



CASOS DE DE LA TRAN

¹Laboratorio de Fisiología Molecular y Estructural,
Facultad de Ciencias Biológicas (Unidad B), Universidad
Autónoma de Nuevo León.

²Departamento Biología Celular y Genética, Unidad
de Biología del Desarrollo en el Laboratorio de
Inmunología y Virología, Facultad de Ciencias
Biológicas (Unidad C), Universidad Autónoma de
Nuevo León.

EXITOSOS SGÉNESIS

IRÁM PABLO RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ^{1,*},
DIANA RESÉNDEZ PÉREZ^{2,*}



***Correspondencia:** Departamento Biología Celular y Genética, Unidad de Biología del Desarrollo en el Laboratorio de Inmunología y Virología, Facultad de Ciencias Biológicas (Unidad B), Universidad Autónoma de Nuevo León. Ave. Pedro de Alba s/n cruz con Ave. Manuel L. Barragán. San Nicolás de los Garza, Nuevo León, 66455 México. Conmutador 01 (81) 8329-4110 / Fax 01 (81) 8376-2813.

RESUMEN

Tradicionalmente se han producido animales con nuevas combinaciones de genes utilizando métodos de reproducción y selección animal. La transgénesis es el uso de técnicas moleculares efectivas para la modificación de diferentes seres vivos. Como el ADN es universal en todos los organismos vivos puede transferirse entre organismos inclusive de diferente especie generando la modificación genética que se conoce como organismo genéticamente modificado o transgénico. En México se ha buscado una regulación de estas técnicas debido a que no son del todo aceptados por la sociedad básicamente por el desconocimiento de su funcionamiento y/o elaboración. El uso de la transgénesis en diversos modelos biológicos ofrece una gran cantidad de ventajas en su producción como en su consumo, dando resultados positivos en lo económico y en su consumo, así como el uso de organismos modelos biológicos en el estudio de enfermedades, mejoramiento de ganado en animales de cría y producción de medicamentos biotecnológicos en animales transgénicos usados como biorreactores. Uno de los organismos más utilizados son los bovinos, esto por medio de un sistema de transposones de ADN o bien, para el campo de la agricultura el uso de la transgénesis trae muchos beneficios como el diseñar plantas de papa resistentes al virus de la papa Y PVY mediante silenciamiento de ARN del virus de la papa Y PVY, que es uno de los virus más dañinos de la papa. El maíz es otro de los cultivos transgénicos que ha sido introducido en el continente Americano pero su expansión ha sido menos agresiva que la soya, los impactos de su introducción en centros de origen pueden ser muy graves. Chile y Costa Rica que están dedicados a la producción de semillas transgénicas.



PALABRAS CLAVE: Transgénesis, transposones, microinyección, organismo genéticamente modificado

INTRODUCCIÓN

La ingeniería genética ha desarrollado mecanismos para modificar no sólo el genoma de microorganismos y plantas sino también el de los animales en diversos modelos biológicos. Un transgénico se refiere a un organismo en cuyas células se ha introducido un fragmento de ADN exógeno, que no se encuentra normalmente en ese organismo. En 1973 se obtuvo el primer organismo genéticamente modificado de la historia: una bacteria (Wright, 1986). El primer ratón transgénico se logró en 1980 al microinyectar la secuencia de ADN manipulada en un embrión e introduciendo éste en un ratón hembra (Gordon et al., 1980; Salter, 1987). Los primeros experimentos exitosos de transgénesis en animales fueron realizados en ratones a los que se les insertó el gen que produce la hormona del crecimiento de ratas en 1982 (Missiou et al., 2004). Las plantas, sin embargo, presentaban otro tipo de dificultades, los requerimientos precisos para la expresión de secuencias de ADN en varios estadios de desarrollo en las plantas no se conocen.

ANTECEDENTES

ÉXITOS Y FRACASOS DE LA TRANSGÉNESIS

El aislamiento de células madre embrionarias de ratón, en 1989, abrió nuevas posibilidades para estudiar la función génica en animales transgénicos (Thompson et al., 1989). Esto permitió el desarrollo de la tecnología de transformación genética mediante recombinación homóloga en células madre embrionarias (del inglés: ES cells) que ha posibilitado modificaciones genéticas muy finas en el genoma del animal, tal como la introducción de copias únicas de un gen.

En otros ámbitos, diferentes investigadores describieron el fenómeno conocido como corona de gallo (crown gall) bautizaron al agente oncogénico como *Bacterium tumefaciens* (bacteria que hace tumores), que luego sería popularizado como *Agrobacterium tumefaciens*. Los autores consideraron que la bacteria debía estar transfiriendo "algo" a la planta que le causaba el tumor, alguna especie de principio inductor de tumores, pero no estaba claro de qué se trataba (Braun, 1958). Habiendo definido cuál sería el vector biológico para trasladar el ADN de interés a la planta, el trabajo consistía en extraer los genes oncogénicos del T-ADN (pues de lo contrario no se obtendría una planta, sino una masa tumoral) e insertarle los genes de otra especie; luego habría que introducir el T-ADN modificado en el plásmido Ti, el cual a su vez se introduciría en el *Agrobacterium tumefaciens* que finalmente se pondría en contacto con la célula vegetal. Barton llevó a cabo esto en un experimento considerado clave en el desarrollo de la biotecnología vegetal: insertó genes de bacteria y de levadura en el plásmido Ti, obteniendo una planta que contenía esas secuencias nuevas en su genoma, esta planta transgénica fue la portada de la prestigiosa revista científica Cell de abril de 1983 (Barton et al., 1983).

CULTIVOS TRANSGÉNICOS EN AMÉRICA LATINA

América Latina es la región con mayor extensión cubierta por cultivos transgénicos en el mundo; irónicamente es también la región con mayor biodiversidad agrícola.

Lo que generalmente modifican más a nivel mundial son los cultivos de maíz, el área global estimada de cultivos transgénicos autorizados comercialmente en 2007 fue de 114,3 millones de hectáreas sembradas en 23



países (James, 2007). La siembra y uso de cultivos transgénicos y sus productos han tenido un gran impacto y múltiples beneficios para la sustentabilidad del medio ambiente y la biodiversidad. Los cultivos han reducido sustantivamente el uso de insecticidas químicos sintéticos para controlar y eliminar plagas de insectos con mayor eficiencia. El propósito del desarrollo y uso de las plantas transgénicas de primera y segunda generación es fundamentalmente controlar las plagas de insectos y reducir el uso de insecticidas químicos. Esta meta se ha logrado con beneficios a la economía de los agricultores que utilizan cultivares transgénicos reduciendo el uso de pesticidas, incrementado el rendimiento de las cosechas, así como las ganancias de los agricultores.

