

ANIMALES DE LABORATORIO



REVISTA DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA PARA LAS CIENCIAS DEL ANIMAL DE LABORATORIO

1 NOTICIAS DE SECAL

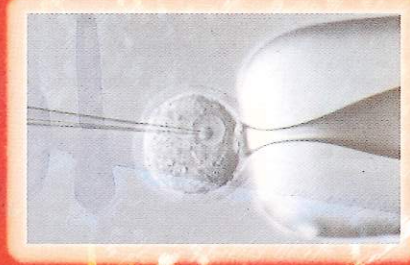
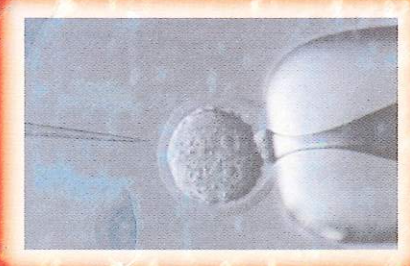
- ENTREVISTA A JORDI CANTÓ I MARTORELL

2 ARTÍCULOS

- CENTRO DE BIOTECNOLOGÍA ANIMAL Y TERAPIA GENICA (CBATEG)
- RATONES MODIFICADOS GENÉTICAMENTE EN EL CIEMAT
- APLICACIONES DE LOS MARCADORES MOLECULARES EN RATONES: SPEED -CONGENICS
LA TÉCNICA QUE HACE POSIBLE LA INTROGRESIÓN EN UN TIEMPO RAZONABLE
- TRANSGÉNESIS "À LA CARTE": TECNOLOGÍA ESPECIALIZADA AL SERVICIO DE LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA
- LA UNIDAD DE TRANSGÉNESIS DE SERVICIO DE BIOMEDICINA Y BIOMATERIALES DE LA UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA Y U.M.I. DEL HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO

3 LIBROS Y CONVOCATORIAS

4 VARIOS



**H
A
R
L
A
N**

*Ayudando a la investigación a
responder al desafío a nivel mundial*



¿Es necesario que cada centro de investigación en biomedicina tenga su Unidad de Transgénesis?

El pasado mes de septiembre se celebró en A Coruña la reunión del grupo de trabajo "Transgénesis en Mamíferos" (<http://www.cnb.uam.es/~transimp>) de la SEBBM (Sociedad Española de Biología y Bioquímica Moleculal) dentro de su XXVI Congreso Anual. Esta reunión monográfica llevaba por título "Generación y análisis de ratones transgénicos y mutantes en España: situación actual y perspectiva". El coordinador del grupo es el Dr Lluís Montoliu del Centro Nacional de Biotecnología en Madrid.

Las ponencias fueron presentadas por expertos de empresas privadas (Bionostra se presenta en este número de la revista) así como por responsables de diferentes Unidades de Transgénesis distribuidas por toda la geografía española.

Con la autorización del coordinador de la reunión, en esta edición de la revista se incluyen algunas de las ponencias presentadas: Ángel Ramírez nos muestra su larga trayectoria en el CIEMAT y Pedro Muniesa nos presenta la Unidad de Transgénesis de la Universidad de Zaragoza.

Los primeros centros que generaron OGM se localizaron en Madrid (CNB, INIA, CIEMAT) o en Barcelona (UAB, IRO). Desde hace pocos años se han ido creando Unidades de Transgénesis en estas y en otras ubicaciones: CNIO, Universidad de Sevilla, Universidad de Salamanca, Instituto de Biomedicina de Valencia, Parc Científic de Barcelona, CBATEC (UAB). La mayoría de estas Unidades están ubicadas en centros de investigación públicos en los que gran parte de su financiación proviene igualmente de fondos públicos. Aquellas instituciones que por su tamaño no pueden financiar este tipo de servicios han de recurrir a colaboraciones para poder acceder a estas tecnologías, absolutamente necesarias para el progreso en investigación biológica, biomédica y biotecnológica..

Esta poca accesibilidad de los centros pequeños y el hecho de que la gestión, equipamiento y mantenimiento de este tipo de servicio de soporte a la investigación es muy costoso debería hacer reflexionar sobre la idoneidad de que cada centro de investigación tenga su Unidad de TG funcionando de forma independiente.

En Europa, por ejemplo, a nivel local, en Suecia, el Instituto Karolinska (<http://www.kctt.ki.se/>); a nivel nacional, en Francia, el Proyecto Genopole (<http://rng.cnrg.fr/>), con el Institut Clinique de la Souris de Strasbourg a la cabeza (<http://www-genopole.u-strasbg.fr/>) o, a un nivel trans-nacional, el Proyecto Eumorphia (<http://www.eumorphia.org/>), o en Estados Unidos, la unidad de transgénicos de la New York University (<http://www.med.nyu.edu/nyuci/researchers/sharedcorefacilities/transgenic/>) o el Centre for Inherited Disease Research (<http://www.cidr.jhmi.edu/>) ilustran centros de referencia en los que o bien se coordinan o centralizan Unidades de Transgénesis y/o pla-

JUNTA DE GOBIERNO DE LA SECAL

PRESIDENTE:

José María Orellana Muriana
Centro Experimentación. Animal
U. Alcalá de Henares
Fax: 91 885 45 44
cea@uah.es

VICEPRESIDENTE:

I. Alvarez Gómez de Segura
Cirugía Experimentall
Hospital "La Paz". Madrid
Fax: 91 729 22 80
IAGSegur@ctv.es

SECRETARIO:

Luis Muñoz de la Pascua
Servicio Experimentación Animal
Universidad de Salamanca
Fax: 923 29 46 69
Imp@usal.es

VICESECRETARIO:

Xavier Cañas Perea
estab-far@far.ub.es

TESORERA:

Pilar Bringas de la Lastra
Facultad de Medicina
Universidad Complutense. Madrid
Fax: 91 394 12 28
cai.animalario@med.ucm.es

VICETESORERO:

Carlos Correa gospe
carlos.correa@hrc.es

VOCALES:

Pablo Aldazabal
Xavier Cañas
Pilar Cinca Gimeno
Carlos Correa
Antonio Martínez Escandell
Rosa M^a Morales Lamuela
José Antonio Perez de Gracia
Belén Pintado
Joana Visa i Esteve
Jorge Zapalero Lorenzo

SOC. BENEFACTORES:

BIOSIS S.L.
CONFECCIONES ANADE
CRIFFA
DINOX S.L.
FAGESA S.A.
GRANJAS S. BERNARDO
HARLAN IBERICA S.A.
ISOQUIMEN
JANVIER ESPAÑA S.L.
JAYTE
JOHNSON DIVERSEY ESPAÑA
PANLAB S.A
SOURALIT
STERIS-FINACUA

taformas tecnológicas asociadas para el estudio global, a nivel de genotipo y fenotipo, de los animales modificados genéticamente generados. De esta manera se pretende disminuir los costes y permitir una mayor accesibilidad a esta tecnología para aquellos grupos o centros de investigación que no puedan crear su propia unidad. La gestión de este tipo de centros es siempre complicada puesto que se han de coordinar diferentes instituciones.

En Catalunya existe un proyecto pionero, denominado Aliança Biomèdica de Barcelona (ABB), constituída el pasado mes de septiembre a partir de tres instituciones públicas (PCB, IDIBAPS y PRBB) entre cuyos objetivos está el intentar coordinar sus diversas Unidades de Transgénesis para constituir una plataforma tecnológica común.



JUNTA DE GOBIERNO

Informe de Presidencia. Febrero de 2004.

Como ya os indiqué en mi primera carta en la revista como Presidente de SECAL, es nuestra intención mantener abiertos los canales de comunicación con los socios. Para ello tengo la intención de publicar un informe de las actividades desarrolladas por la Junta y de otros miembros en los próximos números de la revista.

Información para los autores

La revista *Animales de Laboratorio* publicará trabajos relacionados con cualquier aspecto del uso de animales de laboratorio, y anima especialmente a la publicación de datos y observaciones obtenidos en instalaciones de producción y mantenimiento de animales, así como todas aquellas propuestas y experiencias que puedan contribuir a mejorar la calidad en la investigación y al bienestar animal, y favorecerá la publicación de trabajos realizados por sus miembros y aún más si son autores noveles.

La responsabilidad sobre la veracidad de los datos publicados corresponderá a los autores de los mismos. *Animales de Laboratorio* no se hace tampoco responsable de las opiniones vertidas por los autores de los artículos, ni su publicación indica, necesariamente, que se esté de acuerdo con las mismas.

Los trabajos deben enviarse al Editor de la revista: Manuel Moreno mediante correo electrónico a la dirección: m.moreno@cib.csic.es, o disquete informático al: Centro de Investigaciones Biológicas, Avd. Ramiro de Maeztu 9 . 28040 – MADRID

Objetivos de la Junta de Gobierno

Nueve son los puntos principales en los que estamos trabajando:

1. Elaboración de un Programa de Trabajo para estos dos años.
2. Elaboración de un Presupuesto General de Ingresos y Gastos anual.
3. Potenciación de la formación especialmente dirigida a Técnicos y Cuidadores.
4. Fomento de la actualización de la Legislación sobre experimentación animal.
5. Revisión del reglamento interno de la Sociedad para adecuarlo a las necesidades actuales de la sociedad.
6. Potenciación de la participación de los socios, externos a la Junta, con ganas de aportar sus conocimientos y trabajo.
7. Potenciación en la captación de nuevos socios.
8. Congreso 2005 en Levante.
9. Desarrollo de cualquier tema propuesto por nuestros socios, si está en nuestra mano.

Elaboración de un Programa de Trabajo para estos dos años.

Es idea de la actual Junta trabajar sobre los aspectos arriba relacionados con continuidad en futuras Juntas. El adelanto de fechas del próximo congreso (como se explica más adelante) así lo aconseja.

La elección de las personas responsables en las diferentes Vocalías se ha hecho de manera que se asegure dicha continuidad. Cada una de ellas trabajan ya en la elaboración de unos objetivos propios. En la reunión de la Junta del 13 de Febrero se expusieron varios de ellos y antes del 19 de Marzo deben estar definitivamente redactados.

La Junta de Gobierno ha quedado definitivamente constituida de la siguiente forma:

Presidente:	José María Orellana Muriana
Vicepresidente:	Ignacio Álvarez Gómez de Segura
Secretario:	Luis Muñoz de la Pascua
Vicesecretario:	Xavier Cañas Perea
Tesorera:	Pilar Bringas de la Lastra
Vicetesorero:	Carlos Correa Gorospe
Vocalías:	Pilar Cinca Gimeno (Relaciones con otras Sociedades) Pablo Aldazabal Amas (Relaciones con otras Sociedades) Belén Pintado Sanjuanbenito (Relaciones Exteriores) Rosa Morales Lamuela (Comunicación) Joana Visa i Esteve (Formación y Docencia) Antonio Martínez Escandell (Formación y Docencia) Jorge Zapatero Lorenzo
Congreso 2005:	José Antonio Pérez de Gracia Hernando

Elaboración del Presupuesto General de Ingresos y Gastos para el 2004

Siguiendo una idea de la anterior Junta, la Tesorera ha elaborado el presupuesto de ingresos y gastos previstos para el año 2004, partiendo de los balances de los años anteriores. Al no tener la SEAL carácter lucrativo se intenta obtener un balance equilibrado.

Potenciación de la Formación, Docencia y Publicaciones

La Vocalía de Formación pretende tener una visión realista y práctica de la situación en España, trazándose inicialmente, como objetivo prioritario, el de impartir un curso piloto dirigido a los cuidadores en un lugar concreto del país y, una vez que se vean los resultados, convertirlo en itinerante. Debido a la situación laboral de los cuidadores, es importante que el curso se lleve a sus lugares de trabajo para evitar que se tengan que desplazar ellos, facilitando así su asistencia.

Para saber cual es la situación nacional del colectivo de cuidadores y técnicos, la anterior Junta llevó a cabo una encuesta al respecto, entre los asociados, que se completará con la elaboración de una base de datos con las direcciones de trabajo de este colectivo para que reciban la información de forma directa, independientemente de si pertenecen o no a la SECAL.

La financiación de los cursos podría partir de la SECAL, en su mayor parte, a fondo perdido, aunque se intentará también apoyarse en la financiación de las propias instituciones donde se imparta el curso para formación de sus empleados.

Entre otros cursos previstos para 2004 tenemos:

- Criopreservación de Células Embrionarias. En colaboración con el CIEMAT (D. Jesús Martínez Palacios)
- Prevención de Riesgos Laborales en los Animalarios. En colaboración con el CIEMAT (D. Jesús Martínez Palacios)
- Curso práctico de Parasitología (en fase de estudio)
- Un seminario formativo coincidente con la Asamblea General a celebrar en Otoño de 2004.

Relaciones con I.A.T. (Institute of Animal Technology): Asumo las críticas vertidas en la Asamblea General sobre el escaso fomento de las relaciones con esta sociedad debidas, entre otras causas, a algunas diferencias por la distinta interpretación que se tiene de las categorías laborales de técnico en UK y en España.

Ya se han retomado los contactos a través de D. José Manuel Sánchez Morgado que actualmente trabaja en el Reino Unido. Mantuve conversaciones en Estrasburgo el pasado diciembre con miembros de I.A.T., llegando al primer acuerdo para acometer la traducción al español de un DVD de formación dirigido a técnicos, realizado por ellos, facilitando así su difusión en el ámbito hispanohablante.

Manual de Genética (Benavides/Guenet): Ya han sido distribuidas aproximadamente 500 unidades de este texto. Los libros serán enviados al resto de los socios junto con la próxima edición de la revista de la SECAL, asumiendo ésta los costes de envío.

Situación de la Legislación

Es intención de la Junta continuar con el trabajo desarrollado en años anteriores en todos los frentes legislativos, participando en todos los foros donde sea posible y colaborando con la Administración como expertos para que la legislación se implante lo antes posible.

