10 a 12 lechones), y además una cerda lactante produce unos 300 litros de leche al año.

Hasta la aparición de la ingeniería genética en la década de los setenta, proteínas humanas como la insulina y la hormona del crecimiento, necesarias para tratar la diabetes y otras enfermedades, debían aislarse de animales o de cadáveres humanos. La tecnología del DNA recombinante ofreció la oportunidad de introducir genes humanos en bacterias y en otros microorganismos para convertirlos en fábricas vivas de insulina y de otras proteínas humanas. En la última década, algunos científicos han considerado que esta estrategia está limitada a la obtención de moléculas

sencillas y han apostado por la utilización de animales transgénicos de granja para incorporar genes humanos en sus glándulas mamarias y secreten, junto a la leche, proteínas de elevado costo y gran beneficio farmacéutico (alfa-1-antitripsina, proteína C, factor VIII de coagulación, antitrombina III, entre otras).

La manipulación genética de un mamífero doméstico transgénico consiste, en primer lugar, en preparar el fragmento de ADN que contiene el gen humano, uniéndolo a otro fragmento de ADN correspondiente a un elemento regulador (promotor) procedente de un gen que promueve la síntesis de una proteína de la leche (ejemplo, la





b-lactoglobulina, la caseína, etc.); de esta manera se asegura que el gen humano sólo se expresará en las células de las glándulas mamarias del animal transgénico obtenido tras la inyección del ADN manipulado en el pronúcleo masculino de un cigoto producido por fecundación in vitro.

Es importante señalar que el animal transgénico no se ve perjudicado en su desarrollo porque el gen humano sólo se expresa en las células de las glándulas mamarias debido al regulador específico al que se le ha asociado y, por tanto, en las restantes células del animal no se sintetiza la proteína humana al estar silenciado el gen humano. En consecuencia, el animal doméstico ha sido

Convertido en un gran BIOREACTOR sin perjuicio aparente para él.

XENOTRANSPLANTES

La posibilidad de recurrir a especies animales como donantes de órganos se planteó hace ya muchos años; Entre 1964 y 1995 se han realizado 32 xenotransplantes de riñón, corazón, hígado y médula ósea procedentes mayoritariamente de chimpancé y mandril, con resultado negativo en todos los casos. Una causa importante del fracaso de los xenotransplantes es el rechazo hiperagudo que se produce cuando el organismo humano reconoce la presencia del órgano de otra especie.

El primer paso que se ha dado ha consistido en la obtención de cerdos transgénicos capaces de expresar el antígeno





regulatorio del complemento humano, evitando así el rechazo hiperagudo (Dr. David J.G. White, en Cambridge, 1992).

VACAS TRANSGÉNICAS

La gran producción lechera de las vacas las convierte en poderosos biorreactores de proteínas humanas. En 1991, grupos de investigación en Holanda obtuvieron vacas transgénicas portadoras del gen humano de la lactoferrina que se sintetizaba en la leche del animal por estar unido al promotor de la alfa S1-caseína bovina.

Más tarde, otro grupo de investigación (Cibelli et al., 1998) obtuvo tres terneros clónicos transgénicos que llevaban el transgén híbrido b-gal-neo que se expresaba como un promotor muy potente del citomegalovirus.

Otros objetivos pueden ser la aplicación de la técnica conocida como "modelo de la glándula mamaria" para reducir la lactosa (para los casos de intolerancia) o fabricar "in vivo" leche maternizada, suprimiendo el gen de la b-lactoglobulina de la leche de vaca para imitar a la leche humana que no la tiene.

Gotz Laible y col., del Centro de investigación Ruakuram en Hamilton, Nueva Zelanda, clonaron 11 vacas transgénicas capaces de producir leche con mayores niveles proteínicos (caseínas), lo que ofrece grandes beneficios para la industria de los quesos; nueve lograron producir leche con un incremento del 8 al 20% de beta-caseína, y el doble de niveles de kappa-caseína. El trabajo consistió en tomar cultivos de células de vacas a las que se les añadió genes extra de caseína; se tomaron los núcleos de las células en cultivo y se introdujeron en óvulos de otras vacas; los embriones fueron transferidos; se combinaron las técnicas de clonación con la modificación genética.

Laible y sus colaboradores estiman que dentro de cuatro años será posible producir vacas transgénicas a gran escala y que los productos lácteos con estas características adicionales estarían en el mercado dentro de 10 años.



Bibliografía

1. Abrir la caja de herramientas de la biotecnología. En: <http://e-campo.com>.
2. ANDI...El primer mono transgénico (2001). En: <http://www.healthig.com>.
3. ANIMALES TRANSGÉNICOS (2000). Granjas farmacéuticas. En: <http://webcd.usal.es>.
4. BUENO, M. Alimentos transgénicos. Bol. Pediatría. 2000; 40: 230 - 233.
5. Clonan vaca que da leche más proteínica (Enero / 2003). En: <http://www.reforma.com>.
6. Cuestiones ético - científicas (2002). Cátedra de Biotecnología, Biodiversidad y Derecho. En: <http://www.biotech.bioetica.org>.
7. DOLLY: una oveja clónica (2001). En: <http://www.vcl.sld.cu>.
8. LACADENA J.R. (1999) Genética y Bioética. C.N.I.C.E. En: <http://www.cnice.meced.es>
9. LHORENTE J.P. (1999) Transgénesis en animales domésticos. Publicación Técnica Ganadera. No. 25. Universidad de Chile.
10. PALMA G.A.; BREM G. (1993). Transferencia de embriones y biotecnología de la reproducción en la especie bovina. Ed. Hemisferio sur. Pág. 267 - 288.
11. Que es un OMG? (2002). Cátedra de Biotecnología, Biodiversidad y Derecho. En: <http://www.biotech.bioetica.org>
12. RESOLUCION 2935 de octubre 23 de 2000. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural; Instituto Colombiano Agropecuario. Produmedios. Bogotá D.C. 2001. 35 páginas.
13. Uso de AGM (2002). Cátedra de Biotecnología, Biodiversidad y Derecho. En: <http://www.biotech.bioetica.org>
14. Vacas transgénicas y clónicas facilitan la producción de queso (2003). En: <http://www.consumaseguridad.com>