

ANIMALES TRANSGÉNICOS PARA PRODUCCIÓN DE PROTEÍNAS HUMANAS

Transgenic animals for the production of human proteins

Sánchez, A.*; Gadea, J.

***Autor para correspondencia:** Araceli Sánchez. Email: aracelisandra@gmail.com. Universidad de Murcia. Murcia 30100. España. Tel: 661828835

Historial del artículo:

Recibido: 21 octubre 2014

Aceptado: 2 julio 2015

RESUMEN

Con la aparición en los años ochenta de los animales transgénicos se abrió un amplio e importante campo de estudio, ya que estos animales pueden ser utilizados como modelos de investigación de enfermedades humanas, como donantes de órganos o para producir en ellos proteína de interés. La industria farmacéutica vio, en este último uso de los animales transgénicos, una gran oportunidad para la producción de proteínas humanas a bajo coste. Este método presentaba numerosas ventajas frente a los anteriores métodos de producción de proteínas. A diferencia de las proteínas producidas en hongos, bacterias y plantas, las proteínas producidas en animales transgénicos sufren modificaciones postraduccionales completas y son totalmente activas. Además la obtención de dichas proteínas conllevaría muy bajo coste una vez producido el animal transgénico, a diferencia del elevado coste de la producción en cultivos de celulares a gran escala. Pese a estas ventajas, problemas éticos del uso de animales, así como posibles consecuencias para la salud humana, han hecho que desde hace algunos años la investigación en estos animales para producir en ellos proteínas haya disminuido considerablemente. En este artículo se hace una revisión de los diferentes métodos de producción tanto de proteínas como de animales transgénicos. Nos centraremos finalmente en la producción de proteínas en la glándula mamaria, como principal tejido de producción, así como ejemplos de estas proteínas producidas.

Palabras clave: Proteína, recombinante, transgénico, animal y leche.

ABSTRACT

The appearance of transgenic animals in the eighties, opened a wide and important field of study, as these animals can be used as research models of human diseases, as organ donors or to produce protein of interest.

The pharmaceutical industry has seen this as an opportunity to produce human proteins at low cost. It having many advantages in comparison with former methods of protein production. In contrast to what happen in bacteria, fungi and transgenic plants, due to the post-translational modification that takes place in this transgenic animal we get fully active proteins. Also has the advantage of low cost compared with massive production in cell culture. However ethical issues of animal use and potential consequences to human's health have made decrease considerably research in transgenic animals in recent years.

In this work we make a review of the different methods of producing of both protein and transgenic animals. We finally focus on the production of proteins in the mammary gland tissue (as most used method for obtaining transgenic proteins) and examples of transgenic proteins produced.

Keywords: Proteins, recombinant, transgenic, animals and milk.

INTRODUCCIÓN

En la década de los 80s (Gordon et al. 1980) se consigue obtener por primera vez ratones de gran tamaño, gracias a que se introdujo y expresó en ellos el gen de la hormona del crecimiento de rata. Con este hecho se demostraba que un gen puede transferirse de una especie a otra, integrarse en su genoma, ser funcional y transmitirse a la descendencia. Éste fue un paso decisivo en la investigación de los animales transgénicos, que son aquellos animales modificados genéticamente a los cuales se les ha introducido un gen o grupo de genes que no le pertenecen (transgén), con el fin de modificar alguna característica del animal.

Desde la aparición de estos primeros animales transgénicos han sido muchas las investigaciones y avances que se han hecho en este campo (Dyck et al. 2003). El interés que despertaron los animales transgénicos se debe principalmente a que pueden ser usados con fines terapéuticos, ya que pueden servir para la investigación en el tratamiento de enfermedades, para generar medicamentos de manera endógena o incluso como donantes de órganos. En este artículo nos vamos centrar en el uso de los animales transgénicos para la generación de proteínas recombinantes de interés terapéutico. Las proteínas recombinantes son todas aquellas proteínas obtenidas en una especie o línea celular distinta a la original, que en nuestro caso van a ser usadas para el tratamiento de enfermedades, pero que pueden tener diferentes usos.