Convenio ETS 123: El Convenio se encuentra prácticamente finalizado tras cuatro años de trabajo y solo faltan algunos detalles en los anexos sobre peces, aves y animales de granja, con lo que será posiblemente terminado y aprobado en la próxima reunión de Junio o Septiembre. A continuación deberá continuar con el proceso de aprobación por los Estados que lo ratificaron en su momento.

Directiva Europea: Con fecha 30 de Enero de 2004 se ha publicado una resolución del Parlamento Europeo donde se pide a la Comisión, entre otras cosas, que revise la Directiva y que se apoye en la revisión del Convenio ETS 123 del Consejo de Europa.

Esta solicitud se apoya en el llamado Informe Evans A5-0387/2002 publicado en la sesión del Parlamento Europeo de 13 de Noviembre de 2002.

Real Decreto sobre Animales de Experimentación: El documento ha pasado a la Secretaria Técnica del Ministerio de Agricultura y Pesca en diciembre de 2003, quedando excluidos los temas de formación, que se desarrollarán posteriormente en un Orden Ministerial.

Legislación en las Comunidades Autónomas: En breve se espera contar con los nombres de las personas responsables de la experimentación animal en cada una de las Comunidades Autónomas y así poder enviar a miembros de SECAL de

cada una de ellas como representantes de la sociedad, para intentar mantener las conversaciones necesarias para la implantación de la legislación.

Organismos Modificados Genéticamente: Se ha publicado en el BOE núm. 27 de 31 de enero de 2004 RD 178/2004 de 30 de enero. Se trata del Reglamento general para el desarrollo y ejecución de la Ley 9/2003 de 25 de abril, por la que se establece el régimen jurídico de la utilización confinada, liberación voluntaria y comercialización de organismos modificados genéticamente.

Revisión del reglamento interno de la sociedad para adecuarlo a las necesidades actuales de la sociedad.

Se está trabajando en ello para facilitar el funcionamiento interno de la sociedad.

Potenciación de la participación de los socios externos a la Junta con ganas de aportar sus conocimientos y trabajo.

En la Junta siempre se ha creído necesario intentar lograr una mayor implicación de los miembros de la sociedad ajenos a ella, para lograr el buen funcionamiento de la SECAL. A veces nos olvidamos de trasladar nuestra motivación al resto de socios y eso hace que se pueda producir un distanciamiento entre ambas partes.

La Junta necesita de la ayuda externa para mejorar la gestión de la Sociedad. Es por ello que estamos intentando delegar funciones en otras personas pero siempre con la coordinación de la Junta. En alguno de los puntos de este informe aparecen personas que colaboran o que se pretende que colaboren en un futuro.

La renovación de personas en las últimas elecciones a la Junta hace que estemos esperanzados en que nuestra sociedad siga en un camino ascendente, pero no nos debemos conformar ni acomodar con los logros que se vayan consiguiendo. Debemos ser ambiciosos e intentar integrar a todos los sectores, incluidos los que todavía no son nuestros asociados. En concreto hablo del colectivo más numeroso que son los Técnicos y Cuidadores y que menor representatividad tienen dentro de la SECAL.

Una sociedad fuerte hace que se nos tome en consideración como sector desde la Administración. Comparados con otros colectivos somos poco numerosos y si no logramos estar unidos y con objetivos comunes, será difícil que se nos tenga en cuenta.

Congreso 2005 en Levante de Carácter Internacional.

D. José Antonio Pérez de Gracia de la Universidad Miguel Hernández y D^a Ana María Madariaga han sido elegidos Presidente y Tesorera respectivamente del Comité Organizador del próximo Congreso Nacional de SECAL 2005.

La opción de sede que con más posibilidades cuenta, es el Palacio de Congresos de Elche. Las fechas propuestas serían del 18 al 20 de mayo de 2005.

El Presidente indica que se está buscando la colaboración de miembros de SECAL pertenecientes a Valencia, Murcia y Albacete debido a su proximidad geográfica.

Por otro lado D. Ignacio Álvarez como miembro de la Junta Directiva de la Sociedad Europea de Veterinarios de Animales de Laboratorio (ESLAV) comenta que en la última reunión de la misma se le propuso co-celebrar el congreso de esta sociedad con el nuestro. La Junta de Gobierno y el propio Comité Organizador han aprobado esta posibilidad. En breve se formará un grupo formado por personas de ambas sociedades para coordinar su organización.

D. José Antonio Pérez de Gracia expone por otra parte, que se han programado dos tardes con sesiones dirigidas a técnicos y que su filosofía respecto al programa social del congreso es que las casas comerciales sean las encargadas de desarrollar sus propias actividades paralelas si así lo desean.

Pide ayuda a todos los socios para elegir los temas a tratar en el próximo congreso. La Junta propone realizar una encuesta para ver las inquietudes entre los socios a través de SECAL-L y de la propia revista.

Página Web

D. Xavier Cañas ha sido nombrado responsable de la coordinación de la página web de la SECAL.

Propone como prioridades aumentar el poder de atracción de la web, la creación de un foro para mensajes clasificados por temas y actualizar la web de una forma más eficiente, para lo que pide la colaboración de todos los socios.

Desde la Junta se la encargó la búsqueda de una persona experta en informática pero perteneciente al mundo de las Ciencias del Animal de Laboratorio, para que sea la que directamente se encargue de actualizar la página.

Forum Barcelona 2004

D^a Pilar Cinca y D. Xavier Cañas han sido integrantes del grupo que ha organizado desde el Colegio de Biólogos de Cataluña las actividades de la Jornada sobre el Animal de Investigación que se va a celebrar el próximo 19 de Marzo dentro de los actos del Forum. La inscripción es gratuita.

Gracias a ellos, a otros miembros SECAL que pertenecen también a dicho Colegio y al excelente trabajo realizado por todos ellos, podemos vernos representados en el Forum.

Congreso San Sebastián 2004 SECAL.

D. Pablo Aldazabal Presidente del Congreso informó sobre el estado de cuentas a falta del cierre definitivo. Éste arrojó un saldo positivo, lo que unido al éxito en la organización, la parte científica y las actividades paralelas, hace que nos podamos sentir muy satisfechos.

Sirvan estas líneas para agradecer públicamente el esfuerzo del Comité Organizador y del Científico, rogando se haga extensivo a todos sus colaboradores.

Relaciones con Otras Sociedades

CBCAL. (Colegio de Biólogos de Cataluña): D^a Pilar Cinca comenta la reseña aparecida en el boletín de esta sociedad sobre el pasado congreso de la SECAL y una entrevista sobre la trayectoria profesional de nuestro Socio de Honor D. Jordi Cantó i Martorell, que reproducimos en este número de la Revista

Propone establecer una relación formal, reflejada en un acuerdo por escrito en el que se reseñen las bases de reciprocidad entre la CBCAL y la SECAL. El Presidente le ruega que redacte los puntos de dicho acuerdo.

Otras Noticias

- Jornada sobre Derechos de los Animales: Se propone que D. David Solanes Foz asista como ponente en representación de la SECAL al I Congreso sobre los Derechos de los Animales, Barcelona 26 y 27 de Febrero de 2004 en el Colegio de Abogados.

- CSIC: Se ha creado una nueva situación por el requisito que propone el CSIC para solicitar proyectos de investigación. Su Comité de Bioética, como queda reflejado en el anexo V de los documentos que hay que cumplimentar, exige un certificado del Director del Animalario donde se hagan constar una serie de puntos relacionados con los procedimientos experimentales. Es opinión de la Junta, que esto constituye una delegación de la responsabilidad ética del procedimiento experimental en la persona que lo firme, cuando ésta es una competencia exclusiva del Comité Ético pertinente. Hay que tener en cuenta que en la mayoría de instituciones no existe actualmente un comité ético. En cualquier caso se podría informar pero nunca certificar. En consecuencia, se encarga al Secretario la elaboración de una carta al Comité de Bioética del CSIC, informándole de este hecho y en el que se haga constar nuestra discrepancia en este punto.

- Beca: Se ha recibido una carta de AALAS en la que se solicita se designe una persona por parte de la SECAL para optar a una beca de B&K Universal, para asistir a la reunión anual de esta sociedad que tendrá lugar en otoño en Florida. Se va a mandar un correo electrónico a SECAL-L solicitando voluntarios, además de su publicación en la web, al objeto de tomar una decisión antes del primero de mayo, fecha límite de solicitud de la beca.

- Se fija el viernes 4 de junio de 2004 como fecha de la próxima reunión de la Junta de Gobierno de la SECAL.



Noticias de la SECAL

ENTREVISTA A JORDI CANTÓ I MARTORELL.¹

*Silvia Gómez Fernández.
Bióloga.*

*Responsable del Servicio de Estabulario IMIM-UPF-CRG
Instituto Municipal de Investigación Médica.
Universidad Pompeu Fabra.
Centro de Regulación
Genómica*



Jordi Cantó

Jordi Canto i Martorell nació en Barcelona en 1951, “siempre tuve claro que quería ser Biólogo” – explica con cierta satisfacción-. Se licenció en la Facultad de Ciencias de la Universitat Autònoma de Barcelona en 1976.

Se inició en el mundo de la investigación, dentro del ámbito de la Genética, a la que renunció al aceptar dirigir el Estabulario de Investigación Técnica y Aplicada (actual CIDA), ante la imposibilidad de compaginar las dos tareas. “Era un mundo que me gustaba” -dice- y decidió quedarse. Así, entró en el mundo del Animal de Laboratorio en el año 1978.

Hoy trabaja como Director del Servicio de Estabulario de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), desde 1980, cuando se creó este Animala-

rio tal y como lo conocemos ahora. Coordina el SIAL (Serveis Integrats de l'Animal de Laboratori), Asesor en Bienestar Animal del Comité de Ética de Experimentación Animal y Humana de la UAB (CEEAH) y es miembro de la Comisión de Experimentación Animal de la Generalitat.

Además, Jordi Cantó ha sido presidente de la Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio (SECAL) entre el 2000 y el 2004 y actualmente participa en un grupo de trabajo de la Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA) sobre ética en experimentación animal.

Pertenece al Colegio de Biólogos de Cataluña (CBC) y a la Comisión de Biólogos para las Ciencias del Animal de Laboratorio (CBCAL)

¹ Publicada en la revista CBCAT del Colegio de Biólogos de Cataluña de diciembre 2003

• *¿Cómo coordinas todas éstas ocupaciones?*

“La principal y a la que mas tiempo dedico es, lógicamente, la relacionada con la UAB – explica – el resto salen de horas de ocio y parte de los fines de semana”.

• *¿Cuál es la parte más difícil dentro de la coordinación de un Estabulario en la Universidad?*

“Concienciar a los equipos directivos y del gobierno, que a veces son más y a veces menos sensibles al tema, de la importancia que tiene un Servicio como éste, siempre, sin querer quitarle importancia a otros servicios similares... es un trabajo día a día demostrar la importancia que tiene como soporte a la investigación, en la docencia o en los temas del Bienestar Animal”

• *¿Es necesario el uso de animales de experimentación? Y ¿Qué provecho se obtiene, a quien beneficia?*

La utilización de animales sigue siendo, hoy en día, todavía necesaria en aquellos campos en los que no se dispone de técnicas alternati-

vas, debidamente validadas, que aporten la misma información que el uso de los animales.

Los beneficios que se derivan de la investigación con animales son muy amplios, tanto en investigación básica, como aplicada, y los beneficiarios pueden ser tanto para las personas como otros animales y el medio ambiente.

• *¿Qué garantías tiene la población de que el uso de animales de laboratorio es ético, que se tiene en cuenta el sufrimiento de un animal en condiciones experimentales y se combate el abuso?*

Las garantías de la ética en la utilización de animales, están estrechamente vinculados con la profesionalidad y la experiencia de las personas que trabajamos en éste sector. Tanto el personal investigador, responsables del diseño y ejecución del procedimiento experimental, como el personal experimentador y cuidadores han de ser personal acreditado, con la formación, tanto teórica como practica, en cuanto a la utilización de animales, que



LDG

LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO GENERAL

LABORATORIO DE ENSAYOS - ESTUDIOS DE RESIDUOS

INSPECCIONES Y TOMA DE MUESTRAS - IMPLANTACIONES SISTEMAS ISO 9000 · ISO 14000 · EMAS

ADECUACIÓN Y EVALUACIONES MEDIOAMBIENTALES LEY 3/98 IIAA

PROYECTOS CON TRATAMIENTO ESTADÍSTICO ESTUDIOS MULTICÉNTRICOS Y DE EFICACIA

Tels. 93 217 38 40 · 93 217 35 80 · Fax 93 415 10 44 · ldg@ldggrup.com · ldggrup.com

ACREDITACIONES: Generalitat de Catalunya: Junta de Sanejament, Departament de Sanitat i Seguretat Social. Direcció General de Producció i Indústries Agroalimentàries. Laboratorio Agroalimentario y Servei de Protecció a la Qualitat Agroalimentària. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Ministerio de Sanidad y Consumo.


Entidad Nacional de Acreditación
E N S A Y O S
Nº 269 / EE / 484

incluye aspectos éticos y de bienestar de éstos seres vivos.

- *¿Cómo ves la evolución que ha experimentado la utilización de los animales de experimentación o de laboratorio desde tus inicios como profesional hasta ahora?*

La valoro muy positivamente, tanto por el proceso realizado en los últimos años, como por las amplias expectativas de futuro que obran las múltiples actuaciones en la línea de la protección animal abiertas tanto a nivel de Cataluña, como al resto del Estado y Europa.

Jordi miembro de la SECAL:

Jordi Cantó pertenece a la SECAL desde su inicio hace unos quince años

- *¿Qué es la SECAL y que ofrece como sociedad?*

“La SECAL- explica Jordi- nace como necesidad de aglutinar éste colectivo de personas relacionada con el animal de laboratorio. Surgió a partir de una propuesta inicial aquí en Cataluña a la que pertenecía, el CIPCAL”

“La SECAL es una sociedad abierta a nivel Estatal donde tienen cabida todas las personas relacionadas con el animal de laboratorio en cualquier aspecto, desde los responsables de los Animalarios, al personal cuidador de los animales, el personal relacionado con la salud animal, los veterinarios, los propios investigadores... intenta que exista un concepto único de colectivo. Actualmente - continúa Jordi - somos unas 350 personas.”