Monsanto se identifica como la mayor empresa de la implantación de la biotecnología moderna, esta controla el 91% de las semillas de soya transgénica. Estados Unidos presiona a países de América Latina para que cambien su legislación de propiedad intelectual para que reconozcan patentes en semilla y así Monsanto poder manejar un “impuesto tecnológico” que es un porcentaje del producto de la cosecha. En Chile, de manera particular, se está ensayando con cultivos que no han salido al mercado de manera comercial.

LA SITUACIÓN EN MÉXICO

La historia del desarrollo de la transgénesis en las plantas en México inicia en 1983 con las primeras modificaciones de células vegetales. En 1984 se producen las primeras plantas transgénicas y en 1986 se llevan a cabo las primeras pruebas de campo y se desarrollan plantas resistentes a algunos virus (PTRV) por ejemplo del virus del mosaico del pepino (*Cucumber Mosaic virus*, CMV). En 1988 se desarrollan plantas resistentes a plagas (insectos) y a herbicidas, en 1989 se trabaja en la maduración de los frutos y en 1990 hay más de 100 pruebas experimentales en el campo. En 1995 se obtienen los primeros productos comerciales (Ortiz y Ezcurra, 2001).

Los organismos genéticamente modificados (OGMs) autorizados en México según los datos de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) y de la Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS)

de la Secretaría de Salud, los primeros ensayos con organismos genéticamente modificados datan de 1983 a favor de la compañía Campbells - Sinalopasta, la cual obtuvo un permiso de ensayo en Guasave, Sinaloa, con tomate transgénico con la característica de supresión del poligalacturonato (Manzur et al., 2009). México firmó el Convenio de Diversidad Biológica (CDB) y el Protocolo de Cartagena, los cuales han sido la base de diversas normativas de bioseguridad (p. e. Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados) que de manera general permiten la siembra de cultivos transgénicos (incluso de aquellos que son originarios de México) sin previsiones de protección para las comunidades de agricultores e indígenas, ni para los propios cultivos. Esto, a pesar de que el marco de bioseguridad asume un “enfoque precautorio”. Son aproximadamente 20 los cultivos transgénicos que han sido autorizados en México entre 1984 y 2005 para pruebas experimentales o para fines comerciales.

En México no es requisito el etiquetado de productos transgénicos y la Secretaría de Salud ha autorizado la comercialización en el mercado local de una serie de alimentos para consumo humano con ingredientes genéticamente modificados (Manzur et al., 2009). Los avances en el desarrollo en México de variedades de plantas mejoradas y variedades transgénicas, muestran cultivares de tercera generación como una planta de maíz transgénica donde la modificación le permite adquirir resistencia a ciertos factores abióticos del clima como heladas y sequía. Estas capacidades también están presentes en otras plantas.

La transgénesis ha permitido desarrollar mecanismos para modificar no sólo el genoma de microorganismos y plantas sino también el de una gran cantidad de animales como se muestra en la Tabla 1. La transgénesis se realiza mediante manipulación genética *in vitro* y en la actualidad existen diferentes mecanismos para crear animales transgénicos que han permitido el estudio de las funciones de los genes y la producción de proteínas con fines farmacéuticos. Entre algunos de los vertebrados que han sido genéticamente modificados se encuentran cerdos, vacas, borregos, pollos y varios peces como la trucha, el salmón y la tilapia. Aunque se tienen importantes usos potenciales para los animales transgénicos, aún existen muchas limitaciones para su uso comerciales (Ortiz y Ezcurra, 2001).

Tabla 1. Casos reportados de la transgénesis en diferentes organismos

Especie	Propósito	Impacto	Resultado
Plantas			
Caña de Azúcar (Saccharum officinarum)	Proporcionar a la caña de azúcar la resistencia ante la enfermedad de la hoja amarilla, a la cual era muy susceptible.	La enfermedad de la hoja amarilla representa pérdidas importantes para los productores, al llevar a cabo esta modificación, contribuye a la solución de esta problemática.	Se integraron regiones codificantes de la cápside el virus causante de la enfermedad de la hoja amarilla, la planta al ser expuesta a estas regiones de la cápside, generó resistencia para futuras infecciones.
Remolacha Azucarera (Beta vulgaris)	Desarrollar un linaje remolacha azucarera resistente a herbicidas usando Agrobacterium.	La remolacha azucarera es una de las plantas que es de importancia económica por su producción de sacarosa, que al ser atacadas por las plagas y al ser usados los herbicidas tienen grandes pérdidas. La modificación de estas plantas para la resistencia a los herbicidas ayuda a una mejor producción y un mejoramiento en su economía.	La reómolacha azucarera resultó ser susceptible a la infección de Agrobacterium, Se obtuvieron 3 plantas regeneradas para la línea de remolacha Ks3 mientras que en la línea Ks7 se obtuvieron 6.
Banano (Musa spp.)	Desarrollar plantas transgénicas mediante la transformación mediada por Agrobacterium para inhibir el crecimiento de Fusarium oxysporum, mediante la inserción del gen HL.	El desarrollo de banano transgénico resistente a Fusarium oxysporum f. sp. raza tropical cubense 4 es importante ya que constituye una de las diez enfermedades más importantes en la historia de la agricultura.	La transformación mediada por Agrobacterium mediante el bombardeo de partículas permitió la inserción del gen HL para la protección del crecimiento de Fusarium oxysporum f. sp. raza tropical cubense 4.
Arroz (Oryza sativa)	Desarrollar plantas de arroz transgénicas que expresen el gen humano CYP1A1 para mejorar su capacidad de metabolizar compuestos xenobióticos como herbicidas y así emplear las plantas de arroz como medio de fitorremediación en diferentes tipos de suelo.	Las plantas absorben los contaminantes en sus raíces y hojas para posteriormente metabolizarlos en compuestos que no son tóxicos. La fitorremediación es mucho más barata que la remediación química, además que es más amigable con el medio ambiente.	Las plantas transgénicas que expresaron el gen humano CYP1A1 bajo el control del promotor CaMV 35S mostraron gran resistencia a herbicidas. Las plantas de arroz transgénicas con el gen humano
Papaya (Carica papaya)	Desarrollar una planta transgénica resistente al virus anular de la papaya (PRSV) y al virus del mosaico de la distorsión de la hoja de la papaya (PLDMV).	Detener la propagación de la enfermedad por virus en cultivos de papaya que no pudieron ser resueltos por métodos tradicionales. Se eliminó la muerte de las plantas a largo plazo y todo lo problemas que la infección de los virus.	Plantas resistentes al virus anular de la papaya (PRSV) y virus del mosaico de la distorsión de la hoja de la papaya (PLDMV) resultando un éxito de transformación y protegió al cultivo de la infección viral en esa región.
Cultivos monocotiledóneas (maíz, arroz, etc.)	Producir enzimas degradadoras de la pared celular, (celulasas y hemicelulasas), etanol en la biomasa del cultivo para reducir la producción de estas enzimas en biorreactores.	La producción disminuye el costo de producción de celulasas microbianas, aumenta la producción de biocombustibles celulósico para sustituir la gasolina y mejoramiento del medio ambiente.	Esta tecnología, no está desarrollada completamente, aún faltan muchas cosas por investigar. El enfoque de este trabajo tiene sus propios desafíos, debido a que las plantas no han podido producir estas enzimas a un nivel suficiente para la degradación de la pared celular.
Tomate (Solanum lycopersicum)	Obtener una planta transgénica de tomate que exprese la proteína PfCP - 2.9. Esta induce una mayor producción de anticuerpos, inhibiendo el desarrollo del parásito Plasmodium falciparum responsable de la enfermedad de la malaria.	El desarrollo del tomate como vacunas comestibles permite disminuir el índice de muertes por malaria. El uso del tomate como vacuna comestible contra el desarrollo de Plasmodium falciparum evita la producción malaria, en áreas endémicas como África y Asia.	La primera generación de tomate transformado presenta el gen de interés (PfCP - 2.9). Únicamente tres de un total de 336 explantes alcanzaron la madurez y produjeron frutos y semillas, obtuvieron una tasa de regeneración de 0.89%.
Arabidopsis thaliana	Expresar insulina humana en semillas transgénicas de A. thaliana con orientación a cuerpos de aceite que permite altos niveles de expresión y recuperación.	El uso de semillas con insulina es importante ya que 0,7% de la población mundial padece Diabetes mellitus dependiente de insulina. Se ha estimado que la incidencia de diabetes se duplicará a aproximadamente 300 millones en los próximos 25 años y la demanda de insulina crecerá 4% por año.	La expresión de la insulina como una proteína de fusión de oleosina permitió que se acumulen altos niveles de la proteína recombinante dentro de la semilla (1.3% del peso total de la semilla es insulina humana). La insulina resultó ser activamente biológica en ratones, inclusive presentó un mejor resultado que las insulinas comerciales.