El uso de animales en la industria farmacéutica comienza ya en los años 20, cuando se describe la obtención de un extracto de insulina obtenida del páncreas del cerdo (Bersch et al. 1982). En estos casos, la proteína utilizada era la del propio cerdo, pero gracias a la generación de los transgénicos, los animales serían capaces de producir proteínas humanas complejas con actividad biológica de manera eficiente y rentable. Este posible uso ha llevado a la evolución de lo que se conoce como “pharming”, que es un juego de palabras entre las palabras inglesas farm (granja) y pharm (farmacia). Por lo tanto, el “pharming” es la utilización de animales de granja para la producción de proteínas humana que pueden ayudar en el tratamiento de ciertas enfermedades (Dyck et al. 2003).

El objetivo de este artículo es hacer una revisión del uso de estos animales transgénicos para obtener de ellos una proteína recombinante de interés terapéutico. Para ellos vamos a hacer una revisión de los diferentes métodos de producción tanto de proteínas como de animales transgénicos. Nos centraremos finalmente en la producción de proteínas en la glándula mamaria, como principal tejido de producción, así como ejemplos de estas proteínas producidas.

SISTEMAS DE OBTENCIÓN DE PROTEÍNAS DE INTERÉS TERAPEUTICO

Actualmente un gran número de proteínas recombinantes humanas son usadas con éxito como tratamiento para diferentes enfermeda-

des, aunque la mayoría de ellas se obtienen por otros métodos que no implica en uso de animales transgénicos (Zhu, 2012). Hasta el momento la Food and Drug Administration (FDA) ha aprobado más de 100 de estas proteínas para su uso terapéutico (Zhu, 2012) convirtiendo a este en unos de los sectores más importantes de la industria farmacéutica. Gracias a la comercialización de estos medicamentos la industria farmacéutica registra unas ventas globales de 120 billones de dólares al año (Zhu, 2012). De estas proteínas producidas, las más importantes y por tanto de las que la industria consigue mayores beneficios son los anticuerpos monoclonales, seguidas de hormonas y factores de crecimiento (Aggarwal, 2012). Otros ejemplos de proteínas producidas son: proteínas de fusión, citoquinas, enzimas terapéuticas, vacunas recombinantes y anticoagulantes (Aggarwal, 2012).

Para producir estas proteínas se cuenta con diversos sistemas y metodologías. A continuación vamos a hacer un resumen de las diferentes plataformas que existen actualmente para la producción de proteínas, haciendo hincapié en las ventajas y limitaciones que cada sistema ofrece. Esta información se ve reflejada en la Tabla 1 (Golovkin, 2011).

Sistemas de producción de proteínas en bacterias, hongos y levaduras

En 1970 se realizaron los primeros experimentos basados en la modificación de *Escherichia Coli*, lo que permitió producir insulina que se convertiría en el primer fármaco comercializado de origen recombinante (Bersch et al. 1982). Bacterias, hongos y levaduras se presentan como buenos sistemas para la producción de proteínas; ya que por una parte tienen un bajo coste tanto de producción como de mantenimiento y por otra los ciclos de reproducción son rápidos, por lo que tendrá una alta productividad (Berlec y Strukelj, 2013).

Igualmente estos sistemas de producción tiene asociados una serie de limitaciones. La limitación más importante que presentan las bacterias es la incapacidad que tienen para llevar a cabo modificaciones postraduccionales. Por lo tanto, las bacterias tienen una limitada capacidad de producir proteínas complejas que necesitan sufrir mayores modificaciones postraduccionales como plegamientos, carboxilación, glicosilación, unión de subunidades, etc. (Houbine, 2009). Por otro lado, en el caso de los hongos y las levaduras, aunque sí son capaces

Tabla 1. Comparación de los diferentes sistemas actuales de producción de proteínas recombinantes humana para la industria farmacéutica (Golovkin, 2011).

Sistema	Coste	Tiempo producción	Capacidad de producción	Glicosilación	Riesgo de contaminación
Bacterias	Bajo	Corto	Baja	Ninguna	Endotoxinas
Levaduras	Medio	Medio	Media	Incorrecta	Bajo riesgo
Cultivo células mamífero	Alto	Largo	Muy alta	Correcta	Virus, priones y ADN oncogénico
Plantas transgénicas	Muy bajo	Corto	Alta	Pocas diferencias	Bajo riesgo
Animales transgénicos	Alto	Muy largo	Muy alta	Correcta	Virus, priones y ADN oncogénico

de producir modificaciones postraduccionales, la mayoría de las proteínas que de ellos se obtienen son proteínas no funcionales (Dyck et al. 2003). Aún así, estas técnicas se siguen usando actualmente para la producción de algunas proteínas (Tabla 2).