El objetivo de la SECAL es el uso racional y ético del Animal de Laboratorio para ello coordina a las personas que colaboran basándose en dos aspectos:

- *La formación, con la finalidad de abastecer de las herramientas para que la gente se forme y así, estandarizar los diferentes procesos.*
- *Establecer un núcleo similar a otros países para ser valorados como sociedad.*

La SECAL es una sociedad muy activa, con una amplia representación de toda la geografía. Organiza acciones en diversos ámbitos: congresos, cursos, mesas redondas, etc. Se organiza una asamblea General a nivel estatal que normalmente

coincide con el congreso de la SECAL. Este congreso tiene lugar cada dos años en diferentes ciudades de todo el Estado. En ésta asamblea se presentan informaciones diversas sobre la Sociedad y también se renuevan la mitad de los componentes de la junta de Gobierno de la SECAL. Esta junta de Gobierno está constituida por 14 personas.

El presidente de la SECAL coordina la gente de la Junta de gobierno y otros componentes de la SECAL “que es mucha más de la que aparece en la foto -explica- hay personas que cumplen con tareas específicas como coordinar la edición de libros, la Revista, lleva los elementos de soporte, acerca la información a todos, organiza cursos de formación o que trabaja en el establecimiento de leyes de ámbito estatal. También participan como especialistas en determinados campos colaborando con FELASA, ICLAS, ESLAV..”.

- *¿Según tu opinión, a que nivel internacional podríamos situar al investigador que utiliza animales en Cataluña y en el resto del Territorio Estatal para investigación?*

La situación en Cataluña se puede considerar que adquiere un nivel muy alto, como consecuencia de la legislación específica sobre éste tema que data ya del año 1995. Esta legislación exige disponer de la figura de una persona asesora en bienestar animal en cada centro, establece la creación de Comités Éticos, también en cada centro, y condiciona la aprobación de los procedimientos más severos a una evaluación por una Comisión de Experimentación Animal dependiente de la Generalitat de Catalunya.

En el resto del Estado se está ultimando un proceso que situará al resto de autonomías al mismo nivel.

Jordi como miembro de la CEEAH.

El Comité de Ética de la UAB se creó en el año 94, cuando todavía la ley no había establecido la creación de estos comités.

“ Fué como una experiencia piloto, sabiendo que pronto la ley contemplaría, como después hizo, por el real decreto en el 97, la creación de los comités Éticos de Experimentación Animal, nos adelantamos para tomar experiencia, que a la vez

nos sirvió para asesorar a la administración al respecto en función de nuestra experiencia,”

Gracias a ésta experiencia, actualmente el CEEAH, funciona de manera fluida. En la página Web el investigador tiene a su disposición gran cantidad de información, desde el documento Normalizado para rellenar, con la finalidad de facilitar el trabajo en el momento de la evaluación por parte del Comité ético de un procedimiento en concreto, hasta las fechas de las próximas reuniones, también asesoramiento, tanto legal, como para diseñar los procedimientos.

“El investigador puede utilizar ésta valiosa herramienta de trabajo cuando ha de diseñar un procedimiento y cuenta con la asesoría directa de la secretaría, así como de los miembros asesores en bienestar animal del propio comité, que de manera directa pueden ayudarle a estandarizar determinado experimento, a la elección de la especie idónea para su finalidad científica, establecer una N correcta, orientar sobre procedimientos y técnicas específicas, como anestesia, analgesia o protocolos de supervisión. Una vez ha recibido ésta ayuda y ha confeccionado el protocolo éste pasa al CEEA.”

Para Jordi es muy importante aclarar que “lejos de hacer de policías”, el CEEA es una herramienta facilitadora para los investigadores que agiliza su trabajo, porque le brinda la información necesaria para elaborar un Protocolo de Experimentación Animal tanto a nivel legal como procedimental. Puede aportar mejoras al diseño y del Procedimiento y así optimizar, a la vez que garantizar la homogeneidad experimental del desarrollo de estudios o de la publicación de artículos. El investigador puede aprovechar éste grupo de expertos que provienen de campos muy diversos pero todos relacionados con la experimentación Animal. De éste modo los protocolos son más enriquecedores”

Un CEEA está constituido por un mínimo de tres miembros:

- Un asesor en bienestar animal del centro.
- Un representante de la unidad de garantía de calidad del centro, o un investigador del centro no implicado directamente con el procedimiento que se tenga que informar.
- Una persona con experiencia y conocimientos sobre bienestar de los animales que no es-

té relacionado con el centro o con el procedimiento del que se trata.

Aunque la mayoría de veces intervienen varios investigadores o personas de ámbito diverso relacionado con el mundo del animal de laboratorio con la finalidad de aportar el máximo de información en diferentes campos.

El comité evalúa un procedimiento y se pueden dar tres supuestos:

1. Que todo esté correcto, con lo cual queda aprobado, se envía a la Generalitat y puede ponerse en marcha.
2. Que tenga que realizarse alguna pequeña modificación o aclarar algún punto, en éste caso la Secretaría del Comité se pone en contacto con el investigador para aclarar el punto en cuestión pero el procedimiento ya no vuelve al comité. Una vez aclarada la cuestión en sí, se aprueba y se envía a la Generalitat
3. Que el procedimiento, al ser evaluado, deba modificarse en profundidad, ya sea para aclarar puntos que no están suficientemente argumentados o suficientemente claros, o por una discrepancia en un punto que se entiende podría comprometer el bienestar del animal. En éste caso el comité solicita al investigador las aclaraciones o modificaciones oportunas. Una vez resuelto el Comité vuelve a evaluar el nuevo procedimiento.

Dentro del procedimiento y siempre con la finalidad de agilizar el trabajo tanto del investigador como del propio comité, hay apartados que deben rellenarse cuando se supone -la mayoría de veces por parte del propio investigador- que el animal puede sufrir daño grave. Estos procedimientos son de autorización expresa y son enviados a la Comisión de la Generalitat para que sea ésta la que los evalúe.

Jordi miembro de la Comisión de Experimentación de la Generalitat

• ¿Cuál es el papel de ésta Comisión?

“El papel de la Comisión, es evaluar los procedimientos que, de acuerdo con la legislación, requieren autorización expresa; también asesora a los diferentes centros sobre el establecimiento de comités y participa en la

formación de éstos, asesora a la Administración respecto a la ley, aporta expertos o documentación en temas relacionados con el Bienestar Animal como son las alternativas para la utilización de animales en docencia, evalúa supuestos innovadores.”

La Comisión está constituida por:

- Un representante de los centros usuarios.
- Un representante de las Universidades.
- Un representante del Departamento de Sanidad y Seguridad Social.
- Un representante del Comisionado para las Universidades.
- Un representante de la dirección General del Medio Natural.
- Un representante de la Dirección General de Producción e Industrias Agroalimentarias.
- Un representante de las entidades protectoras de animales legalmente constituidas.
- Un representante de las asociaciones profesionales especialistas en ciencias del animal de laboratorio.

• *¿No es difícil evaluar un procedimiento con una comisión tan diversa?*

“Este grupo heterogéneo hace muy enriquecedoras las diferentes acciones— explica Jordi — aunque puede ser complicado, ésta diversidad es enriquecedora y cada uno puede aportar su experiencia sobre su campo en cuestión.

Actualmente, acaban de renovarse algunos cargos ya que ha pasado el período de tiempo definido para la renovación o la validación de los representantes. Algunos cargos han sido ocupados por diferentes personas a lo largo de ésta etapa. Otros, al cambiar las dependencias dentro de la Generalitat del DARP a Medio Ambiente, también se han modificado.

El cambio es mejor que se dé de manera gradual, ya que una renovación de muchos de los miembros a la vez, lejos de mejorar la comisión, perdería la experiencia adquirida.”

• *¿Cuándo llega un procedimiento, como lo evalúa la Comisión?*

“La comisión empieza la valoración desde cero, planteándose, no solo el punto en el cual se pide la autorización expresa, sino todo el

procedimiento, como si fuese un comité ético de cualquier centro”

• *¿No es un proceso muy lento y lleva a re-evaluar procedimientos similares?*

“Aunque el procedimiento a evaluar sea el mismo en cuanto a técnica, cuándo provienen de centros diferentes es una tarea formativa para el Comité Ético evaluarlos ya que cada centro cuenta con unos medios y posee un enfoque diferente.”

“Muchas veces nos encontramos con falta de información dentro del mismo procedimiento, normalmente por ésta variabilidad entre los centros, éstos dan por conocidos determinados procesos y no siempre es así, porque cada centro es diferente. La comisión se reúne mucho más frecuentemente de lo que está establecido, ya que cada evaluación requiere la aportación de comentarios, opiniones diversas, confección del Acta”

“ El hecho de reunirnos frecuentemente también permite agilizar al máximo todos los procesos y el tiempo de respuesta”

Jordi Cantó Miembro del CBC y CBCAL

• *¿Que te ha aportado pertenecer a éstas entidades?*

“Participar en éstas entidades permite aglutinar el colectivo de Biólogos y concretamente dentro del CBCAL a un grupo de profesionales que participan directamente en el mundo del animal de laboratorio, con la finalidad de coordinar las diferentes acciones que se puedan organizar en éste sentido y unificar los esfuerzos dentro de éste campo. Intento defender la idoneidad de los Biólogos dentro de éste ámbito”

• *¿Hacia dónde se dirige Jordi Cantó?*

“Intento llevar éste mundo del Animal de Laboratorio hacia la unificación de los esfuerzos desde los distintos ámbitos. Ya que se trata de personas muy diversas, no sólo responsables de animalarios, sino técnicos, personal para el cuidado de los animales, investigadores con una gran diversidad geográfica y con un interés común.”

2 ARTÍCULOS

CENTRO DE BIOTECNOLOGIA ANIMAL Y TERAPIA GENICA (CBATEG)

Anna Pujol

Responsable Unidad de Animales Transgénicos

El CBATEG es un centro de investigación de la Universidad Autónoma de Barcelona especializada en desarrollar, producir y utilizar técnicas de transferencia génica en Biomedicina. Sus objetivos son:

•Estudiar las causas fisiopatológicas de enfermedades metabólicas, especialmente diabetes mellitus y obesidad y sus complicaciones secundarias utilizando animales transgénicos, así como, desarrollar aproximaciones de terapia génica para estas enfermedades.

•Realizar investigación básica y aplicada para el desarrollo, producción y utilización de técnicas de transferencia génica en el campo de la Biomedicina.

•Ofrecer servicios internos y externos de generación y análisis de modelos de animales transgénicos y producción de vectores virales y no virales para la transferencia génica.

Para ello el CBATEG consta de grupos de investigación altamente especializados en estos campos y de diferentes plataformas tecnológicas que ofrecen tanto la producción de ratones modificados genéticamente como el análisis de su fenotipo:

•La Unidad de Animales Transgénicos, especializada en diseño y producción de ratones transgénicos y knock out/in totales, condicionales i/o induci-

bles, en criopreservación de embriones y en rederivación sanitaria. Los animales se mantienen en un estabulario SPF.

- La Unidad de Producción de Vectores Virales.
- La Unidad de Análisis Metabólico.
- La Unidad de Análisis Morfológico.
- La Unidad de Patología de ratón.

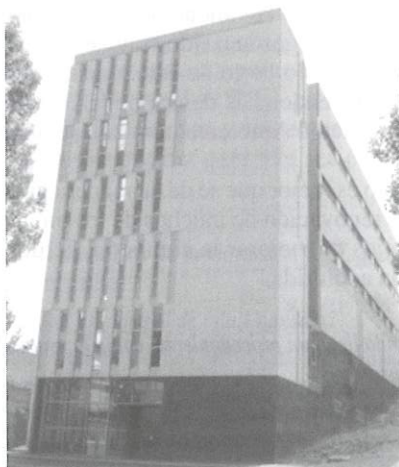
Telf. de contacto CBATEG

93 581 41 61 / 42 04

Dra. Anna Pujol

Responsable Unidad de Animales Transgénicos

Telf. 93 581 41 71



RATONES MODIFICADOS GENÉTICAMENTE EN EL CIEMAT

Angel Ramírez.

Investigador contratado del CIEMAT

a.ramirez@ciemat.es

En el CIEMAT (Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas) existen desde hace unos quince años dos grupos de investigación, dirigidos por José Luis Jorcano y Juan Bueren, cuyas actividades están encaminadas a profundizar en el conocimiento de la biología de los epitelios y del sistema hematopoyético, respectivamente, así como a la cura, mediante terapia génica, de determinadas patologías que afectan estos sistemas. A finales de la década de los 80, e integrado en el Departamento de Biología Molecular y Celular dirigido por José Luis Jorcano, se organizó un laboratorio dedicado a la manipulación embrionaria, con el objetivo principal de obtener ratones transgénicos (es decir, animales cuyo genoma ha sido alterado por métodos artificiales) para cubrir las necesidades experimentales de estos grupos de investigación.

Desde que pusimos a punto esta tecnología a finales de los años 80, hemos microinyectado unas 75 construcciones génicas diferentes, habiendo obtenido animales transgénicos en casi todos los casos; en las únicas dos excepciones, había fundadas sospechas de que la expresión del transgén pudiera producir efectos deletéreos sobre los embriones en desarrollo.

