

GENERACION DE EMBRIONES PORCINOS EDITADOS PARA LA RESISTENCIA SIMULTÁNEA A LOS VIRUS DE PRRS E INFLUENZA PORCINA

Piñeiro-Silva^{1,2}, C., Navarro-Serna^{1,2}, S. y Gadea^{1,2*}, J.

¹Dept. Fisiología. Universidad de Murcia. Murcia 30.100. ²IMIB-Arrixaca, Murcia
*jgadea@um.es

INTRODUCCIÓN

Las técnicas de edición génica permiten realizar modificaciones específicas de uno o más genes, lo que puede ser una estrategia para la lucha, control y prevención de enfermedades víricas que afectan al sector porcino (revisado por Navarro-Serna *et al.*, 2022). El virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRSV) produce inmensas pérdidas en el sector. Por otra parte, el virus de gripe porcina, además de la importancia directa de la gripe sobre la producción, puede mutar en el cerdo y generar nuevos subtipos que pueden causar un gran problema de salud pública. Previamente hemos descrito la generación de embriones *knock-out* para el gen CD163 que confiere resistencia a PRRS mediante técnicas de electroporación y lipofección (Piñeiro-Silva *et al.*, 2023). Con esta tecnología es posible la generación de animales con múltiples mutaciones que permitan la resistencia simultánea a diversas enfermedades. Describimos la utilización de técnicas de electroporación de ovocitos porcinos para editar su genoma y conferir resistencia simultáneamente a ambas enfermedades PRRS e Influenza porcina.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se diseñaron guías de RNA para el exón 7 del gen *CD163* que confiere resistencia a PRRS y para el exón 3 del gen *TMPRSS2* que codifica la enzima Transmembrane protease serine 2 que participa en el proceso de infección de diversos virus, entre ellos, el de la gripe porcina. Los ovocitos madurados *in vitro* fueron electroporados en presencia de las guías de RNA y la proteína Cas9, y seguidamente fueron fecundados *in vitro* y posteriormente cultivados hasta el estadio de blastocisto, para finalmente evaluar su genotipo por técnicas de electroforesis capilar y secuenciación Sanger (Navarro-Serna *et al.* 2022; Piñeiro-Silva *et al.* 2023).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En cuanto al desarrollo embrionario, la tasa de división fue del 81,3 % y la de blastocisto fue del 29,7 %. Al analizar las tasas de mutación de cada gen, encontramos que se produjo la mutación para el gen CD163 en el 71 % de los blastocistos, con una tasa de mosaicismo del 16,1 %, y esos valores fueron del 78,6 % y 35,7 % para el gen *TMPRSS2*. Eso supuso que la mutación en ambos genes se produjo en el 63 % de los blastocistos genotipados, con un 14,8 % de los embriones con mutación única en el gen *TMPRSS2*, un 7,4 % de los embriones con mutación única en el gen CD163 y un 14,8 % sin mutación alguna. En cuanto a la tasa de mosaicismo, el 52,9 % de los embriones con doble mutación eran mosaicos.

CONCLUSIÓN

Aunque previamente se han generado cerdos editados resistentes a PRRS (Whitworth *et al.*, 2016; Burkard *et al.*, 2018), en nuestro conocimiento es la primera vez que se describe la edición genética con mutación simultánea de genes relacionados con la resistencia a PRRS e Influenza porcina. Se abre una posibilidad de generar animales multi-editados para estas y otras enfermedades víricas, lo que supone un cambio disruptivo en la manera de afrontar la lucha frente a las enfermedades con múltiples beneficios en la salud y bienestar de los animales y con repercusiones directas (gripe) e indirectas (alimentación) en la salud humana.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Burkard *et al.* 2018 J Virol 92(16): e00415-18. • Navarro-Serna, S. *et al.* 2022a. Sustainable Agriculture Reviews 57: 71-130 • Navarro-Serna, S. *et al.* 2022b. Theriogenology. 186: 175-184. • Piñeiro-Silva, C. *et al.* 2023. Animals. 13(3): 342. • Whitworth *et al.* 2016. Nat Biotechnol 34: 20-22.

Agradecimientos: Proyectos AES 2019 (DTS19/00061); Fundación Séneca 21666/PDC/21 y 22065/PI/22, MCIN/AEI/10.13039/501100011033/ y PID2020-113366RB-I00 y Contrato predoctoral Plan de Fomento de la Investigación de la Universidad de Murcia para 2022 (R-496/2022).