Tabla 1. Casos reportados de la transgénesis en diferentes organismos

Especie	Propósito	Impacto	Resultado
Papa (<i>Solanum tuberosum</i>)	Diseñar plantas de papa resistentes al virus de la papa Y PVY mediante silenciamiento de ARN del virus de la papa Y PVY, que es uno de los virus más dañinos de la papa.	El desarrollo de papa transgénica es relevante ya que se considera el cuarto cultivo más importante del mundo y ha sido objeto de muchos esfuerzos de mejoramiento. Los virus causan graves pérdidas de rendimiento ya que las papas se propagan principalmente de forma vegetativa y esto hace que las infecciones virales sean aún más destructivas: no solo los virus persisten en los tubérculos, sino que las infecciones secundarias transmitidas son más graves que las infecciones primarias.	Doce de las quince líneas transgénicas de papa produjeron ARNip y fueron altamente resistentes a tres cepas de PVY, cada una de las cuales pertenece a tres subtipos diferentes del virus PVYN, PVYO y PVYNTN. La infección de las plantas transgénicas con el virus de la papa X PVX de forma simultánea o previa al desafío con PVY no interfirió con la resistencia a PVY.
Aguacate (<i>Persea americana</i>)	Modificar el aguacate para conferir resistencia al hongo <i>R. necatrix</i> que produce la podredumbre de la planta de aguacate, mediante el uso de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> utilizando los genes; chit-42, β -1,3-glucanasa, procedentes de <i>Trichoderma harzianum</i> , y NPR1, de <i>Arabidopsis thaliana</i> .	El aguacate es uno de los principales frutos consumidos a nivel internacional, la podredumbre que produce el hongo <i>R.</i> en el aguacate causa pérdidas millonarias en la producción anual del aguacate, por lo tanto, es de importancia buscar soluciones para la resistencia a este hongo.	El aguacate adquirió resistencia ante el hongo <i>R. necatrix</i> , con distintos niveles dependiendo el plásmido utilizado. En la transformación del aguacate, se establecieron 21 líneas transgénicas con el plásmido pBINUbiGUSInt, mientras que con el pK7WG2NPR1 se obtuvieron 11 líneas transgénicas, con una eficiencia de transformación en el rango de 1.6-3.33 %.
Jitomate silvestre (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	Evaluar jitomate transgénico con expresión aumentada del antipuerto de Na ⁺ / H ⁺ vacuolar para el crecimiento en condiciones de alta salinidad.	El crecimiento de jitomate en condiciones de alta salinidad es importante ya que costo de la degradación de la tierra inducida por la sal en 2013 se estimó en US \$ 441 por hectárea, lo que arroja una estimación de las pérdidas económicas mundiales en US \$ 27 mil millones por año. A nivel mundial, las tierras de regadío cubren unos 310 millones de hectáreas, aproximadamente el 20 por ciento de las cuales están afectadas por la sal (62 millones de hectáreas).	Las plantas transgénicas de tomate superaron la adquisición deficiente de nutrientes inducida por la sal mediante la introducción del vector para la expresión AtNHX1. Las plantas de tomate transgénicas resultaron en un cambio beneficiosos donde la mayor acumulación de Na ⁺ , mediada por el antipuerto vacuolar Na ⁺ / H ⁺ , permitió disminuir los efectos tóxicos de Na ⁺ .

Mamíferos

Rata (<i>Rattus norvegicus</i>)	Desarrollar una rata transgénica con método más flexible en términos de tamaño de transgén (tg) y más eficiente que el sistema lentiviral en términos de consideraciones de bioseguridad.	La transgénesis de ratón mediada por la transposasa Tn5 (técnica de microinyección modificada asistida por transposones) permite porcentajes más altos de nacimientos vivos y una mayor proporción de animales transgénicos. Además, tiene la capacidad de generar dichos animales con un número limitado de ovocitos, de modo que lo hace especialmente adecuado para los intentos de transgénesis en mamíferos grandes.	Los ratones transgénicos mostraron un alto grado de porcentaje de preservación del transgen (99%) mediante el método de transgénesis Tn5p. En dicho experimento se utilizó el plásmido pCX-EGFP que contenía un gen EGFP dirigido por un promotor CAG.
	Producir líneas de ratones transgénicos que expresen marcadores génicos como la proteína fluorescente GFP y hCD4 en el interior de sus tejidos y órganos.	La producción de ratones transgénicos con marcadores como LacZ, luciferasa y CAT a pesar de que tienen una gran sensibilidad, requieren de isótopos y una medición de la actividad enzimática, la detección de estos es más tardada y difícil. En cambio, la introducción de la proteína fluorescente GFP requiere de un proceso menos invasivo, más sencillo y su detección es aún más fácil.	Se lograron producir exitosamente líneas de ratones transgénicos mediante la inyección de DNA purificado que contenían los vectores pCX-GFP y pCX-hCD4 que acarreaban los marcadores GFP y hCD4 respectivamente, esto se pudo notar tras la expresión verde fluorescente en diferentes tejidos y órganos por medio de microscopia de fluorescencia.
	Producción de ratas knockout interrumpiendo el gen IgM usando la tecnología TALENs, con la finalidad de probar la efectividad de TALENs.	El desarrollo de ratas con alteraciones genéticas que asimilan enfermedades humanas mediante Knockout de las proteínas TALENs.	La frecuencia global de los animales mutados) cuando las nucleasas se microinyectaron como DNA (7/74), mientras que la inyección de mRNA produjo una mayor frecuencia de animales modificados con TALENs (59%). La frecuencia global de los animales recién nacidos recuperados después de la inyección de IgM TALEN fue del 25% (162/642).