INSTALACIONES Y PERSONAL IMPLICADO

El laboratorio de manipulación embrionaria del CIEMAT está integrado en el animalario del Centro (número de registro 28079-21). La superficie total que ocupa el animalario es de unos 180 m², habiendo en él siete salas (unos 60 m² en total) dedicadas a la estabulación de los animales; el resto de la superficie se dedica a zonas de lavado y almacenamiento, oficina, quirófano, laboratorio de manipulación embrionaria, pasillos, etc. La mayor parte de los animales estabulados en estas instala-

ciones lo están en condiciones convencionales, y tan solo una pequeña parte está en estanterías con jaulas ventiladas individualmente (éstos son mayoritariamente animales que están dedicados a experimentos que requieren el trasplante de células hematopoyéticas o de piel sobre receptores inmunodeficientes). Afortunadamente, está previsto que en los próximos meses el animalario aumente su superficie en un porcentaje próximo al 40%, y que también aumente la cantidad de equipos con jaulas ventiladas individualmente, con la consiguiente mejora en las condiciones de estabulación. El laboratorio de manipulación embrionaria es una habitación de unos 15 m², que tiene aneja una pequeña sala de microinyección de unos 7 m².

En el animalario hay tres personas (Eva Solé, Rosa Lázaro, Edilia Almeida) que se encargan de todo lo relacionado con la limpieza de las jaulas y las instalaciones, la comida y bebida de los animales, etc, supervisadas por el responsable del animalario, Jesús Martínez. Para las actividades del laboratorio de manipulación embrionaria el trabajo de estas personas es, evidentemente, imprescindible. La manipulación embrionaria en sí es llevada a cabo por el personal investigador del CIEMAT con conocimiento de estas técnicas (Angustias Page, Mirentxu Santos o el autor de estas líneas) según las necesidades experimentales de cada momento.

RATONES TRANSGÉNICOS POR MICROINYECCIÓN

De las muchas vías disponibles actualmente para conseguir manipulación genética en ratón, nosotros utilizamos la microinyección del ácido desoxiribonucleico (ADN) en uno de los pronúcleos de los embriones en su primer día de vida (ver figura 1). En esta técnica, ya clásica, los embriones que

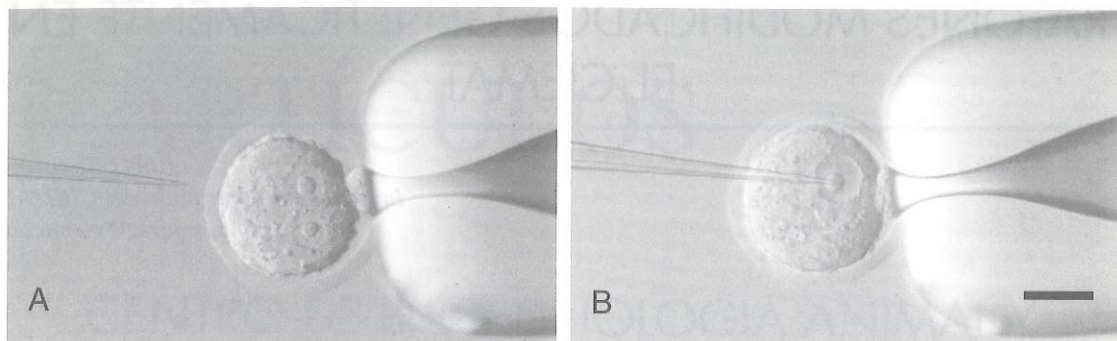


Figura 1: Microinyección de ADN en el pronúcleo de un embrión de una célula; en A se aprecia los dos pronúcleos del embrión, obsérvese en B cómo el pronúcleo se hincha como consecuencia de la inyección. Barra: 40 μ m.

sobreviven este proceso son luego transferidos quirúrgicamente al tracto reproductor de madres adoptivas, donde una parte de ellos completan su desarrollo embrionario. Un pequeño porcentaje de los animales que nacen después de esta manipulación son portadores del fragmento de ADN inyectado (esto es, del transgén) en algún lugar no predeterminado de su genoma; esta es una modificación que, en el caso de que afecte a las células germinales, puede ser transmitida a lo largo de las generaciones, originándose así lo que se denomina una línea transgénica. El proceso de inyección del ADN tiene que realizarse necesariamente con la ayuda de un mi-

croscopio y micromanipuladores (ver figura 2).

En estos años, nuestra labor ha estado encaminada principalmente a la generación de animales transgénicos para los proyectos de investigación de los grupos mencionados del CIEMAT, aunque en ocasiones también nos hemos embarcado en colaboraciones con investigadores de otros centros para la obtención de animales transgénicos de interés en el desarrollo de sus proyectos. El nivel de uso de nuestro equipo de microinyección es relativamente bajo, ya que hacemos transgénicos para un promedio de unas seis construcciones génicas diferentes

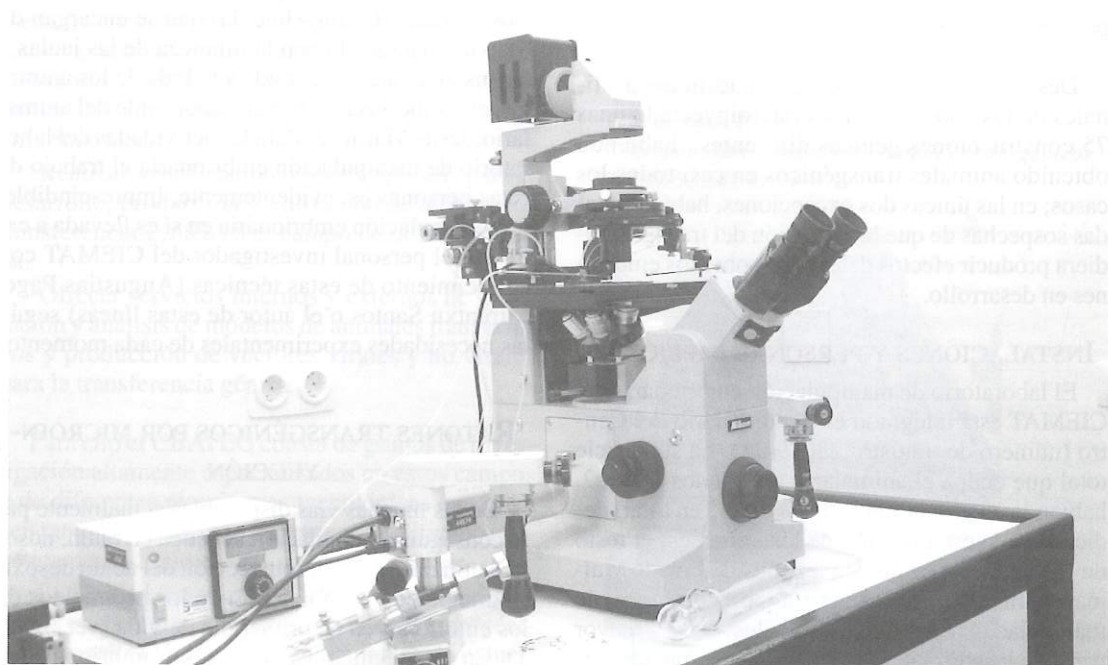


Figura 2: Microscopio Nikon Diaphot y micromanipuladores usados para la generación de ratones transgénicos.

por año (en una situación ideal, sin limitación en cuanto a la disponibilidad de espacio o de animales y con un uso intensivo de los equipos, podrían inyectarse más de 25 construcciones por año). En promedio, en un día de microinyección típico inyectamos ADN en unos 150 embriones, de los que unos 100 sobreviven la inyección; éstos son transferidos a 4 hembras pseudogestantes, de las que nacen unos 25 ratones. El genotipado de estos animales lo hacemos habitualmente mediante Southern blot o por PCR, obteniendo finalmente como resultado promedio 2 animales transgénicos por día de inyección.

Hemos generado animales transgénicos con diversos objetivos científicos, entre los que podemos destacar los siguientes:

- Estudio de la distribución y actividad de los elementos reguladores de la expresión génica en diversos genes y, fundamentalmente, en miembros de la familia multigénica de las queratinas.

- Conocimiento de la función de diversas queratinas, mediante su sobreexpresión y su expresión ectópica

- Experimentos encaminados a profundizar en la comprensión del fenómeno del mosaicismo en la expresión de los transgenes; por expresión en mosaico se entiende el hecho, frecuentemente encontrado para determinados transgenes, de que su expresión sea discontinua, sucediendo sólo en parte de las células en que se esperaba encontrar expresión; tanto las células con expresión como las que no expresan el transgén se considerarían equivalentes considerando otros criterios (morfológicos, expresión de otros genes, etc); este fenómeno del mosaicismo, al menos en parte, es debido al hecho de que los transgenes suelen integrarse como un tándem de numerosas copias, pudiendo actuar esta repetición de las mismas secuencias de ADN como núcleo inductor que cause la adquisición de una conformación heterocromática, con el consiguiente silenciamiento de los genes contenidos en esa región del genoma. En este contexto, hemos realizado experimentos coinyectando dos transgenes diferentes (con las mismas secuencias reguladoras dirigiendo la expresión de dos genes diferentes, uno con propensión a expresarse en forma mosaico y el otro no); al comparar los patrones de expresión obtenidos para los dos transgenes en diferentes líneas, hemos observado casos en los que ambos se expresan de forma continua o no mosaico (paneles I y II en la figura 3), casos en los que tan solo uno

de ellos se expresa en mosaico (paneles III y IV) y también casos en que ambos transgenes se expresan en forma mosaico en la misma medida (no mostrado). De forma sorprendente, hemos obtenido también una línea (portadora de una sola copia de cada transgén) en la que todas las situaciones posibles (expresión de ambos transgenes –región 1 en paneles V y VI de la figura 3-, de ninguno –región 2- o de uno de ellos tan solo –regiones 3 y 4-) sucede en regiones contiguas. Esto indica que dos transgenes integrados unidos pueden presentar comportamientos totalmente diferentes y por tanto que los mecanismos de silenciamiento que llevan al mosaicismo no afectan necesariamente a regiones grandes del genoma, sino que pueden ser de escala mucho más local de lo que se presumía.

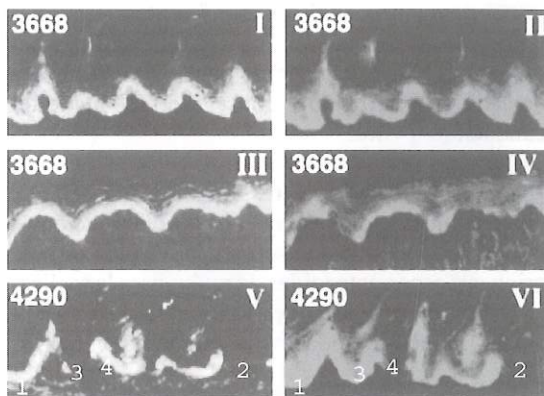


Figura 3: Inmunofluorescencias indirectas mostrando los patrones de expresión en el epitelio lingual de dos transgenes integrados en el mismo lugar del genoma en las líneas 3668 y 4290.

- Hemos obtenido también ratones transgénicos con diversos genes marcadores (neoR, lacZ, hCD4, GFP), como mecanismo para distinguir el origen de los tejidos en trasplantes hematopoyéticos, y otros expresando recombinasas (en su forma salvaje –Cre-, o con actividad inducible –Cre-hPR1-) en diversas subpoblaciones epidérmicas para conseguir inactivación de alelos floxeados específicamente en estas células; a lo largo de estos años, hemos generado y estudiado otros ratones transgénicos expresando en diversos tejidos formas salvajes o mutadas de diversos receptores de factores de crecimiento, quinasas, oncogenes, reguladores del ciclo celular... con la intención última de profundizar en el conocimiento de la fisiología de la piel y otros epitelios.

OTRAS ACTIVIDADES

En nuestro animalario, como sucede en casi todos actualmente, el número de líneas diferentes de ratones estabuladas ha ido en aumento en los últimos años. Muchas de estas líneas tienen características que las hacen únicas (por presentar un fenotipo interesante, o por los estudios que se hayan realizado con ellas). En los últimos años hemos puesto en marcha la tecnología necesaria para conservar “copias de seguridad” de las líneas de interés mediante la congelación de espermatozoides; de esta manera, conseguimos un ahorro (económico, de trabajo y de espacio) en el mantenimiento de líneas de interés respecto a la conservación de una pequeña colonia de animales en edad de cría para cada línea. Actualmente, tenemos muestras de espermatozoides congelados de más de 100 animales, perteneciente a 35 líneas diferentes de ratones transgénicos. Hasta el momento, siempre que hemos necesitado recuperar animales vivos de alguna de estas líneas lo hemos conseguido mediante fecundación *in vitro*.

Otra actividad de interés, que no debo dejar de mencionar, es la realización, con la colaboración de la SECAL, de un curso sobre congelación de embriones y espermatozoides de ratón; para la realización de este curso, del que ya se han hecho tres ediciones, hemos contado con la colaboración del Dr.

Jorge Sztejn, actualmente en el National Cancer Institute (Frederick, Estados Unidos), investigador fundamental en el desarrollo de algunas de estas tecnologías. A estos cursos han asistido más de 50 personas de unos 30 centros diferentes, habiendo cumplido con la intención de popularizar y extender el uso de estas técnicas en distintos laboratorios de nuestro entorno.

En los últimos veinte años, la importancia de los ratones transgénicos en la investigación biológica no ha dejado de ir en ascenso; en este periodo han aparecido más de 30.000 artículos científicos en los que intervienen ratones manipulados genéticamente, y cada vez a un ritmo mayor. Afortunadamente, cada vez son más los centros de investigación españoles con capacidad para aplicar alguna de las técnicas de manipulación genética en ratón. La aparición casi constante de mejoras y refinamientos en estas técnicas (como recientemente ha sucedido con la aplicación de vectores lentivirales para la generación eficiente de animales transgénicos o el empleo de RNAs de interferencia para disminuir la expresión de un determinado gen de forma específica) no hace sino añadir más interés al empleo de las técnicas de manipulación genética del ratón en los diversos campos de la investigación biológica y biomédica, así como aumentar su versatilidad.

APLICACIONES DE LOS MARCADORES MOLECULARES EN RATONES: SPEED – CONGENICS LA TÉCNICA QUE HACE POSIBLE LA INTROGRESIÓN EN UN TIEMPO RAZONABLE

Beatriz Fuente y Ana C. Martín

Bionostra S.L. - www.bionostra.com; genetics-id@bionostra.com

Disponer de líneas de ratones genéticamente uniformes, así como trasladar genes de acción conocida a las líneas adecuadas para el estudio que se desea realizar ha sido una necesidad constante desde que Snell (1948) desarrolló sus trabajos para es-

tudiar el complejo de histocompatibilidad en ratones.

