

# TRANSFERENCIA NUCLEAR DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CLONACIÓN): APLICACIONES EN PRODUCCIÓN ANIMAL Y BIOTECNOLOGÍA

**Ricardo Felmer D.**  
Bioquímico, Ph.D.  
rfelmer@inia.cl

**María Elena Arias**  
Bioquímica

**Gastón Muñoz V.**  
Bioquímico, Dr.  
INIA Carillanca

Durante la última década, la investigación y aplicación de nuevas tecnologías relacionadas con la reproducción animal ha evolucionado de manera acelerada gracias al desarrollo de técnicas que incrementan la capacidad reproductiva y que permiten un mayor progreso en el mejoramiento genético. Las técnicas de manipulación del proceso reproductivo que más atención han recibido son la inseminación artificial, la superovulación, la fertilización in vitro, el cultivo de embriones, la transferencia y congelación de embriones, el sexado de semen y embriones, y, más recientemente, la clonación de embriones.

La combinación de estas tecnologías y su uso en el ámbito comercial, forma parte de un sistema para producir y comercializar los mejores animales productores de leche, carne y lana. Sin embargo, en la actualidad, la clonación es la única técnica asexual de reproducción animal que permite producir individuos genéticamente idénticos a su progenitor, o bien al material nuclear con que se los generó. Ello da la posibilidad de incorporar más rápidamente un genotipo desde rebaños elite hacia los productores (para una comprensión más acabada del tema se recomienda



Con la clonación se abren grandes posibilidades para los productores, tales como tener rebaños de elite en solo una generación, conservar características valiosas de razas en peligro de desaparecer, e incluso formar "granjas farmacéuticas". En el laboratorio de Biotecnología Animal del Centro Regional Carillanca ya se avanza en la producción de bovinos utilizables como "biorreactores".

revisar [www.embrios.org](http://www.embrios.org) y [www.fmvz.unam.mx/fmvz/ciencia/vet/rvistas/CVvol19/CVv9c2.pdf](http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/ciencia/vet/rvistas/CVvol19/CVv9c2.pdf)).

La clonación animal puede darse en dos modalidades: por división (partición) de embriones o por transferencia nuclear. La primera consiste en la segmentación mecánica de un embrión en dos o más partes, generando individuos genéticamente idénticos denominados gemelos o clones. Sin embargo, esta forma de producir clones está

restringida por el número de células del embrión, ya que la división se realiza antes de la activación del genoma, que para el caso del bovino corresponde a un embrión al estado de ocho a dieciséis células.

En cambio, la tecnología de transferencia nuclear permite producir virtualmente copias ilimitadas de individuos genéticamente idénticos, pues el material de partida corresponde a un cultivo de células del animal progenitor que se quiere

clonar, las cuales se pueden hacer crecer en el laboratorio y conservar en nitrógeno líquido a perpetuidad. El nacimiento de la oveja Dolly en 1997, primer mamífero clonado a partir de células adultas, abrió el camino a una tecnología de creciente interés para la comunidad científica, por sus potenciales aplicaciones no sólo en producción animal sino también en medicina y biotecnología, debido a la posibilidad de producir proteínas con actividad farmacológica para el tra-

tamiento de enfermedades o a la posibilidad de generar animales compatibles para el trasplante de órganos.

A continuación se describen dos aplicaciones de la clonación en producción animal.

### Clonación y multiplicación de animales elite

Hasta la fecha, la multiplicación de animales elite se ha venido realizando mediante inseminación artificial, la cual suministra sólo la mitad de los genes. Con la clonación, los productores podrían recibir embriones que serían clones de las vacas más productivas de los rebaños elite, con lo que incrementarían la productividad de sus rebaños en tan sólo una generación.

En el escenario descrito, los embriones clonados se venderían de la misma forma en que hoy se comercializa el semen, con la ventaja de un transporte más fácil de los genotipos entre países, evitando los inconvenientes de la cuarentena. La clonación permitiría multiplicar animales de las razas seleccionadas, aumentando así la eficiencia productiva de las explotaciones pecuarias.

La gran ventaja de la clonación radica en la rápida diseminación e incorporación de determinados genotipos en los rebaños. Aunque existiría un riesgo de pérdida de diversidad genética, el problema se podría evitar restringiendo la venta a un número limitado de clones de cada genotipo por productor. De este modo, aun cuando los

rebaños de algunos productores consistieran sólo de animales clonados, si los clones provinieran de diferentes animales elite se incrementaría la diversidad genética en los predios.