Tabla 1. Casos reportados de la transgénesis en diferentes organismos

Especie	Propósito	Impacto	Resultado
Ratón (<i>Mus musculus</i>)	<p>Generar un ratón transgénico con resistencia a mastitis por infecciones de <i>S. aureus</i> en ganado bovino durante periodos de lactancia utilizando como modelo animal inicial <i>Mus musculus</i>.</p> <p>Usar el ratón transgénico con el gen EXT2 codifica un componente esencial del complejo de glicosiltransferasa requerido para la biosíntesis de sulfato de heparano y que eventualmente puede modular la señalización involucrada en la formación ósea.</p> <p>Producir un ratón transgénico que permita la expresión de la glándula mamaria de manipulada genéticamente y controlado mediante la administración de doxiciclina.</p>	<p>Uno de los mayores costos de la producción de leche en la industria ganadera son las infecciones por <i>S. aureus</i> (causante de mastitis), por lo que este avance podría reducir tanto costos como estrés en el ganado.</p> <p>Las mutaciones de EXT2 son las más frecuentes (62% de los casos) y causan enfermedad más severa con baja estatura, deformidades óseas y funcionales y un mayor riesgo de condrosarcoma para mejorar los tratamientos que existen en la actualidad.</p> <p>En los últimos años se ha conocido más casos de cáncer de mama por lo que se encuentra la necesidad de encontrar una solución para regenerar glándulas mamarias a partir de una célula madre mamaria (MaSC) manipuladas genéticamente.</p>	<p>Se generó una línea de ratón transgénico que expresa lisostafina durante lactancia de manera exitosa con el objetivo de evitar infecciones por <i>S. aureus</i>.</p> <p>Se generaron ratones transgénicos EXT2 dirigidos por el promotor ColXI y se confirmó que EXT2 está involucrado en la síntesis de sulfato de heparano in vivo.</p> <p>Las glándulas mamarias manipuladas genéticamente se reconstruyen con éxito a pesar de que el tamaño del vector era > 200 kb e incluso en presencia de elementos de ADN como promotores y secuencias de terminación de la transcripción, que son los principales obstáculos para el empaquetamiento del vector viral. Se diferenciaron correctamente tanto en células basales como en células lumbinales, y mostraron cambios morfológicos normales y producción de leche después del embarazo, así como capacidad de autor renovación.</p>
Marmoset (<i>Callithrix jacchus</i>)	<p>Desarrollar una línea germinal de monos transgénicos para su uso como modelo enfocado en enfermedades humanas utilizando vectores lentivirales.</p>	<p>El uso de monos como modelo animal primate no humano en investigación biomédica es relevante ya que posee una mayor similitud al humano. Este animal tiene una tasa de reproducción relativamente alta por lo que lo hace potencialmente adecuado para una modificación transgénica. La inyección de un vector lentiviral auto-inactivante en sacarosa en embriones de <i>Callithrix jacchus</i> da como resultado transgénicos que expresan el transgén en varios órganos.</p>	<p>La creación exitosa de monos transgénicos proporciona un nuevo modelo animal para enfermedades humanas que tiene la gran ventaja de una estrecha relación genética con los humanos Se logró la transmisión de una línea germinal del transgen, y la descendencia se desarrolló normalmente.</p>
Perro (<i>Canis lupus familiaris</i>)	<p>Obtener perros transgénicos que expresan la proteína roja fluorescente como respuesta a su modificación genética.</p>	<p>La generación de perros transgénicos presenta una nueva aplicación en el futuro de la investigación biomédica, debido a que los perros son modelos muy valiosos por su relación filogenética con el humano.</p>	<p>Se logró la integración, transcripción y expresión de RFP en los cachorros clonados además de no presentar ninguna anomalía.</p>
Babuino (<i>Papio anubis</i>)	<p>Realizar xenotrasplante renal en babuino con órganos de cerdo transgénico para la proteína reguladora del complemento humano DAF (hDAF), utilizando distintos protocolos inmunosupresores.</p>	<p>Los xenotrasplantes de órganos de cerdo en humanos pueden ser una alternativa al déficit de órganos para el trasplante, evitando la barrera inmunológica del rechazo hiperagudo a partir de la producción de cerdos transgénicos, que expresan los genes humanos de las proteínas reguladoras del complemento.</p>	<p>El rechazo hiperagudo ha sido superado con la utilización de cerdos transgénicos, produciéndose el fracaso por rechazo humoral agudo, no controlado con los protocolos de inmunosupresión actuales, por lo cual es preciso desarrollar nuevos protocolos para conocer más su fisiología.</p>

Mamíferos Artiodáctilos

Cabra doméstica (<i>Capra aegagrus hircus</i>)	<p>Producción de la proteína plasminógeno recombinante en glándulas mamarias de cabras transgénicas que expresan la proteína en la leche para la producción de un nuevo fármaco viable para trombosis</p>	<p>El uso de glándulas mamarias de las cabras transgénicas son una buena alternativa para producir proteínas recombinantes. La aplicación es para buscar alternativas de nuevos fármacos más eficaces y más económicos para el tratamiento de la trombosis, principalmente para infracciones al miocardio, trombosis cerebral, tromboembolismo.</p>	<p>El nivel de expresión de la proteína recombinante en la cabra transgénica de 78.32µg/mL, comprobó la heredabilidad del plasminógeno recombinante en la descendencia.,</p>
--------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Tabla 1. Casos reportados de la transgénesis en diferentes organismos