Esta necesidad se ha hecho más acuciante desde que es posible la obtención de ratones transgénicos

Lechos de chopo para animales de investigación



SOURALIT, S.L.

Pol. Ind. Los Espinos, s/n - 26321 BOBADILLA (La Rioja) España
Tel.:(34) 941 37 50 20 - Fax:(34) 941 37 50 05 - Tel. móvil: 609 77 60 66
e-mail: souralit@ctv.es





Col·legi de
Biòlegs de
Catalunya

Animal e Investigación: Qué, Cómo y Por qué

09:00 Presentación FORUM 2004

09:20 Introducción. *Sra. Fina Cambra. Responsable del ámbito de los profesionales del Fòrum Barcelona 2004 y Decana del Col·legi Oficial de Doctors i Llicenciats de Catalunya.*

09:30 Presentación de los ponentes. *Sr. Emili Fadurdo. Vicepresidente del CBC. Presidente de la CBCAL.*

09:30 Ámbitos de la Investigación con Animal de Laboratorio. Salud y Bienestar.

Ser Humano. *Dr. Antoni Juárez. Vicerrector de Investigación. Departamento de Microbiología. Universitat de Barcelona. (U.B.).*

Mundo Animal. *Dr. Martí Pumarola. Departamento de Medicina y Cirugía Animales. Universitat Autònoma de Barcelona (U.A.B.).*

Medio Ambiente. *Dr. Joandomènec Ros. Departamento de Ecología. Universitat de Barcelona (U.B.).*

10:30 Pausa y café.

11:00 Métodos Alternativos. *Sr. Jorge Zapatero. Centro de Investigación y Desarrollo Aplicado (CIDA-SAL).*

11:20 Marco Legal y Aspectos Éticos. *Sr. José M^a Orellana. Universidad de Alcalá. Presidente de SECAL.*

11:40 Importancia y Funciones de las Asociaciones para las Ciencias del Animal de Laboratorio. *Dr. Javier Guillén. Universidad de Navarra. Vocal de SECAL. Miembro del Consejo de Acreditación de AAALAC Internacional. Secretario de FELASA.*

12:00 Compromiso de la Sociedad con la Investigación. *Dra. Alicia Granados. Departamento de Medicina de la U.B.. Vicepresidenta de la Fundació Marató TV3.*

12:30 Mesa Redonda y turno abierto de preguntas. *Moderador: Prof. Alberto Giráldez. Universidad Autónoma de Madrid. Vicesecretario de la Real Academia Nacional de Farmacia. Miembro fundador de SECAL.*

13:00 Clausura y despedida.



Forum
BARCELONA
2004



Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio



SOCIETAT CATALANA DE BIOLOGIA

Fecha: 19 de Marzo de 2004

Lugar: Sala Prat de la Riba de l'Institut d'Estudis Catalans. Carrer del Carme, 47. Barcelona.

Organización: Col·legi de Biòlegs de Catalunya. FORUM Universal de les Cultures Barcelona 2004. Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio. Societat Catalana de Biologia.

Entrada: GRATUITA. Debido a la limitación del aforo se ruega confirmar la asistencia. Los interesados pueden ponerse en contacto con el Col·legi de Biòlegs de Catalunya por correo electrónico: cbiolegscatalunya@retemail.es o bien por fax: 934 876 196.

Garantía de Calidad certificada bajo Norma ISO 9001:2000.

Exportamos a más de 40 países.

SEGURIDAD

Instalación animalarios

- Aisladores flexibles
- Armarios ventilados
- Cabinas de flujo laminar
- Diseño de proyectos (CAD)
- Jaulas
- Lavabiberones
- Lavajaulas
- Racks ventilados

INFORMACIÓN

Dietas + Lechos

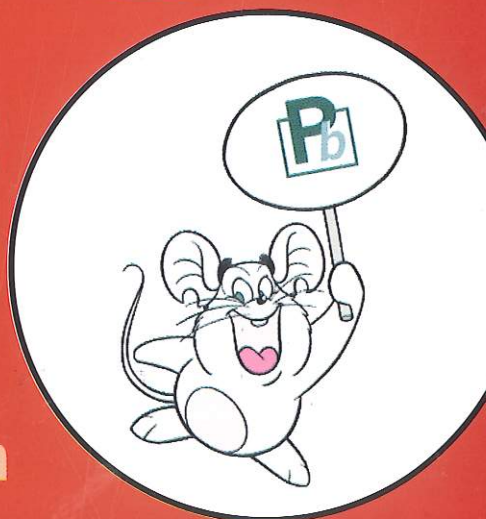
Absorbentes

- Fichas técnicas
- Control analítico

FIABILIDAD

Bio-Instrumentación

- Equipos para el análisis del comportamiento animal



www.panlab-sl.com

Panlab.
C./ Energía, 112
08940 Cornellà
Barcelona (SPAIN)

Teléfono: 934 190 709
Fax: 934 750 699
e-mail: info@panlab-sl.com
web: www.panlab-sl.com

ISOQUIMEN S L

Tel. 93 866 06 51 * Fax 93 866 12 01 * isoquimen@isoquimen.com

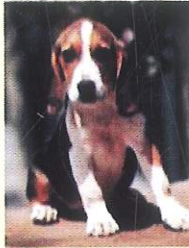
Centro acreditado por la Administración para la producción y comercialización de animales de laboratorio, así como centro usuario para la experimentación animal.

Personal titulado y acreditado (cuidadores, experimentadores, investigadores y asesores en bienestar animal).

Comite ético de experimentación animal propio.

PRODUCCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE ANIMALES

Perros Beagle
Gato Europeo
Conejo NZW blanco
Hurón
Oveja
Cabra
Cerdo
Aves



- Animales de todas las edades
- Posibilidad de selección por peso
- Informe personalizado individual
- Identificación por tatuaje, transponder ISO o crotal.
- Informe sanitario adjunto a cada entrega
- Realización de procedimientos quirúrgicos concertados
- Animales en condiciones fisiológicas concretas (en estro, gestantes a días fijados, libres de patógenos concretos ...)

OBTENCIÓN DE PRODUCTOS Y SUBPRODUCTOS



Pelo y otros dermoderivados...
Sangre y otros hemoderivados (plasma, suero, plaquetas...)
Orina
Heces
...



SERVICIOS Y PROCEDIMIENTOS

La colaboración entre el cliente e Isoquimen se adapta a cada situación y procedimiento en particular (realizados totalmente por el cliente, mixto o íntegramente por Isoquimen)

- Estudios de biocompatibilidad de materiales (implantaciones...)
- Estudios de sanidad animal (tests de inocuidad...)
- Estudios de farmacocinética
- Estudios de metabolismo
- Estudios de tolerancia
- Estudios de residuos
- Estudios nutricionales
- Cirugías experimentales



ASESORÍA TÉCNICA

Instalaciones y mantenimiento
Bienestar animal

Gestión de la producción
Procedimientos

TRANSPORTES

Vehículos propios, adaptados y optimizados
Personal propio cualificado



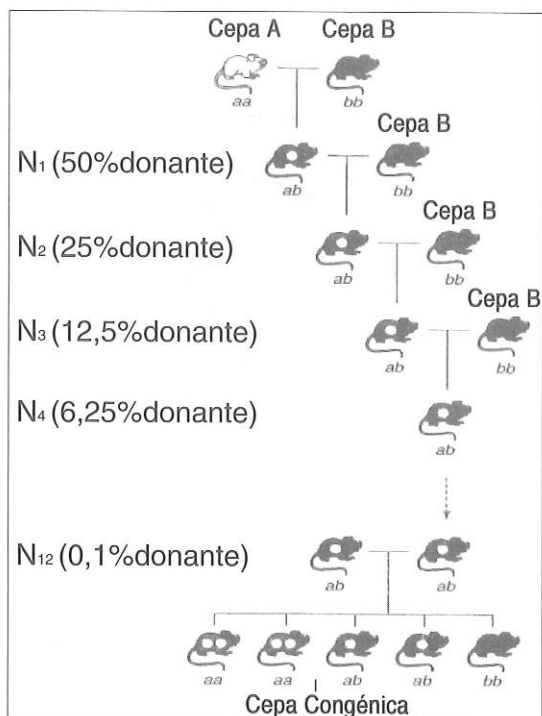


Figura 1: Congénita tradicional.

o ratones knock-out, ya que el estudio de la acción de un gen (o de los efectos de su ausencia) requiere un estricto control de fondo genético con el que trabajamos. Ello es debido a la presencia de lo que se ha dado en llamar genes modificadores (Nadeu, 2001), y que se manifiestan en cuatro efectos fundamentales:

- Modificación de la dominancia, de manera que el grado de afectación de los heterocigotos se ve condicionado por los genes modificadores
- Efectos de la penetrancia diferencial (distinta penetrancia del transgén en distintos fondos genéticos)
- Efectos de expresividad diferencial
- Efectos pleiotrópicos

A la necesidad de colocar mutaciones en un fondo genético se suma el hecho de que no es válido cualquier fondo. Hoy día hay a disposición de los investigadores numerosas líneas de ratones, con comportamientos característicos, resistencias determinadas o propensión a ciertas enfermedades. Sin embargo no todas son adecuadas para ser transformadas (Auerbach et al. 2003), ya que existe un

defecto de la cepa en el éxito en la obtención de transgénicos o mutantes.

Es frecuente, pues, que nos encontremos en la situación de tener un transgén o una mutación en una línea inadecuada para estudiar dicho gen o mutación. La solución tradicional, utilizada masivamente en los años 70 y 80 (Klein 1986), es la introducción de genes mediante retrocruzamientos sucesivos. Esta metodología es la rutinaria para la solución de los problemas antes mencionados. El resultado es la dilución progresiva del genoma de la cepa donadora del gen de interés en el genoma de la cepa receptora. Para ello son necesarias entre 10 y 12 generaciones de retrocruzamientos, más una generación adicional para obtener el transgén o la mutación adicional en homocigosis. En cada generación se seleccionan los reproductores al azar entre aquellos individuos portadores del gen o mutación de interés. Al final del proceso obtendremos, según las predicciones estadísticas, un animal cuyo genoma es en un 99% el de la cepa receptora, y en el que el gen de interés estará incluido en un segmento de unos 20cM de genoma de la cepa donadora (Flaherty 1981). (Figura 1)

Durante la década pasada, los mejoradores de plantas y animales desarrollaron un método para acelerar el proceso de introducción de caracteres y genes de interés, basado en la utilización de protocolos de selección asistida por marcadores (MASP). El método se basa en la utilización de marcadores moleculares polimórficos para las dos razas, o cepas en el caso de ratones, que se necesita cruzar, de manera que mediante el análisis con PCR se puede detectar a aquellos animales que, llevando el gen o la mutación de interés, presentan un mayor porcentaje de genoma de la cepa receptora: en cada generación cabe esperar, al igual que en la técnica tradicional, que, como media, la descendencia del retrocruzamiento presente la mitad de loci en heterocigosis que la generación anterior. Sin embargo, el porcentaje de heterocigosis se distribuirá según una normal, habiendo siempre individuos por debajo de la media. Si utilizamos esos animales como parentales para la generación siguiente, habremos acelerado el proceso. (Figura 2).

La aplicación de este método para la obtención de líneas congénitas de ratones ha recibido el nombre de "speed congenics" por comparación con el método tradicional.

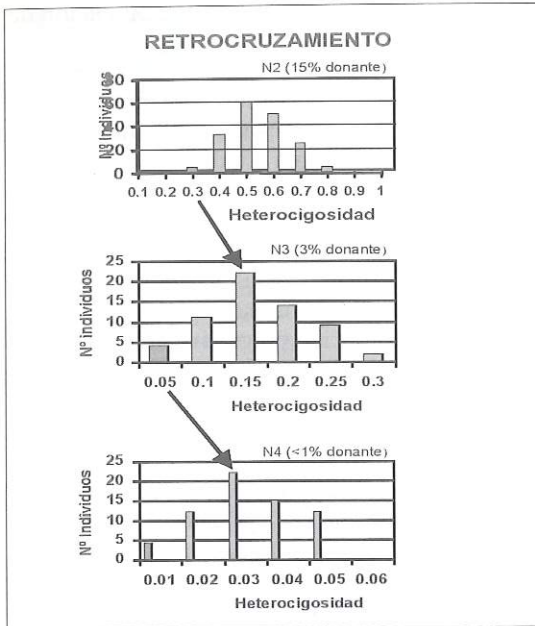


Figura 2: Speed congenics, selección de individuos con el menor grado de homocigosidad.

Las ventajas más claras del speed congenics con respecto a la congenia tradicional son:

- es más rápido, reduciéndose el tiempo necesario para obtener los mismos resultados a la mitad, aproximadamente 15 meses (5 generaciones). **RAPIDEZ** (figura 3)
- permite controlar las características genéticas de la cepa obtenida, es decir, permite conocer el fondo genético exacto con el que se está trabajando. **PRECISIÓN**.

Esta técnica se puede aplicar no sólo al principio de la congenia, sino también en una generación intermedia, más avanzada, haciendo un estudio de homocigosidad y posterior selección de los ratones con mayor homocigosidad para el siguiente retrocruzamiento; y también si ya se ha obtenido la línea congenica, caracterizarla para conocer exactamente con qué se está trabajando antes de realizar la expansión para estudiar el carácter en cuestión.

Otras aplicaciones del uso de marcadores en ratón, variaciones del speed congenics, que también permiten acelerar el proceso es lo que se ha denominado QMACS o selección para caracteres cuantitativos, así como localizar en qué cromosoma se ha insertado el transgén y eliminar segmentos del genoma específicos, no deseables para el experimento a realizar.