### Conservación de especies y razas

La clonación también proporciona nuevas alternativas para la conservación genética. Ya se realizan esfuerzos por clonar especies en peligro, como el panda gigante, el búfalo o algunas ya extintas, como el tigre de Tasmania o incluso el mamut.

En el caso de los sistemas de producción pecuaria, la presión comercial de razas sujetas a sistemas intensivos de producción ha desplazado a muchas razas indígenas o criollas adaptadas a las condiciones locales (a modo de ejemplo, la raza Overo Negro en nuestro país). Estas razas pueden contener genes importantes que confieran resistencia a enfermedades y adaptación a las condiciones climáticas (frío/calor). Hay, por tanto, una urgente necesidad por prevenir su desaparición.

Los métodos actuales de conservación consisten en almacenar semen o embriones congelados, procesos largos y costosos. Como consecuencia, el futuro de sólo unas pocas razas está asegurado. La tecnología de clonación puede proporcionar una forma más simple y efectiva de conservarlas utilizando muestras de tejido (sangre, biopsias de piel, etc.) como fuentes de células, que podrían hacerse cre-



Proceso de transferencia nuclear.



Embrión clonado de ocho células.

cer rápidamente en el laboratorio y conservarlas en nitrógeno líquido, para ser utilizadas en experimentos de transferencia nuclear cuando se requiera recuperar estos animales.

La clonación también tiene aplicaciones biotecnológicas, como se explica a continuación.