Especie	Propósito	Impacto	Resultado
Vaca (Bos taurus)	Generar una línea de cabras transgénicas diseñada para expresar la lisozima humana en la glándula mamaria, además de su respectiva caracterización de componentes de la leche	La presencia de lisozima humana (HLZ) en la cabra transgénica puede alterar las propiedades funcionales y físicas del sistema de proteínas de la leche, lo que potencialmente conduce a un aumento del rendimiento de queso o a una gama más amplia de productos potenciales que pueden fabricarse exitosamente ya que la calidad de la leche, la inocuidad de los alimentos y la salud animal son importantes para el consumidor y la industria láctea.	Se generaron 21 cabras transgénicas que expresaron la proteína HLZ activa en su leche. El tiempo de coagulación con el cuajo de la leche HLZ fue significativamente menor que el de los controles no transgénicos.
	Generar vacas transgénicas con la modificación del genoma mediado por la nucleasa efectora de tipo activador de la transcripción (TALEN) para insertar un gen SP110 de ratón en el genoma del ganado Holstein-Friesian para hacerlo resistente a M. bovis.	La generación de ganado transgénico resistente a tuberculosis usando dos sistemas de transposones es muy importante ya que la tuberculosis bovina es una enfermedad zoonótica causada por la transmisión de Mycobacterium bovis de animales a seres humanos y de humano a humano. La tuberculosis bovina se distribuye ampliamente en todo el mundo y actualmente no existen programas eficaces para eliminar o controlar la enfermedad en muchas áreas menos desarrolladas de África y Asia.	El ganado transgénico puede controlar el crecimiento y la multiplicación de Mycobacterium bovis, activar la vía apoptótica de la muerte celular en lugar de la necrosis después de la infección y resistir eficazmente la baja dosis de M. bovis transmitida desde ganado tuberculoso en la naturaleza. Los resultados indicaron que SP110 se expresó en los macrófagos del animal descendiente
	Generar ganado transgénico usando dos sistemas de transposones mediante Sleeping Beauty y Piggybac y secuenciación de próxima generación (NGS).	El ganado transgénico que utiliza el sistema de estos transposones de ADN generaron de manera eficiente sin ningún problema de salud y cría por lo que los bovinos transgénicos podrían ser recursos valiosos para la ciencia bio-agrícola.	Se generaron varios bovinos transgénicos de manera eficiente utilizando el sistema de entrega de transposones de ADN e identificaron el número integrado, la posición de integración, las variantes genómicas y las longitudes de los telómeros mediante el enfoque NGS.
	Generar ganado transgénico capaz de producir proteína de la glía en las glándulas mamarias a partir de una transgénesis del gen de la glía humano por medio de transferencia nuclear de células somáticas.	La producción de la proteína de la glía para "consumo" en leche puede ser una gran ayuda para las personas que sufren de enfermedades neurodegenerativas.	No hubo descendencia, puesto que de los únicos 23 blastocitos que habían se transfirieron a 8 vacas pero ninguna pudo gestar.
	Producir ganado transgénico con el fin de obtener una mayor expresión de la proteína HSA en la leche mediante el uso del sistema de integrasa phiC31 y la transferencia nuclear de células somáticas (SCNT).	La proteína HSA se utiliza ampliamente en aplicaciones farmacológicas y terapéuticas. Su producción utilizando biorreactores de glándula mamaria se ha adoptado como un método alternativo para la obtención de grandes cantidades de HSA.	El sistema utilizado resultó una herramienta eficiente y segura de administración de genes para producir ganado transgénico HSA, proporcionando un recurso a gran escala y rentable.
	Crear el primer bovino transgénico al que se le han incorporado dos genes humanos que codifican a las proteínas Lactoferrina y Lisozima presentes en la leche humana.	Este bovino transgénico es una herramienta clave en la existencia de animales productores de alimentos nutricionalmente útiles para el hombre a través de su descendencia, ya que los genes están incorporados a su genoma.	Sólo el 15% de las células llegaron al final del proceso; sólo sobrevivieron 15 embriones para transferir, con los que quedaron preñadas dos vacas (una con un ternero que sufrió muerte fetal, y la otra con Rosita ISA en su interior). Todo indica que al madurar la ternera generada "rosita ISA" debería producir naturalmente leche con las proteínas.
	Establecer un sistema de transferencia de genes de un solo paso altamente eficiente en el genoma bovino de cigotos fertilizados in vitro.	La integración simultánea de varios transgenes independientes entregados por el sistema de transposones Sleeping Beauty (SB).	Generación de bovinos transgénicos que expresan genes de fluorescencia verde y roja.
Embriones bovinos	Producción de embriones transgénicos bovinos mediante microinyección de un lentivirus como vector que porta el gen eGFP como marcador.	Se buscó incrementar la tasa de éxito de generación de animales transgénicos utilizando el vector lentiviral a través de la técnica de microinyección en la zona perivitelina de ovocitos fertilizados.	La generación de embriones transgénicos fue exitosa ya que aproximadamente el 76.4% de los cigotos obtenidos expresaron el gen eGFP.