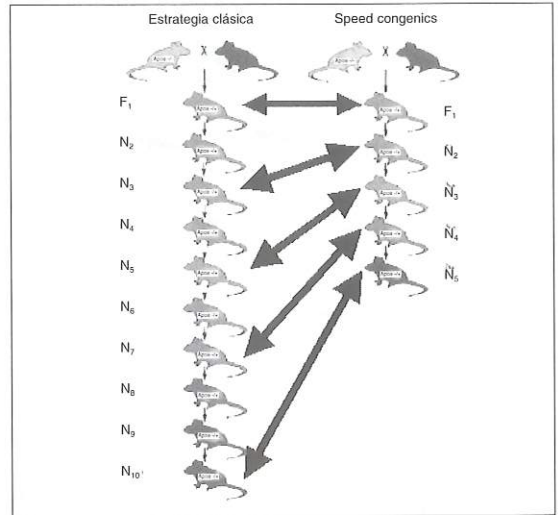


Figura 3: Congenia tradicional vs speed congenics. Markets y Cols

Otras aplicaciones de los marcadores moleculares son:

- Genotipado sistemático y masivo y caracterización de líneas. Permite caracterizar genéticamente las cepas de trabajo así como la caracterización de nuevas líneas que se generen.
- Mapear mutaciones. Mediante el uso de marcadores moleculares se puede localizar y acotar de una forma rápida y precisa dónde están las mutaciones.
- Análisis de parentesco. Se pueden establecer relaciones familiares entre individuos que nos permitan la asociación de fenotipo de un carácter determinado a marcadores genéticos que luego nos puedan permitir seleccionar individuos con ese carácter en concreto.
- Otros. Un ejemplo puede ser localizar las regiones génicas que intervienen en que un determinado fondo genético una mutación determinada genere un fenotipo distinto que en otro fondo genético (modificadores, QTLs).

Bibliografía

- Auerbach, A.B. et al. 2003. Transgenic Research 12, 56-59 ; Flaherty, L. 1981 The mouse in Biomedical Research: History, Genetics, and Wild Mice; Klein, J. 1986 Major history of the major histocompatibility complex.; Markel y cols. 1997. Nature Genetics 17; Nadeu, J.H. 2001. Nature Rev. Gen. 2, 165 ; Snell, G.D. 1948. J. Genet. 49, 87-99.

TRANSGENESIS "À LA CARTE": TECNOLOGIA ESPECIALIZADA AL SERVICIO DE LA INVESTIGACION BIOMEDICA

Javier Martín González,

Doctor en Biología Molecular, Técnico Superior de la Unidad de Transgénicos del CNIO; Sagrario Ortega Jiménez, Dra. en Bioquímica, Jefa de Unidad de Ratones Transgénicos CNIO.

En los últimos años hemos presenciado un enorme desarrollo de la investigación biomédica gracias, en gran medida, a la cantidad de recursos dedicados a secuenciar en su totalidad el genoma humano. El mejor conocimiento del genoma está permitiendo avanzar vertiginosamente en el estudio de las bases genéticas de enfermedades humanas tales como cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares, etc. así como de procesos degenerativos asociados al envejecimiento celular. Estos conocimientos a su vez demandan la generación de modelos animales donde se puedan reproducir estos procesos a nivel genético, mediante la manipulación del genoma. El ratón es el modelo animal por excelencia en la investigación biomédica. Gracias al conocimiento previo de su genética, resultado de la investigación de muchas décadas y gracias al desarrollo de tecnología para la manipulación controlada de su genoma, el ratón es el modelo animal más empleado para el estudio in vivo de la regulación y la función génica y para crear modelos de muy diversas enfermedades de origen genético. Tanto es así que el uso de animales modificados genéticamente se ha convertido en una práctica habitual de numerosos laboratorios de investigación tanto básica como aplicada repartidos por todo el mundo, y hoy en día se pueden contar por miles las publicaciones científicas que implican la utilización de ratones modificados genéticamente. En nuestro país la demanda de técnicas de transgénesis está creciendo muy rápidamente y en varios centros se está tratando de incorporar ya esta tecnología mediante la creación de unidades de apoyo.

Desde que un científico diseña una nueva línea de ratón modificada genéticamente para estudiar un determinado gen o reproducir una patología de-

terminada, hasta que esa línea se crea y está disponible para su utilización en investigación, hay toda una serie de procesos intermedios cuyo grado de sofisticación y complejidad, así como el nivel de formación y especialización del personal que los realiza, son frecuentemente ignorados o infravalorados por el investigador. Personalmente puedo dar fe de ello. Mi primer contacto con ratones modificados genéticamente fue durante el trabajo de mi tesis doctoral, que suponía principalmente la caracterización del fenotipo de dos líneas de ratón, una knockin y otra knockout, para estudiar la función in vivo de un gen implicado en el control de la proliferación celular. Cuando uno utiliza para su investigación ratones modificados genéticamente se acostumbra a tratarlos como un reactivo más del laboratorio, y apenas repara en la cantidad de trabajo especializado que hace posible que esos ratones lleguen a sus manos. Terminada mi tesis doctoral, he empezado a trabajar en la Unidad de Transgénicos del CNIO donde participo también en el proceso previo, la generación misma de estos ratones, esa "cara oculta" para muchos investigadores.

En una unidad de ratones transgénicos como la nuestra, que es una unidad de apoyo a los grupos de investigación del centro y además desarrolla nuevas tecnologías en el área de la modificación genética en ratones, se realizan un gran número de técnicas con un alto nivel de complejidad. Algunos ejemplos son el cultivo y electroporación de células madre embrionarias (células ES), agregación y microinyección de células ES, microinyección de DNA en pronúcleos, criopreservación de embriones, congelación de espermatozoides, fecundación in vitro y rederivación de líneas por transferencia de embriones entre otras. Todas ellas requieren un

alto grado de especialización del personal técnico que las realiza, y cada técnico de la unidad es normalmente responsable de más de uno de estos procesos. Dado que la mayoría de estas técnicas se realizan más de una vez por semana, esto supone un gran esfuerzo de organización, coordinación, previsión y logística por parte del personal de la unidad, ya que el trabajo de cualquiera de sus miembros está estrechamente relacionado con el del resto y ha de estar altamente optimizado para que no se pierda ni un solo embrión modificado que puede llegar a convertirse en el fundador de una nueva línea.

Pensemos, por ejemplo, en lo que conlleva solamente la generación de un ratón transgénico obtenido por microinyección de DNA en pronúcleos. El proceso para la Unidad de Transgénicos comienza cuando el investigador proporciona una nueva construcción. En este momento el investigador termina su aportación a la generación del ratón transgénico y sólo le queda preguntar cada semana o cada día “¿cuándo nacen?”. El DNA construido por el investigador, generalmente un plásmido, tiene que ser procesado para aislar y purificar de forma exhaustiva el fragmento que se quiere microinyectar. Una vez purificado el DNA, éste tiene que ser microinyectado en uno de los dos pronúcleos del oocito fertilizado, y una vez inyectado el oocito tiene que ser transferido a una hembra pseudogestante para su desarrollo. Sólo este proceso implica una gestión previa de colonias de animales para la generación tanto de hembras donantes como receptoras de embriones, hormonaciones y monitorización de cruces, sincronización de estros de hembras receptoras y cruces con machos vasectomizados, procesos que comienzan semanas antes del día de la microinyección y que tienen que estar perfectamente coordinados y optimizados para que el rendimiento en la producción de transgénicos sea satisfactorio. Considerando que para la generación de ratones knockout se emplean cepas donantes de embriones diferentes que para la microinyección de DNA y el estadio de los embriones también es diferente, cuando estas técnicas se realizan en la misma semana y más de un día cada una, como es el caso de nuestra unidad, el trabajo se multiplica. Un técnico de transgénesis debe tener un conocimiento preciso de la fisiología de las distintas cepas de ratón utilizadas, la dosis adecuada de hormonas y el tiempo correcto de administrarlas para cada cepa, tanto en lo que se refiere a la edad y peso del animal como el momento del día en que se deben

administrar, parámetros que varían de unas cepas de ratón a otras. Además debe llevar un calendario riguroso y perfectamente controlado de petición periódica de animales, hormonaciones, cruces, sincronización de estros, vasectomías de machos, etc. para que el proceso de obtención de embriones funcione óptimamente.

La obtención de embriones a partir de hembras donantes es sólo el punto de partida para la generación de un ratón transgénico. La microinyección de DNA en pronúcleos, igual que la microinyección de células ES en blastocistos, son técnicas muy especializadas que requieren al menos tres meses de entrenamiento intenso para adquirir la destreza y habilidad necesarias para ejecutarlas óptimamente. Una sesión de microinyección de pronúcleos supone toda una jornada de trabajo, de manipulación de un equipo sofisticado, que requiere concentración, precisión, destreza y habilidad, además de un conocimiento preciso de la morfología y fisiología del embrión en su estadio preimplantacional. Una sesión ideal supone la microinyección de unos 100 cigotos, de los cuales un 80-90% sobreviven a la microinyección y se transfieren a hembras pseudogestantes. También de forma ideal, aproximadamente un 40-50% de los embriones transferidos se desarrollan a término y un 10-30% han integrado el transgén. Sin embargo, en ocasiones una sola sesión de microinyección no es suficiente para la generación de un número suficiente de fundadores de línea (animales que transmiten el transgén en la línea germinal) y el proceso tiene que ser repetido alguna vez más.

Una vez microinyectados los embriones, su transferencia a una hembra pseudogestante requiere igualmente el trabajo previo de más de dos semanas para asegurar la disponibilidad de las hembras receptoras en el momento y en el estadio de pseudogestación en que se necesitan. A veces, en un mismo día se necesitan más de 15 hembras receptoras cuando se realizan varias sesiones de manipulación de embriones a la semana. Por supuesto no todo es exacto cuando se trabaja con animales y por tanto si uno tiene que asegurarse de que dispone de 15 hembras receptoras tiene que planificar el tener al menos 4 veces más.

El proceso se complica aún más con las técnicas de gene targeting para generar ratones knockout. En este caso, la manipulación del genoma se realiza en células madre pluripotenciales del embrión,

lo cual requiere un tipo más de técnico especializado: el técnico de cultivos. Las células ES demandan unas condiciones de cultivo extremadamente controladas, ya que son especialmente delicadas y susceptibles de diferenciación si se les da un número excesivo de pases, o se cultivan en condiciones subóptimas. La calidad de las células ES es absolutamente crítica para el éxito de estas técnicas y por tanto la responsabilidad del técnico que las maneja es enorme. Además, el técnico que trabaja con células ES debe estar disponible fines de semana, ya que el tiempo de generación de estas células es muy corto y generalmente tienen que ser tripsinizadas cada dos o tres días como máximo. El proceso de generación de un ratón knockout o knockin comienza igualmente cuando el investigador proporciona un nuevo vector de recombinación que tiene que ser introducido en las células ES. Este vector es electroporado en las células ES, y durante una semana se seleccionan aquellos clones en los que el DNA se haya introducido por recombinación homóloga. Una semana más tarde se pican colonias y se expanden y congelan al menos 200 clones independientes. Un buen técnico debe monitorizar las células día a día, saber cómo tiene que proceder en cada momento según el aspecto de la placa, debe poder seleccionar los clones con mejor morfología, que serán aquellos con menor índice de diferenciación. Este nivel de formación no se adquiere en unos pocos días sino que requiere un entrenamiento que puede durar hasta seis meses.

Los modelos transgénicos proporcionan la posibilidad de analizar función génica en el contexto de un organismo completo, y de desarrollar modelos genéticos donde reproducir enfermedades humanas, validar dianas de intervención terapéutica y ensayar terapias a nivel preclínico. Esto largamente compensa y justifica el tiempo y el presupuesto necesarios para su generación. Por el momento no se ha inventado una “máquina de hacer transgénicos”. Esto supone que las técnicas de transgénesis y gene targeting, a pesar de todo lo que se ha avanzado en el campo de la modificación genética en ratón, siguen resultando extremadamente laboriosas, largas, y requieren personal altamente formado y especializado para llevarlas a cabo. En definitiva, este personal realiza al menos un 50%, y probablemente más en muchos casos, del trabajo que conlleva la producción de un ratón modificado genéticamente. Este tipo de especialización sólo se puede proporcionar desde una buena unidad de apoyo. En

otras palabras, a un grupo de investigación que quiera generar un ratón modificado genéticamente, no le compensa, salvo excepciones, el formar a su propio personal para desarrollar estas tecnologías. Sin mencionar el gasto de animales que tendría que asumir para realizar todos estos procesos, si tuviera colonias dedicadas solamente a la producción de sus propios transgénicos sin compartir gastos con otros grupos. Por ello, este tipo de tecnología debe estar disponible en una unidad de apoyo, que además esté dedicada a incorporar día a día los últimos desarrollos tecnológicos en el campo de la transgénesis, y en la medida de lo posible, aportar sus propios desarrollos tecnológicos. En nuestro país estamos todavía a la cola, pero dada la creciente demanda de los modelos animales en investigación, es de esperar que en un futuro próximo contemos con un mayor número de profesionales especializados en la producción de transgénicos y con un mayor número de centros donde estas técnicas estén disponibles para los grupos de investigación básica.



LA UNIDAD DE TRANSGÉNESIS DEL SERVICIO DE BIOMEDICINA Y BIOMATERIALES DE LA UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA Y U.M.I. DEL HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO LOZANO-BLESA

Angel Beltrán García,
cuidador de animales;

Jesús Navarro Marco,
técnico de animales;

Clara Tapia Pérez,
enfermera y responsable
técnico;

M^a Luisa Bernad Miana,
cuidador de animales;

*M^a del Carmen Navarro
Lapeña,*
enfermera;

Pedro Muniesa Lorda,
responsable científico

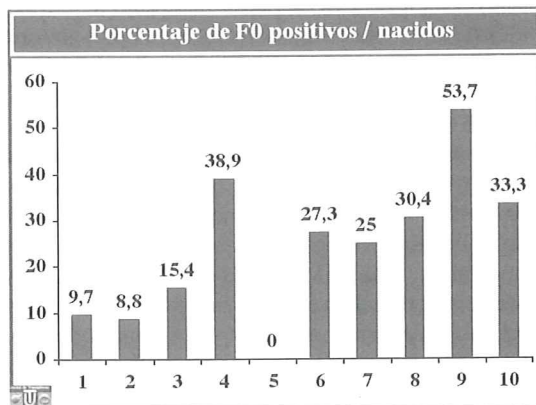
En 1997 se creó el Laboratorio de Neurobiología, ubicado en la Unidad de Anatomía y Embriología de la Facultad de Veterinaria, con la intención de optimizar el rendimiento de los limitados recursos humanos, materiales y económicos disponibles. Este laboratorio reunió a personas de varios departamentos con un interés común en establecer un grupo de investigación en biología del desarrollo del sistema nervioso y su conexión con enfermedades neurodegenerativas ligadas al envejecimiento.