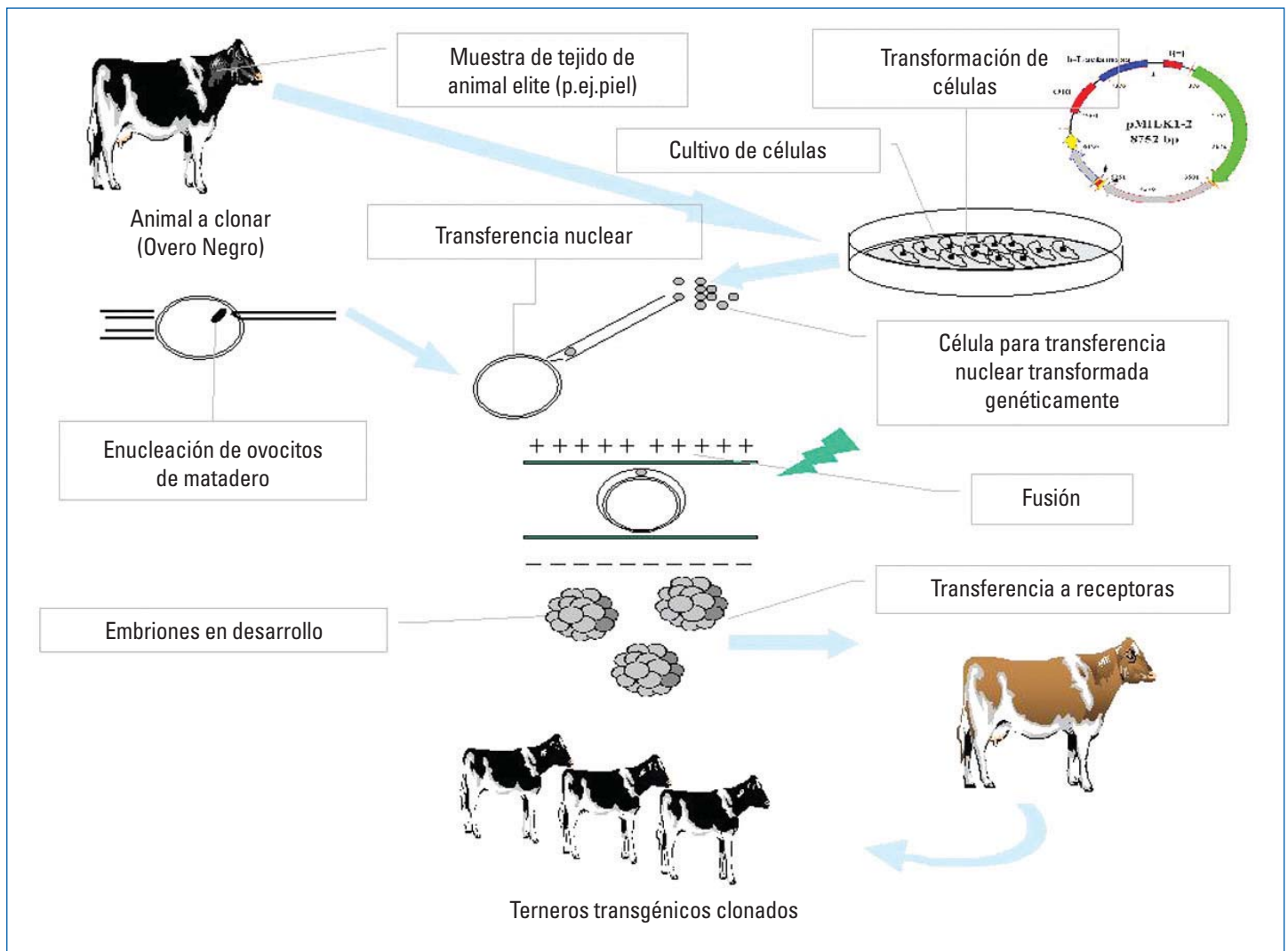
### Producción de proteínas en la leche

La clonación animal ha permitido generar con mayor eficiencia animales transgénicos, lo cual ha potenciado la capacidad de producir proteínas humanas con aplicaciones clínicas. En efecto, si la célula que se utiliza como donante de núcleos se manipula introduciendo un gen foráneo que codifica para una proteína de interés, se generarán animales clonados que serán además transgénicos.

Para lograr que el gen introducido en el genoma del animal produzca la proteína de interés en la leche, se fusiona este gen a un fragmento de ADN correspondiente a un elemento regulador de alguna de las

proteínas secretadas normalmente en la leche. Así, la proteína, ahora denominada recombinante o producto transgénico, se produce exclusivamente en la glándula mamaria. De esa forma, los animales son convertidos en poderosos biorreactores capaces de generar grandes cantidades de la proteína recombinante, que superan a los sistemas clásicos, como los cultivos celulares o microbianos.

La aplicación de dicha tecnología ha permitido establecer las primeras "granjas farmacéuticas". Allí se crían ovejas, cabras, vacas o cerdos transgénicos que producen en su leche proteínas terapéuticas para el tratamiento de enfermedades en humanos, tales como la hemofilia (factores de la coagulación), enanismo (hormona de crecimen-



to), diabetes (insulina) etc. Algunas de estas proteínas terapéuticas están en las últimas fases de pruebas clínicas, esperando la aprobación por la FDA para su comercialización.

Otras aplicaciones en animales que están siendo evaluadas, se relacionan con la posibilidad de modificar la composición de la leche. Importantes esfuerzos se han orientado a reducir los niveles de lactosa (para aquellos casos de intolerancia), suprimir la expresión de la  $\beta$ -lactoglobulina e incorporar lactoferrina para obtener una leche maternizada, más apta para el consumo de infantes. También se investiga para modificar las propiedades tecnológicas de la leche, incrementando los niveles de caseína para una mejor producción de queso. Finalmente, un mercado interesante se encuentra en la pro-

ducción de insumos industriales, particularmente enzimas, por los altos volúmenes demandados.

### En Chile: animales transgénicos como biorreactores

En el laboratorio de Biotecnología Animal de INIA Carillanca, gracias al apoyo de FONDEF, se busca establecer la plataforma tecnológica para la producción de bovinos transgénicos que puedan ser utilizados como biorreactores.

Con ese fin, se ha generado un vector de transformación genética para expresar una proteína recombinante específicamente en la glándula mamaria de un mamífero durante la lactancia. Dicho vector se ha evaluado *in vitro* en una línea celular mamaria, confirmando su funcionalidad y, en colaboración con el Laboratorio de Marcadores

Moleculares de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, se han generado los primeros ratones transgénicos en Chile, como modelo animal de un biorreactor biológico.

Actualmente se están realizando los esfuerzos para lograr el escalamiento de este modelo animal hacia el bovino. Ya se ha conseguido implementar la transformación genética de fibroblastos fetales y la tecnología de transferencia nuclear (clonación), lo cual ha permitido generar embriones transgénicos clonados e implantarlos finalmente en hembras receptoras sincronizadas.

Aun cuando la eficiencia del proceso de clonación es baja, esta tecnología permite asegurar que todos los terneros nacidos serán clonados y transgénicos, y se cons-

tituye en la principal herramienta tecnológica para la generación de animales transgénicos de granja ([www.inia.cl/bioanimal/transg/paper\\_transgenicos.pdf](http://www.inia.cl/bioanimal/transg/paper_transgenicos.pdf)).

Gracias al proyecto se espera, entonces, impulsar el desarrollo de la industria biotecnológica nacional y contribuir con un nuevo sistema productivo de proteínas recombinantes, más ventajoso en términos de costos operacionales, rendimiento, calidad e inocuidad del producto.