Tabla 1. Casos reportados de la transgénesis en diferentes organismos

Especie	Propósito	Impacto	Resultado
Cerdo (Sus scrofa domesticus)	Generación de cerdos transgénicos con el uso del virus de la anemia infecciosa equina (lentivirus) como vector utilizando el método de microinyección perivitelina.	Se generaron cerdos transgénicos utilizando el uso del vector del lentivirus se proporciona una mayor productividad de cerdos, favoreciendo a la eficiencia del ganado y con ella a los costos.	Se logró aumentar la tasa de natalidad a un 31% de los cerdos transgénicos con el uso del vector lentiviral e comparación con el 13% de eficiencia reportado con el vector basado en el VIH.
	Producción de cerdos multitransgénicos para xenotrasplantes por medio de transferencia somática nuclear y CRISPR/cas9.	La generación de cerdos multitransgénicos apoya falta de donantes que ha generado la necesidad de buscar alternativas para obtener órganos saludables y compatibles.	Los lechones multitransgénicos expresan los inhibidores del complemento humano CD46, CD55 y CD59 abundantemente en todos los tejidos. Las células de lechones multitransgénicos mostraron una protección completa contra la lisis mediada por el complemento humano.
Aves			
Pollo doméstico (Gallus gallus domesticus)	Generar gallinas transgénicas con huevos que contienen una alta concentración de eritropoyetina humana (hEPO) en la ovoalbúmina además de mantener una transmisión estable de la línea germinal del transgén hEPO a las próximas generaciones de pollos.	Los huevos con eritropoyetina humana (hEPO), se requieren para la producción de glóbulos rojos, y ha sido indispensable para los pacientes con anemia causada por enfermedad renal crónica o en pacientes con cáncer que reciben quimioterapias.	Los pollos transgénicos resultantes produjeron hEPO biológicamente funcional como un componente de las claras de huevo en uno de los niveles más altos jamás reportados. Además, se pudo confirmar la transmisión de una línea germinal estable del transgen hEPO a los pollos de las siguientes generaciones.
	Generación de gallinas transgénicas que fueran inmunes al virus de la leucosis aviar por la inserción de un gen dominante en la línea germinal de la gallina.	Las gallinas transgénicas resistentes al virus de la leucosis aviar es relevante ya que provoca la enfermedad del hígado grande y linfomatosis visceral. en la gallina doméstica, por lo que afectaría principalmente a la industria alimentaria.	Las gallinas transformadas fueron inmunes al virus ya que produjeron la proteína de envoltura A del virus de la leucosis. aunque una resultó enferma de manera espontánea.
Anfibios			
Ajolote (Ambystoma mexicanum)	Obtener ajolotes transgénicos con la expresión de un transgén empleando meganucleasa I-SceI y transposasa Tol2 para el estudio en la regeneración de tejidos, y verificar la expresión el gen reportero GFP en el órgano o tejido donde se llevó a cabo la transgénesis.	Los ajolotes transgénicos como modelo de estudio permiten la disponibilidad de pigmentos de la piel como el mutante albino, esto facilita la visualización de marcadores como GFP en estudios de regeneración. Una ventaja de utilizar al ajolote es que son especies de salamandra que se crían más fácilmente en entornos de laboratorio en cualquier estación del año, con una reproducción de 500 huevos por apareamiento.	Los ajolotes transgénicos se obtuvieron exitosamente mediante el empleo de la enzima meganucleasa I-SceI. I-SceI que es capaz de reconocer y escindir intrones de alelo e introducir fragmentos de ADN en un sitio de restricción con alta especificidad de reconocimiento. El reportero GFP permitió observar la regeneración de la cola del ajolote.
Rana (Xenopus laevis)	Producción de ranas transgénicas, a las que se les fue integrado el gen verde fluorescente.	Las ranas transgénicas a partir de su ensamblaje por medio de enzimas de restricción REMI generan un cambio en el número de cromosomas, lo cual desencadena que los óvulos fecundados de forma in vitro lleguen más allá de la tercera semana de gestación del tratamiento.	La producción de un número mejor de ranas transgénicas, las cuales oscilaron entre el 59 % total y un 10 % con integración interrumpida. Se obtuvo un método más eficiente para la inyección intranuclear.
Actinopterigios			
Tilapia (Oreochromis niloticus)	Diseño y creación de tilapias transgénicas con mayor su tamaño y por consecuente su peso en un corto periodo de tiempo.	Las tilapias transgénicas presentaron aceleración del crecimiento con el fin de reducir el tiempo de crianza en la industria acuícola, optimizando el sistema de producción de carne de tilapia y bajando el costo de producción con un impacto económico elevado en el sector alimentario.	Las líneas de peces transgénicos de tilapia (Oreochromis niloticus) se obtuvo mediante la inyección a huevos con construcciones genéticas que llevan secuencias codificantes de la hormona de crecimiento proveniente de otras especies de peces.
Espojas			
Esponja del ermitaño (Suberites domuncula)	Generar esponjas transgénicas funcionales para la introducción del gen de la proteína de fluorescencia verde mejorada bajo el control del locus β -actina.	Las modificaciones genéticas realizadas en esponjas marinas, es la primera prueba del principio de la transgénesis en estas especies.	La transgénesis realizada en la esponja cuenta con un método robusto y eficiente moleculares tan complejas.

Tabla 1. Casos reportados de la transgénesis en diferentes organismos

Especie	Propósito	Impacto	Resultado
Nematodos			
Caenorhabditis elegans	Generación de cepas de Caenorhabditis elegans con modificación genética de la transposasa MosI para determinar el efecto en la eficacia de MosSCI y MosDEL con la ayuda de los promotores que conducen la expresión de la transposasa.	La selección de cepas transgénicas de C. elegans con sitios de inserción MosSCI permiten la capacidad de agregar o eliminar genes al genoma de este organismo modelo	Las cepas de Caenorhabditis elegans con modificación de la transposasa MosI, las hace más susceptibles a las inserciones y deleciones en los sitios MosSCI.

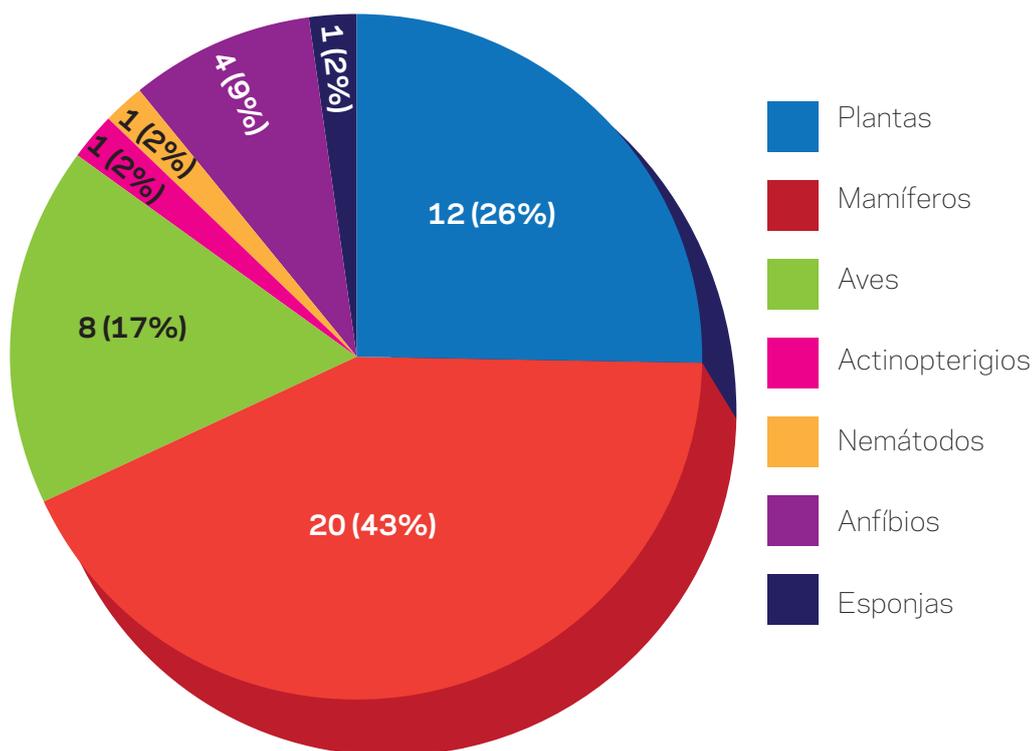


Figura 1.- Transgénesis realizada en diferentes especies. La transgénesis en su mayoría ha sido desarrollada en mamíferos debido a su importancia a nivel ganadero. Posteriormente le siguen las plantas y las aves que igual son especies de importancia para la investigación, principalmente las plantas, debido a que también pueden representar un mejoramiento económico en la agricultura.



Las aplicaciones relevantes de la transgénesis en el uso de organismos modelos han sido importantes en el estudio de enfermedades, en el mejoramiento de ganado en animales de cría, en la producción de medicamentos biotecnológicos en animales transgénicos usados como biorreactores y en muchos otros ejemplos que se resumen como:

Uso de organismos biológicos como modelos de enfermedades donde se pueden introducir genes mutantes de humanos que inducen la enfermedad humana con el propósito de buscar tratamientos y que evitan la experimentación en seres humanos.