Uno de los primeros objetivos de orden técnico fue poner en marcha los métodos de transgénesis con el fin de analizar, de un lado, el papel funcional de los productos del gen de la calcitonina (calcitonina y CGRP) tanto durante el desarrollo como en el adulto, en el marco de un proyecto dirigido por

José Manuel Sarasa y, de otro lado, el estudio funcional de los receptores de la familia PPAR en relación a los procesos de envejecimiento, dirigido por Víctor Sorribas. Iniciamos la preparación de varias construcciones génicas y fue ya a comienzos del año 2000 cuando se realizaron las primeras tandas de microinyección de DNA en pronúcleos zigóticos. Recientemente, gracias a la financiación recibida desde la Universidad de Zaragoza, Gobierno de Aragón y FIS, se ha logrado equipar la Unidad de Transgénesis en el seno del animalario registrado del Servicio de Biomedicina y Biomateriales de la Universidad de Zaragoza y la Unidad Mixta de Investigación del Hospital Clínico Universitario Lozano-Blesa, instalación en la que esperamos solventar algunas de las limitaciones más acuciantes (distancia física y personal técnico entre otras) y en la que es nuestro deseo poder ofrecer un adecuado

DNA	♀ SO	Zigotos Inyect.	Zigotos Superv.	Transf. -> Nac.	N	Sup	F0+	F1+
-hCGRP	62	1160	659	414	43	31	3	2
-LELGH	53	1195	1009	405	40	34	3	2
-PPARa	31	460	296	103	15	13	2	1
-PPARg	31	540	287	147	18	18	7	1
TGFβ ₁ β ₂ β ₃	60	940	592	387	44	39	0	-
-PPARa	30	399	282	164	27	22	6	6
(I-mCAL	44	658	454	204	21	16	4	2
(I-mCAL(E)	15	175	103	78	23	-	7	-
3-Stop>BMPRIb ₂	47	734	494	382	82	80	43	8/10
y1-mCGRP	42	818	437	319	65	63	21	9/11

Tabla 1



Grafica 1

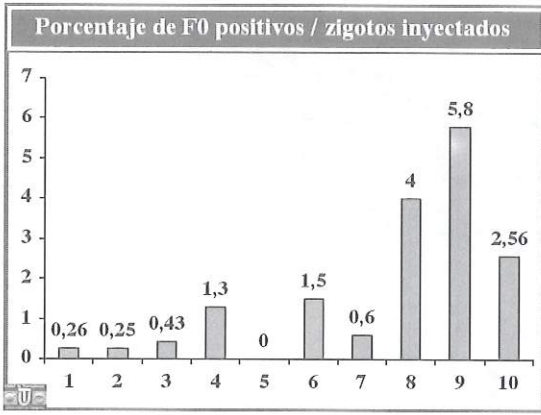


Grafico 2

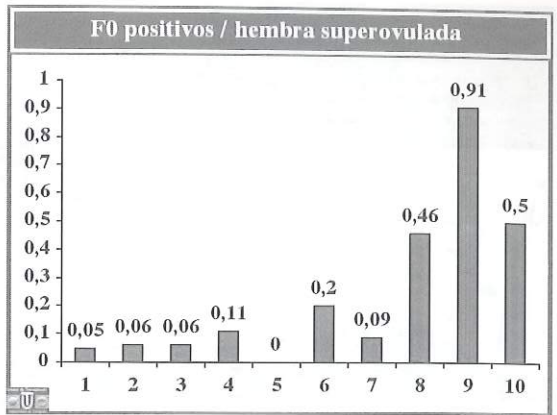


Grafico 3

servicio a la creciente demanda de este tipo de metodologías por parte de otros grupos de investigación.

LOS TRANSGÉNICOS EN CIFRAS

Aunque el trayecto recorrido es corto y el número de construcciones inyectadas demasiado exiguo, los datos relativos a las sucesivas tandas de microinyección reunidos cronológicamente (tabla 1), permiten intuir el proceso de consolidación de los procedimientos empleados y, de paso, nos dará pie a comentar algunas de las dificultades encontradas. Tal como se aprecia en dicha tabla, el número de fundadores (F0) positivos por cada tanda no presenta una tendencia definida, exceptuando el incremento notable en las dos últimas realizadas. Si consideramos la relación de positivos respecto de los nacidos (gráfica 1), se observa que relativamente pronto se obtuvieron cifras próximas al 30% que, con ciertas variaciones, se han mantenido desde entonces. Consideramos que este dato podría ser un indicador adecuado en lo que se refiere al grado de optimización técnica de la microinyección: pureza y concentración del DNA por un lado, unido a la homogeneidad del volumen y precisión de la inyección. De hecho, podemos asociar el momento en el que se produjo este incremento a varios factores coincidentes: utilización de un kit de purificación determinado (Gene-Clean), filtrado sistemático del tampón de inyección y centrifugación previa a la carga de la micropipeta, unido a un incremento en la velocidad de inyección.

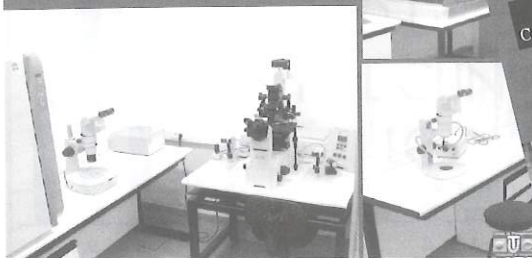
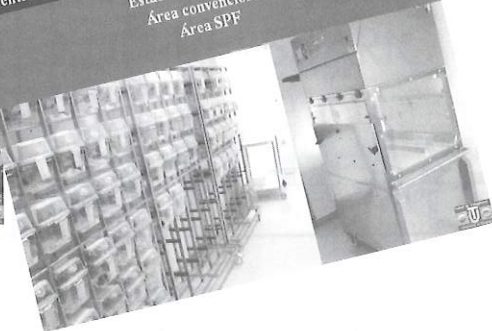
Un indicador mucho más preciso de la eficacia global del procedimiento es la relación entre positi-

vos y zigotos inyectados (gráfica 2) al incluir como elemento primordial la efectividad de la transferencia embrionaria, aspecto este determinante en el número final de nacimientos. En este contexto, un índice aún más adecuado lo constituye la tasa de positivos por hembra donante superovulada (gráfica 3), pues tiene en consideración todo el proceso: desde la eficiencia de la superovulación al nacimiento de fundadores positivos. En ambos casos se aprecia una tendencia de mejora de estos indicadores, incluso sin tener en cuenta las últimas tandas, alguna de ellas excepcional y probablemente favorecida por alguna característica intrínseca de la construcción génica inyectada. No obstante, estas últimas tandas coinciden en el tiempo con la adquisición de una mayor confianza y seguridad en la realización de la transferencia embrionaria, reflejada en el incremento del número de nacimientos.

Nada puede deducirse de una serie tan corta y menos en una actividad que mantiene un componente artesanal tan acusado, en el que un cúmulo de factores sutiles pueden provocar grandes oscilaciones en los rendimientos. Solo caben impresiones y preferencias personales, que como tales deben tomarse. La impresión es que una vez alcanzado un grado de dominio técnico medianamente aceptable, el tipo de construcción génica y la calidad de su preparación, adquieren especial importancia. Más concretamente, aquellas cuyas secuencias reguladoras y promotoras dirigen la expresión, comprobada o inadvertida, durante el desarrollo precoz, pueden limitar en gran medida la eficacia de obtención, sobre todo si el gen expresado es un miembro de alguna familia medianamente importante en la red de regulación metabólica general o del ciclo y proliferación celular, diferenciación celular o de la

Unidad de Transgénesis

Equipo NIKON-Narishige
Microinyectores Eppendorf
Impulsor piezoeléctrico Prime-Tech


Unidad Mixta de Investigación (UMI)
 Centro de Servicios y Laboratorios de Investigación Biomédica
 Estabulario registrado
 Área convencional
 Área SPF


morfogénesis, haciendo en ocasiones imposible derivar una sola línea con transmisión a la F1 y expresión aceptables. Desafortunadamente, la situación podría ser mucho más común de lo que pudiéramos imaginar. Afortunadamente, existen los sistemas que haciendo uso de recombinasas nos permiten dar un rodeo al problema y trabajar en condiciones más controladas.

FUTURO

Tenemos por delante el reto de la puesta a punto de la nueva Unidad de Transgénesis, con la incertidumbre que conlleva en este tipo de actividad el realizar cambios, sobre todo cuando los procedimientos funcionan más o menos adecuadamente. Pero, además de una cuestión de ubicación lógica en el seno de un animalario registrado, probablemente sea la única oportunidad de solucionar alguno de los problemas más graves como es el de la carencia de personal técnico. Por otro lado, confiamos en poder iniciar lo antes posible los procedimientos de transgénesis mediante recombinación homóloga en células ES, así como el desarrollo de métodos de producción de ratones transmitocondriales, en colaboración con el grupo de genética mitocondrial del Departamento de Bioquímica de nuestra universidad. La generación de transgénicos para otros grupos tanto locales como de otros centros nacionales, comienza a ser habitual y lógicamente no se puede mantener de modo exclusivo en un contexto de colaboración entre grupos. Esta es otra de las razones que da sentido a la creación de la unidad.

Agradecimientos. A todos aquellos que han colaborado de una u otra forma en el trabajo realizado:

Laboratorio de Neurobiología

Anabel Alcalde
José Aramayona
Hassnae Badi
Tatiana Blasco
Jesús Canudas
Cote Carrodegas
Julia Catalán
Salvador Climent
Luis Domínguez
Héctor Giral
Mónica Gómez
Anuska Lacosta
Rosaura Pérez
Manuel Sarasa
VÍctor Sorribas

Unidad Mixta de Investigación

Rosa Morales
José Ramón Morandeira

Dpto. Bioquímica y Biología Molecular
Jesús de la Osada

Unidad de Anatomía Patológica
M^{oa} Carmen Arnal
José A. García de Jalón
Marcelo de las Heras

4

LIBROS Y CONVOCATORIAS

LIBROS • publicaciones

Sección editada por Luís Muñoz

■ APPLIED ANIMAL ENDOCRINOLOGY

Squires, E.J.

Editorial: **CABI PUBLISHING**

2003, 272 Págs., ISBN: 0-85199-594-2, Rústica
64,43 Euros

El conocimiento de las influencias hormonales durante el desarrollo y crecimiento constituye un factor esencial en la producción animal y en la salud y protección de los animales. El texto explica las técnicas y los efectos de las terapias hormonales aplicadas a distintas especies animales..

■ BIOLOGY OF GROWTH OF DOMESTIC ANIMALS

Scanes, Colin G.

Editorial: **BLACKWELL SCIENCE LTD.**

2003, 352 Págs., ISBN: 0-8138-2906-2,
Cartoné
129,62 Euros

Se examinan en el texto los cambios fisiológicos y factores de crecimiento producidos desde el nacimiento hasta la madurez. Aunque el proceso de crecimiento es la base para la pro-

ducción cárnica, pocos textos han profundizado en este tema.

■ VETERINARY ANESTHESIA AND ANALGESIA

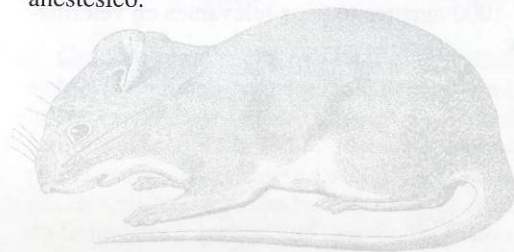
McKelvey, Diane

Hollingshead, K. Wayne

Editorial: **MOSBY, C.V. COMPANY (Usa)**

2003, 448 Págs., ISBN: 0-323-01988-9, 3ª
Edic., Rústica
49,71 Euros (IVA incluido), 8.271 Ptas.

Guía concisa diseñada para formar técnicos en procedimientos anestésicos. Se discuten temas como la preparación preanestésica del paciente, procedimientos de inducción, monitorización de signos vitales durante el período anestésico.



