APARICION DE MOSAICISMOS EN CERDOS OBTENIDOS MEDIANTE INSEMINACION CON ESPERMA TRATADO CON ADENOVIRUS DEFECTIVOS

Joan E. Rodríguez-Gil[1], Lourdes Farré[2], Teresa Rigau[1], Teresa Mogas[1], Manel Canaß[3] y Anna Mª Gómez-Foix[2]

[1]Unidad de Reproducción. Departamento de Patología y Producciones Animales. Facultad de Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona. --08193 Bellaterra.
[2]Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad de Barcelona. C/. Martí i Franquès, 1. 08028 Barcelona.
[3]Cooperativa Agrícola Comarcal "Plana de Vic". C/. Bisbe Morgades 3-5. 08500 Vic.

En anteriores experimentos, nuestro grupo habia podido observar la presencia de expresión del gen para la β-galactosidasa (β-gal) en embriones porcinos obtenidos trans fecundación *in vitro* con espermatozoides tratados con adenovirus defectivos que contenían el gen para la β-gal (1). Como una continuación a estos experimentos, seguidamente se inseminaron 10 cerdas adultas, entre primer y tercer parto, con dosis seminales tratados con adenovirus defectivos que contenían el gen β-gal. Los animales se inseminaban dos veces, en dos días consecutivos, a partir de las 24 horas del inicio del celo. Cada dosis seminal contenía $444x10^8$ espermatozoides motiles, y el porcentaje de infección fue de 10:1. El registro de gestaciones y lechones obtenidos se muestra en la Tabla 1.

Tras el nacimiento de los lechones, a todos ellos, ya fueran vivos o nacidos muertos, se les realizó una análisis de detección del gen β-gal mediante la técnica del PCR con primers específicos para un fragmento del gen β-gal de unos 300 pare de bases. Mediante esta técnica, se comprobó la presencia de dicho gen en cuatrto de los lechones, dos vivos y dos nacidos muertos. Sin embargo, cuando se realizó una nueva detección del gen mediante la técnica del Southern Blot, ningún lechón mostró una señal positiva. Por otra parte, también se intentó la detección de la proteína específica β-gal, mediante la técnica del Western blot en diferentes tejidos de los animales nacidos muertos, aunque nuevamente los resultados fueron negativos. Sin embargo, cuando se determinó la presencia de RNA mensajero β-gal en diferentes tejidos de los animales muertos mediante la técnica de la RT-PCR se observó la presencia de éste en el hígado, riñón y corazón de los lechones. No fue posible determinar el RNA mensajero mediante la técnica del Northern blot, puesto que el RNa de los animales muertos se encontraba demasiado degradado para ello.

En definitiva, nuestros resultados indican que algunos lechones obtenidos tras la inseminación con esperma tratado con adenovirus defectivos pueden captar parcialmente el DNA exógeno presente en los virus. Sin embargo, puesto que el nivel de detección del DNA está por debajo del nivel de sensibilidad del Southern blot, no todas las células de los lechones contienen este DNA, indicando que sólo una pocas presentan el gen. Este hecho parece indicar la presencia de un mosaicismo en estos animales, lo que viene reforzado por la falta de detección de proteína, al encontrarse en cantidades inferiores a los niveles detectables mediante Western blot, mientras la cantidad de RNA mensajero es suficiente como para poder detectarse medisante RT-PCR. En estos momentos, estamos a la espera de la madurez sexual de los dos lechones vivos positivos al gen β-gal, para poder averiguar la posible presencia de este gen en las células germinales de estos animales, lo que permitiría el paso del gen β-gal a la descendencia.

Tabla 1. Registro de inseminaciones, partos y número de lechones de los animales inseminados

Cerdas inseminadas	10
Cerdas gestantes a los 40 días	8
Partos	8
Lechones obtenidos	67
Lechones nacidos vivos	59
Lechones nacidos vivos positivos a β-Gal	2
Lechones nacidos muertos	8
Lechones nacidos muertos positivos a β-Gal	2
Porcentaje total de lechones positivos	5,97%

Bibliografía

1.- Rodríguez-Gil, J.E., Farré, L., Rigau, T. Y Gómez-Foix, A.M. (1995). Expresión de un gen exógeno en embriones de cerdo obtenidos mediante fecundación i"in vitro" con espermatozoides tratados con adenovirus de replicación deficiente como vectores. ITEA 16, 269-271.