Mejoramiento de ganado en animales de cría para ventajas como menor contenido de grasa, crecimiento más rápido, mejoramiento de alimentos, resistencia a enfermedades, etc.

Producción de medicamentos biotecnológicos en animales transgénicos como vacas, ovejas, cabras que se utilizan como Biorreactores para producir medicamentos y nutraceuticos.

De 22 artículos reportados sobre modificaciones realizadas en esponjas, 18 han demostrado resultados exitosos o prometedores, sin embargo, como se trata de técnicas nuevas o no tan establecidas los resultados aún son muy variables. De igual forma, no se tiene una secuencia conforme los avances específicos. En el caso de modelos de anfibios sobre enfermedades se ha observado que tienen un gran interés morfológico, esto se debe a su tipo de organización genómica y a que su desarrollo celular es conservado (Liu et.al. 2015); permitiendo el estudio de la embriogénesis temprana, la organogénesis y el monitoreo de los tejidos adultos. Por lo tanto, esto aporta una efectividad en la inserción de transgenes en dichos modelos de estudio. En todos los casos estudiados, se ha logrado observar una regeneración morfológica, pero no se ha llevado a organismos más complejos. Los primeros reportes de modificación genética en aves se remontan a 1987 con la generación del primer pollo genéticamente modificado mediante vectores retrovirales (Salter y Crittenden, 1989): A la fecha el número de casos o intentos reportados es bastante elevado por lo que se procedió a realizar una revisión bibliográfica a partir de un tamizaje de 20 artículos científicos relacionados. Los resultados obtenidos fueron de 18 casos exitosos y 2 fallidos (Sid y Schusser, 2018; Sobko, 2015 & Ivarie, 2003).

Es importante considerar que cualquier tecnología como la transgénesis no es necesariamente buena o mala, el impacto de su aplicación depende del uso que hace de ella dentro del contexto de cada país y del problema que potencialmente podría solucionar. Lo que es importante de la tecnología como la transgénesis es su conocimiento, para determinar un criterio sólido y bien argumentado para evitar rechazar tecnologías como esta que presenta un gran potencial de apoyar la investigación científica básica, así como su aplicación para mejorar la salud, el medio ambiente, desarrollo sostenible y así como la producción de alimentos.

CONCLUSIONES

El estudio y uso de la transgénesis ha tenido mayor relevancia al paso del tiempo debido a las ventajas que estas ofrecen a los diferentes organismos y al mejoramiento del estado de la técnica. En el caso de mamíferos son las que más se han manejado para el estudio de esta técnica por medio de diferentes formas. La transgénesis tiene mucha importancia ya que ofrecen una serie de beneficios para el hombre, como también para los organismos en sí.

En el continente Americano se espera que en un futuro se tenga un mejoramiento, una presencia y una mayor importancia de las empresas que se dedican en el giro de los transgénicos, esto a excepción de Monsanto. Proponiendo que haya una mayor información al consumidor sobre los transgénicos y los beneficios que estos pueden tener eliminando los datos falsos que se han presentado sobre estos.

Se espera una mayor implementación en México debido a que aún no se maneja muy bien la técnica y no hay muchas instituciones que apoyen el realizar y el uso de los transgénicos por el poco conocimiento que se tienen sobre estos.





BIBLIOGRAFÍA

- Barton K. A., et al. (1983) Regeneration of intact tobacco plants containing full length copies of genetically engineered T-DNA, and transmission of T-DNA to R1 progeny. *Cell*, Cambridge, v.32, n.4, p.1033-1043.
- Braun A. (1958) A physiological basis for autonomous growth of the crown-gall tumor cell. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Washington, v.44, n.4, p.344-349
- Brenner, S., *The genetics of Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 1974. 77(1): p. 7194.
- Castro, F. (1999). Transgénesis en mamíferos de granja. Estado de la técnica y problemática actual. *Biotecnología aplicada*;16(Número especial):E15-E21.
- De Groef, B., Grommen, S. V. H., & Darras, V. M. (2008). The chicken embryo as a model for developmental endocrinology: Development of the thyrotropic, corticotropic, and somatotropic axes. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 293(1-2), 17-24. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2008.06.002>
- D.,... & Pliego-Alfaro, F. (2011). Transformación vía *Agrobacterium tumefaciens* para inducir tolerancia a la podredumbre blanca del aguacate.
- Frøkjær-Jensen, C., Davis, M. W., Ailion, M., & Jorgensen, E. M. (2012). Improved Mos1-mediated transgénesis in *C. elegans*. *Nature methods*, 9(2), 117.
- Gordon J., et al. (1980) Genetic transformation of mouse embryos by microinjection of purified DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Washington, v.77, n.12, p.7380-7384.
- Haibo, W., Yongsheng, W., Yan, Z., Mingqi, Y., Jiaying, L., Jun, L., & Yong, Z. (marzo de 2015). TALE nickase-mediated SP110 knockin endows cattle with increased resistance to tuberculosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, E1530-E1539. doi:10.1073/pnas.1421587112
- Hanahan D., Wagner F., Palmiter D. (2007) The origins of oncomice: a history of the first transgénic mice genetically engineered to develop cancer. *Genes and Development*, New York, v.21, n.18, p.2258-2270.
- He Z, Lu R, Zhang T, Jiang L, Zhou M, Wu D, et al. (2018) A novel recombinant human plasminogen activator: Efficient expression and hereditary stability in transgénic goats and in vitro thrombolytic bioactivity in the milk of transgénic goats. *PLoS ONE* 13(8): e0201788. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201788>
- Ivarie, R. (2003). *Avian transgénesis: Progress towards the promise*. *Trends in Biotechnology*, 21(1), 14-19. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(02\)00009-4](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(02)00009-4)
- James, C. 2007. *Global review of commercialised transgénic crops: 2007*. *International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Application Briefs*, No 37. Ithaca, New York.
- Kantor, Mihail, Sestras, Radu y Chowdhury, Kamal. (2013). *Plantas de tomate transgénicas que expresan el gen del antígeno PfCP-2.9 de Plasmodium falciparum*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48 (1), 73-79. <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2013000100010>
- Kawahigashi, H., Hirose, S., Ohkawa, H., & Ohkawa, Y. (2007). Herbicide resistance of transgénic rice plants expressing human CYP1A1. *Biotechnology Advances*, 25(1), 75-84. doi: 10.1016/j.biotechadv.2006.10.002
- Kerr, D. E., Plaut, K., Bramley, A. J., Williamson, C. M., Lax, A. J., Moore, K.,... & Wall, R. J. (2001). Lysostaphin expression in mammary glands confers protection against staphylococcal infection in transgénic mice. *Nature biotechnology*, 19(1), 66.
- Kishchenko E.M. et al. (2004). *Production of transgénic sugarbeet (Beta vulgaris L.) plants resistant to phosphinothricin*. *Institute of Cell Biology & Genetic Engineering*.
- Kwon, M., Koo, B., Kim, D., Nam, Y., Cui, X., Kim, N., & Kim, T. (2018). Generation of transgénic chickens expressing the human erythropoietin (hEPO) gene in an oviduct-specific manner: Production of transgénic chicken eggs containing human erythropoietin in egg whites. *PLOS ONE*, 13(5).
- Liu, L. S., Zhao, L.Y., Wang, S.H. y Jiang, J.P. (2016). *Actas de investigación sobre organismos modelo anfibios*. *Dong wu xue yan jiu = Investigación zoológica*, 37 (4), 237-245.
- Luo, Y., Wang, Y., Liu, J., Lan, H., Shao, M., & Yu, Y. et al. (2015). Production of transgénic cattle highly expressing human serum albumin in milk by phiC31 integrase-mediated gene delivery. *Transgénic Research*, 24(5), 875-883. doi: 10.1007/s11248-015-9898-0.
- Maga, E.A., Anderson, G.B., and Murray, J.D. (1995). The effect of mammary gland expression of human lysozyme on the properties of milk in transgénic mice. *J. Dairy Sci*; 78: 2645-2652.
- Maga, E., Shoemaker, C., Rowe, J., BonDurant, R., Anderson, G., & Murray, J. (2006). Production and Processing of Milk from Transgénic Goats Expressing Human Lysozyme in the