■ MANUAL DE ANESTESIA Y ANALGESIA VETERINARIA

Mckelvey, D

2003, tela, 352 pgs. 75,96 Euros+ 4% Iva

INDICE: El Periodo Preanestésico. Evaluación del paciente. Selección del protocolo anestésico. Cuidados del paciente preanestésico. Agentes preanestésicos. Anestesia General. Componentes. Seguridad. Estudios clásicos y planos anestésicos. Técnicas y agentes de inducción anestésica. Intubación endotraqueal. Mantenimiento de la anestesia. Colocación del paciente y bienestar durante la anestesia. Recuperación de la anestesia general. Técnicas y agentes anestésicos. Comparativa entre anestesia inhalatoria e inyectable. Anestésicos inyectables. Anestésicos inhalatorios. Agentes utilizados en el periodo postanestésico. Equipamiento necesario para la anestesia. Funcionamiento de la máquina anestésica. Manejo y cuidados del equipo anestésico. Seguridad en el Lugar de Trabajo. Riesgos asociados al gas anestésico residual. Seguridad en el manejo de gases comprimidos. Problemas y Urgencias Anestésicas. Causas de aparición de problemas y urgencias. Respuesta a los problemas y urgencias anestésicas. Técnicas Especiales. Anestesia local. Ventilación controlada

■ HANDBOOK OF SMALL ANIMAL TOXICOLOGY AND POISONINGS

Roger W. Gfeller, Shawn P. Messonnier

2nd Edition 2004, 496 pages. 66,84 Euros +4 % Iva

Libro de bolsillo que ofrece un amplio repaso a la toxicología esencial para el diagnóstico y tratamiento de los problemas resultantes de la ingestión o exposición a tóxicos. Se repasan más de 1000 agentes tóxicos relevantes en veterinaria



■ REALLY USEFUL HANDBOOK OF REPTILE HUSBANDRY

Caroline Gosden

2003 Paperback · 186 Pages · 15 Illustrations
30,84 Euros + 4% Iva

Introduction 1. Blank history forms with explanation of the questions: Snakes & Lizards Tortoises Terrapins Amphibians 2. Sample forms: Corn Snake Royal Python Leopard Gecko Green Iguana Bearded Dragon Spur Thighed Tortoise Red Eared Terrapin Fire Bellied Toad Ornate Horned Frog Whites Tree Frog Fire Salamander 3. Self test histories: Corn Snake Green Iguana Bearded Dragon Spur Thighed Tortoise 4. Photographs of injuries caused through inappropriate husbandry Appendix i - Diet Sheet Appendix ii - Flow Chart for Feeding Problems, Cunning Tactics, Tips for feeding snakes Appendix iii- Biological data of reptiles

■ FERRETS, RABBITS AND RODENTS

Katherine Quesenberry ; James W. Carpenter
2nd Edition, February 2004

CONTENIDO:

SECTION 1. FERRETS 1. Anatomy, Physiology, Behaviour, and Husbandry. 2. Basic Approach to Veterinary Care 3. Gastrointestinal Diseases 4. Urogenital Diseases 5. Periparturient and Neonatal Diseases 6. Cardiovascular Diseases 7. Respiratory Diseases 8. Endocrine Diseases 9. No endocrine Neoplasia 10. Dermatologic Diseases 11. Musculoskeletal Diseases 12. Soft Tissue Surgery **SECTION 2. RABBITS** 13. Anatomy, Physiology, Behaviour, and Husbandry 14. Basic Approach to Veterinary Care 15. Nutrition and Gastrointestinal Physiology 16. Gastrointestinal Diseases 17. Respiratory Disease and the Pasteurella Complex 18. Reproductive and Urogenital Disorders 19. Dermatologic Diseases 20. Neurologic and Musculoskeletal Disease 21. Cardiovascular and Hemopoetic Diseases 22. Soft Tissue Surgery **SECTION 3. GUINEA PIGS, CHINCHILLAS, AND PRAIRIE DOGS** 23. Biology, Husbandry, and Clinical Techniques 24. Disease Problems of Guinea Pigs 25. Disease Pro-

blems of Chinchillas 26. Disease Problems of Prairie Dogs 27. Soft Tissue Surgery SECTION 4. SMALL RODENTS 28. Basic Anatomy, Physiology, Behaviour, and Husbandry 29. Clinical Techniques 30. Disease Problems 31. Soft Tissue Surgery SECTION 5. OTHER SMALL MAMMALS 32. Sugar Gliders 33. Hedgehogs SECTION 6. GENERAL TOPICS 34. Anaesthesia, Analgesia, and Sedation of Small Mammals 35. Dentistry of Small Mammals 36. Orthopaedics 37. Small Mammal Endoscopy 38. Radiology and Ultrasound 39. Cytology 40. Ophthalmology 41. Zoonotic Diseases 42. Formulary Appendices Index Colour Plates

■ **ANIMAL MODELS OF HUMAN INFLAMMATORY SKIN DISEASES**

Lawrence S Chan
 ISBN: 0849313910 \$199.95
 Number of Pages: 584
 CRC Press

Contiene información sobre una variedad de modelos animales de enfermedades inflamatorias de la piel e incluye un capítulo de histología e inmunología comparada.

El progreso en el conocimiento de las enfermedades de la piel ha sido ayudado en gran manera por el uso de tejidos derivados de animales para estudiar los procesos normales y el desarrollo de modelos animales. Las actividades celulares en animales y humanos son similares y el proceso patológico íntegro que constituye el proceso inflamatorio de la piel solo puede ser analizado en detalle y completamente en modelos in vivo sin que exista ningún modelo in vitro que pueda reemplazar estos. Estos factores han llevado a el uso regular de estos como métodos que permiten estudiar el proceso patológico con mucha mayor profundidad. Este libro ofrece los principios y prácticas necesarias para abordar estos estudios sobre modelos animales vivos.

En una parte fundamental, el libro describe la estructura y función de la piel, y los sistemas inmunológicos de las principales especies usadas de una forma comparada. Desde una perspectiva práctica, se presenta una discusión sobre los métodos de modelaje experimental en animales,

exponiendo datos sobre la experiencia de expertos en cada modelo. Los autores incluyen el método detallado para la inducción de cada modelo experimental, con capítulos sobre histología e inmunología comparada y discutiendo las posibles estrategias de intervención sobre la enfermedad.

■ **TEXTOS LEGALES SOBRE EXPERIMENTACIÓN ANIMAL**

Pérez Monguió, José María
 2003 N° de páginas: 318
 ISBN: 84-7786-860-3 Precio: 15 Euros

Obra recopilatoria que recoge la normativa básica internacional, comunitaria, nacional y autonómica acerca de la experimentación animal aplicable en España. El nuevo texto tiene como objetivo proporcionar a todos aquellos especialistas, investigadores, legisladores o personas interesadas un instrumento de trabajo y consulta que permita en un solo libro disponer de la dispersa y variopinta legislación existente en esta materia.

La obra está compuesta por un prólogo del autor en el que se ofrece una visión general de los aspectos variopintos relacionados con la materia, un índice sistemático en el que se contienen todas las normas y su estructura y, por último, un índice analítico que facilita la búsqueda de las cuestiones deseadas por los usuarios.

■ **MANUAL DE GENÉTICA DE ROEDORES DE LABORATORIO. PRINCIPIOS BÁSICOS Y APLICACIONES**

Fernando Benavides; Jean-Louis Guenet
 2003 3121 pags. ISBN 84-8138-584-0
 Universidad de Alcalá

Gracias al esfuerzo en coordinación de D. Jose María Orellana Muriana, la colaboración de la Universidad de Alcalá, Laboratory Animals Ltd. y a la propia SEAL, podemos contar hoy con este magnífico libro en español que seguro se convertirá en un clásico. Escrita por Fernando Benavides y Jean-Louis Guenet, profesiona-

les destacados del sector, constituye una obra que trata de una forma completa y novedosa los temas sobre genética y en especial los relacionados con los roedores más comúnmente utilizados en los animalarios. Desde los temas más bá-

sicos a los más especializados nos ayudará a resolver dudas que se nos presentan a diario en los animalarios y será una ayuda inestimable como texto utilizado en formación. ¡¡Imprescindible!!

CONVOCATORIAS

■ **34TH ANNUAL SYMPOSIUM AND EDUCATIONAL DAYS OF THE SCANDINAVIAN SOCIETY FOR LABORATORY ANIMAL SCIENCE SCAND-LAS.**

In Vivo veritas. Tallinn, Estonia
13-16 de Mayo 2004

■ **INTERNATIONAL COURSE ON LABORATORY ANIMAL SCIENCE.**

Utrecht, The Netherlands
1-11 de Junio 2004

■ **"INTERNATIONALIZATION AND HARMONIZATION OF LABORATORY ANIMAL CARE AND USE ISSUES".**

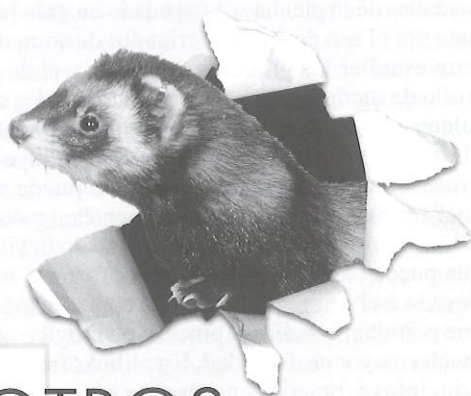
IXth FELASA symposium
Nantes ;14th to 17th of June 2004.
Pre-registro en
<http://www.afstal.com/>

■ **INTERNATIONAL PRIMATOLOGICAL SOCIETY XXTH CONGRESS**

Torino, Italy
23rd to 28th August 2004

■ **AMERICAN ASSOCIATION FOR LABORATORY ANIMAL SCIENCE (AALAS)**

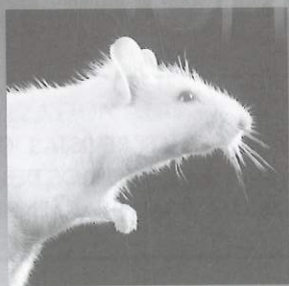
National Meeting 2004
Tampa, FL, USA
17th - 21st October 2004



WEB Y OTROS

■ **MONOGRAFÍAS DEL ILAR
ILAR Journal Vol 44; n° 4: 2003
"Physiological Research Outside the Laboratory"**

CERTIFICACIÓN Y EUROPEIZACIÓN! CERTIFIED AND EUROPEAN! EUROPAISCH UND ZERTIFIZIERT! CERTIFIÉ EUROPÉEN!



- Agilidad y personalización de servicios.
- Laboratorio y equipos preconcebidos.
- Etica profesional y el respeto al animal.
- Certificación ISO 9002 como prueba de confianza.



Representante en España:
JANVIER ESPAÑA, S.L.
Tembleque, 56. 28021 MADRID.
Telf.: 91 711 25 53. Fax: 91 518 12 60

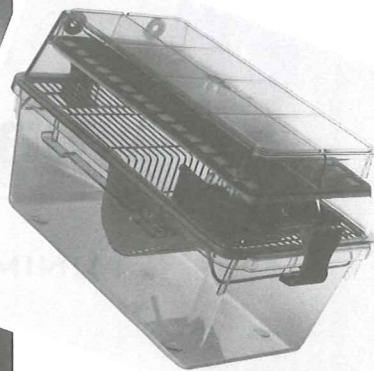
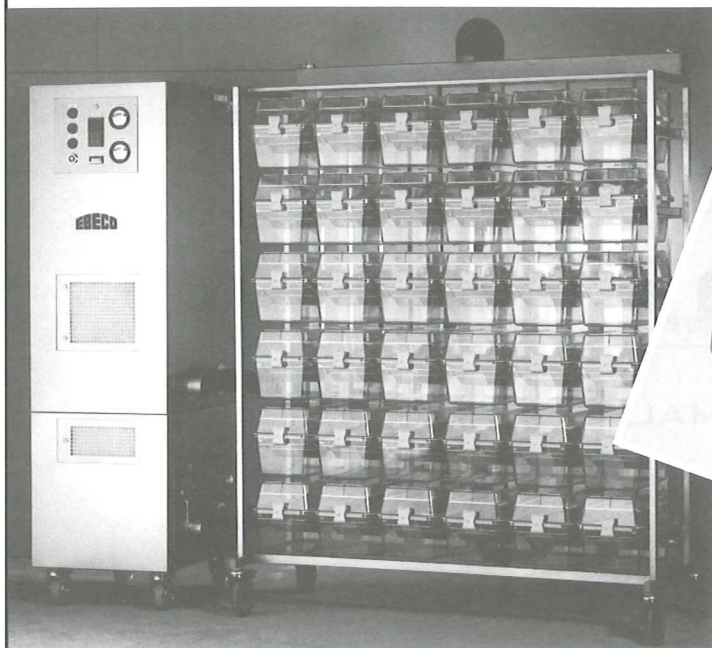


Route des Chênes Secs - BP 5
53940 LE GENEST-ST-ISLE - France
Tél. : + 33 (0) 2 43 02 11 91
Fax : + 33 (0) 2 43 02 00 15
E-mail : service.commercial@elevage-janvier.fr

EBECO

Jaulas Ventiladas en Rack MIKROS-AS

MIKROS-AS está disponible con el sistema de tubo único para presión positiva y también de doble tubo para presión positiva/negativa.



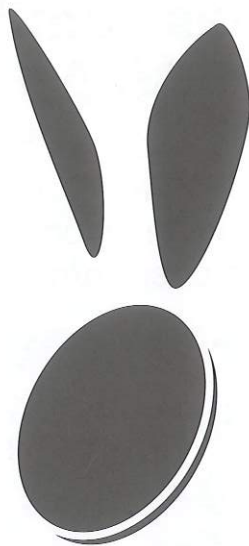
*También suministramos jaulas y equipos para
toda clase de investigación animal.
Por favor pregúntenos para más información.*

EBECO

E. BECKER & CO GMBH

Hermannstrasse 2 - 8 · D-44579 CASTROP-RAUXEL
Tel.: (+49) 23 05-97 30 40 · Fax: (+49) 23 05-97 30 444
E-mail: ebeco@t-online.de

Representante en España: **JANVIER ESPAÑA, S.L.**
C/Tembleque 56 · 28024 MADRID · Telf. 91 7112553 · Fax 91 5181260



Granja San Bernardo

M.D.L.

MINIMAL DISEASE LEVEL

Granja San Bernardo S.L. Tulebras (Navarra) - ESPAÑA tfno (948) 85 01 25 - fAX (948) 85 01 25

www.masbytes.es/sanbernardo

e-mail: sanbernardo@masbytes.es

Transgénicos



Charles River puede hacer más rápidos sus estudios iniciando su proyecto inmediatamente, reduciendo considerablemente algunas de las etapas y proporcionándole soporte técnico.

- Colony maintenance and breeding
- Quarantine and health monitoring
- Rederivation and embryo transfer
- Embryo cryopreservation and storage
- Genetic monitoring
- Phenotypic characterization


CHARLES RIVER
LABORATORIES

España

© Charles River Laboratories, 2003

Harlan

INTERFAUNA

IBERICA, S.A.