### Experiencias internacionales

Experiencias similares existen en el mundo y el ejemplo más cercano se encuentra al otro lado de la cordillera, donde la empresa biotecnológica Biosidus, generó en septiembre del 2003 a "Pampa Mansa"

## GLOSARIO

**ADN:** ácido desoxirribonucleico ubicado en el núcleo de la célula. Contiene la información genética que se transmite a la descendencia.

**Biorreactor:** sistema que mantiene un ambiente biológicamente activo en el cual se lleva a cabo un proceso químico que involucra organismos o sustancias bioquímicamente activas derivadas de dichos organismos.

**Fibroblastos:** tipo de célula que constituye parte fundamental de la estructura de soporte de tejidos y órganos.

**Genotipo:** conjunto de los genes de un individuo que, junto con la variación ambiental, determina el fenotipo (aparición externa).

**Genoma:** todo el ADN contenido en un organismo o célula.

**Transferencia nuclear:** parte del proceso de clonación, que consiste en introducir el material genético de la célula a clonar en el ovocito de la misma especie, desprovisto de su propio material genético.

**Transgénico:** organismo que ha sido modificado mediante la adición de genes de origen externo, para entregarle nuevas y mejores propiedades.

**Vector de transformación:** fragmento de ADN circular que permite la inserción de un gen exógeno y su posterior multiplicación en bacterias (*E. coli*).

—una ternera de raza Jersey que porta el gen de la hormona de crecimiento humana (hGH)— y, más recientemente, bovinos capaces de producir en su leche un precursor de la insulina humana, una alternativa de producción que permitirá disponer de altas cantidades de medicamento idéntico a la proteína humana y a un menor costo.

Otro ejemplo es el de la empresa Goyaike, integrante del grupo argentino Perez Companc, que adquirió en 2002 la mayoría accionaria de la firma estadounidense Cyagra, dedicada a la clonación de animales. Goyaike, a diferencia de Biosidus, se dedica sólo a la clonación comercial de ejemplares de alto valor genético, habiendo generado a la fecha más de 16 toros clonados de pedigrí (Angus, Hereford y Holando).

Al igual que Biosidus, las empresas que generan granjas farmacéuticas utilizando procedimientos de clonación y transgénesis deben someter sus procedimientos a exhaustivas pruebas de seguridad y eficacia que garanticen el cumplimiento de cada uno de los requisitos regulatorios indispensables para obtener la aprobación del producto generado por la autoridad competente. Tal como en el pasado se hizo con la hGH recombinante e insulina, ambas producidas en la bacteria *Escherichia coli* y hoy utilizadas en el tratamiento de niños con retardo de crecimiento y diabetes, respectivamente.

Un estudio publicado hace poco por la FDA (Food and Drug Administration) concluyó que la carne y leche de bovinos, porcinos y caprinos clonados es indistinguible

de los animales no clonados, por lo que estos alimentos son tan seguros para su consumo como los provenientes de animales que se crían de manera convencional ([www.fda.gov/cvm/CloneRiskAssessment.htm](http://www.fda.gov/cvm/CloneRiskAssessment.htm)), aunque aún es necesario esperar la aceptación que tendrán estos productos por parte de los consumidores. **ta**

## BREVES

### LA PAMPA CELEBRÓ 35 AÑOS DE VIDA

Coronando la quinta Semana de Puertas Abiertas, el Centro Experimental La Pampa, en la Región de Los Lagos, celebró los 35 años de servicio a la agricultura nacional. Fue creado en 1972 mediante un proyecto presentado al Fondo Nacional de Desarrollo Regional (FNDR), con el objetivo de producir semillas de papa de alta calidad genética.

Entre los principales logros destacan la introducción y creación de las principales variedades de papa que se cultivan en Chile, entre ellas Desirée, Yagana, Pukará, y Karu. Es relevante, también, su contribución de tecnologías de producción, manejo agronómico y almacenamiento, además de sus actividades de capacitación técnica, la evaluación y multiplicación de variedades de cereales, lupino y ajo chilote, así como la introducción del arándano y la masificación del ganado Hereford para la producción de carne en sectores marginales, lo que le ha permitido ganarse el reconocimiento nacional e internacional.

En la ocasión se entregaron reconocimientos a los gestores del proyecto que dio vida a La Pampa: Primo Accatino y José Santos Rojas; al operario de campo José Hernán Andrade, y a Pablo Urso, perteneciente a la Unidad de Presupuesto del Instituto.



Entrega de reconocimientos a Primo Accatino, José Santos Rojas, Hernán Andrade y Pablo Urso.