- Mammary Gland. *Journal Of Dairy Science*, 89(2), 518-524. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(06)72114-2.
- Manzur, M., et.al. (2009). América Latina la transgénesis de un continente. MasGráfica Ltda. Pag. 96
- Missiou A, Kalantidis K, Boutla A, Tzortzakaki S, Tabler M, Tsagris M. Generation of transgénic potato plants highly resistant to potato virus Y (PVY) through RNA silencing. *Molecular Breeding*. 2004;14(2):185-197.
- Morimoto, K., Shimizu, T., Furukawa, K., Morio, H., Kurosawa, H., & Shirasawa, T. (2002). Transgénic Expression of the EXT2 Gene in Developing Chondrocytes Enhances the Synthesis of Heparan Sulfate and Bone Formation in Mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 292(4), 999-1009. doi:10.1006/bbrc.2002.6770.
- Mucci, N.; Mutto, A.; Kaiser, G. (2011). El primer bovino bitransgénico del mundo: RIA. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*: 37(2); pp. 112-117.
- Nykiforuk, C. et. al. (2005). Transgénic expression and recovery of biologically active recombinant human insulin from *Arabidopsis thaliana* seeds. *Plant Biotechnology Journal* Vol. 4, pp. 77-85.
- Otero R, Hernández D, Montes D (2018) Production of Transgénic Bovine Embryos by Microinjection Method of a Lentiviral Vector in Zygotes. *Indian Journal of Science and Technology*, 11(41).
- Ortiz, S. y E. Ezcurra, (2001). *Gaceta Ecológica*, Núm. 60, Instituto Nacional de Ecología, México.
- Palomo Ríos, E., Barceló Muñoz, M., Pliego, C., Blanco Portales, R., Caballero Repullo, J. L., Ruano Rosa,
- Palmiter, R.D., Brinster, R.L., Hammer, R.E., Trumbauer, M.E., Rosenfield, M.G., Birnberg, N.C., and Evans, R.M. (1982). Dramatic growth of mice that develop from eggs microinjected with metallothionein-growth hormone fusion genes. *Nature*, 300: 611-615
- Rahman, M. A., Mak, R., Ayad, H., Smith, A., & Maclean, N. (1998). Expression of a novel piscine growth hormone gene results in growth enhancement in transgénic tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Transgénic research*, 7(5), 357-370
- Rani, S. J., & Usha, R. (2013). Transgénic plants: Types, benefits, public concerns and future. *Journal of pharmacy research*, 6(8), 879-883.
- Revilla, L., Schmidt, C., Zifkoy C. & Raible, F. (2018). Establecimiento de transgénesis en la Demosponge *Suberites domuncula*. *Genetics*, Vol. 210 (2), Pp 435-443.
- Rieckher M., Kourtis N., Pasparakis A., Tavernarakis N. (2009) Transgénesis in *Caenorhabditis elegans*. In: Cartwright E. (eds) *Transgénesis Techniques. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)*, vol 561. Humana Press.
- Ryota Suganuma, Pawel Pelczar, Jean François Spetz, Barbara Hohn, Ryuzo Yanagimachi, Stefan Moisyadi (2005). Tn5 Transposase-Mediated Mouse Transgénesis, *Biology of Reproduction*, Volume 73, Issue 6, Pages 1157-1163, <https://doi.org/10.1095/biolreprod.105.044669>.
- Salter D. W., Smith E. J., Hughes S. H., Wright S. E., Crittenden L. B. (1987). Transgénic chickens: insertion of retroviral genes into the chicken germ line. *Virology* 157, 236-240.
- Salter, D. W., & Crittenden, L. B. (1989). Artificial insertion of a dominant gene for resistance to avian leukosis virus into the germ line of the chicken. *Theoretical and Applied Genetics*, 77(4), 457-461. <https://doi.org/10.1007/BF00274263>.
- Scott, B., Velho, T., Sim, S., & Lois, C. (2010). Applications of Avian Transgénesis. *ILAR Journal*, 51(4), 353-361.
- Sid, H., & Schusser, B. (2018). Applications of Gene Editing in Chickens: A New Era Is on the Horizon. *Frontiers In Genetics*, 9.
- Sobko, L. (2015) Development of transgénic *Ambystoma mexicanum* (Axolotl) to study cell fate during development and regeneration. *Technischen Universitat Dresden*. pp. 269-277.
- Sparrow, DB, Latinkic, B., y Mohun, TJ (2000). Un método simplificado de generación de *Xenopus* transgénico. *Investigación de ácidos nucleicos*, 28(4), E12.
- Thompson, A. Clarke, A. Pow, M. Hooper, D. Melton. (1989) Germ line transmission and expression of a corrected HPRT gene produced by gene targeting in embryonic stem cells. *Cell* 56:313-21.
- Wall, R. Powell, A. Paape, M. Kerr, D. Bannerman, D. Pursel, V. & Hawk, H (2005). Genetically enhanced cows resist intramammary *Staphylococcus aureus* infection. *Nature biotechnology*, 23(4), 445.
- Wright S. (1986) Recombinant DNA technology and its social transformation, 1972-1982. *Osiris*, Chicago, v.2, p.303-360.
- Yum, Soo-Young et al. (2016). Efficient generation of transgenic cattle using the DNA transposon and their analysis by next-generation sequencing. *Scientific Reports* volume 6, Article number: 27185.
- Zhang, H. X., & Blumwald, E. (2001). Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit. *Nature biotechnology*, 19(8), 765.