Sistemas de producción de proteínas en plantas

La producción de plantas transgénicas es otro método útil para la obtención de proteínas. Este método resuelve, en parte, las limitaciones de las bacterias. Las plantas son capaces de plegar las proteínas, unir subunidades y adherir carbohidratos a las cadenas polipeptídicas (Golovkin, 2011). Por otro lado, las limitaciones principales que presenta este sistema son que dicha adición de carbohidratos a la cadena

polipeptídica no es llevada a cabo del mismo modo que en células animales y que las proteínas sintetizadas en plantas contienen xilosa, lo que puede producir una respuesta inmune y daños en el paciente (Golovkin, 2011). Algunas de las proteínas recombinantes actualmente comercializadas producidas en plantas se reflejan en la Tabla 3.

Sistemas de producción de proteínas en células animales

Todas estas limitaciones, que presentan los sistemas anteriores, puede solucionarse utilizando células de mamífero, ya que permiten un correcto plegamiento y una correcta glicosilación de las proteínas humanas. Por lo tanto, las proteínas obtenidas de este modo son de

Tabla 2. Ejemplos de proteínas utilizadas con fines terapéuticos obtenidas mediante el uso de bacterias y levaduras que son comercializadas actualmente (Berlec y Strukelj, 2013).

Nombre comercial	Proteína recombinante	Sistema expresión	Indicaciones
Krytexxa	Pegloticase (Enzima urato oxidasa)	<i>E. coli</i>	Gota crónica
Liraglutide	Victoza (análogo GLP-1)	Levadura	Diabetes
Xiaflex	Enzima colagenasa	<i>Clostridium histolyticum</i>	Enfermedad de Dupuytren
Nplate	Romiplostim (Trombopoyetina)	<i>E. coli</i>	Trombocitopenia inmune púrpura

Tabla 3. Ejemplos de proteínas utilizadas con fines terapéuticos obtenidas mediante el uso de plantas que son comercializadas actualmente (Raskin et al., 2002).

Proteína recombinante	Tipo proteína	Especie
Albimumina sérica humana	Proteína sanguínea	<i>Solanum tuberosum</i>
Factor de crecimiento epidérmico	Proteína de crecimiento	<i>Nicotiana tabacum</i>
Interleucina-12	Citoquina	<i>Nicotiana tabacum</i>
Factor intrínseco humano	Terapéutico oral	<i>Nicotiana tabacum</i>

mayor calidad que las producidas en bacterias, hongos y plantas, y es por ello que es el sistema de producción de proteínas con fines terapéuticos más utilizado actualmente. En la actualidad aproximadamente el 65% de proteínas terapéuticas que se producen, que son principalmente anticuerpos monoclonales, provienen de cultivos celulares (Li et al. 2010). La mayoría de ellos se producen en dos líneas celulares principalmente: células de tejido de ovario de hámster chino (CHO) y línea celular de mieloma de ratón (NSO) (Baldi et al. 2007; Chu y Robinson, 2001) (Tabla 4). La gran limitación que presenta la aplicación de esta técnica es el elevado coste de la misma, que está asociado al mantenimiento de los fermentadores a gran escala para la producción de estas células, lo que conlleva el encarecimiento del precio final de la proteína (Baldi et al. 2007).

Una alternativa de estos cultivos de células de mamífero, son los cultivos celulares de insecto, generalmente de lepidópteros (Drugmand et al. 2012). En este cultivo se pueden obtener proteínas funcionales equivalentes a las naturales y con menores costes que en células de

mamífero. La producción de proteínas a gran escala tiene menores costes ya que se ha conseguido realizar cultivos de células de insectos de manera muy eficiente, en medios de cultivos poco suplementados (Drugmand et al. 2012).

Sistema de producción de proteínas en animales transgénicos

Por último, la modificación de animales para poder obtener de ellos directamente proteínas humanas fue el último de los modelos para obtención de proteínas que se desarrolló (Dyck et al. 2003).

La importancia que tuvo desde su descubrimiento se basa en las dos ventajas esenciales que tiene ante los métodos expuestos anteriormente. Por una parte, la proteína obtenida tiene mayor actividad, ya que llevan a cabo todas las modificaciones postraduccionales, y por otra, el bajo coste al que se producirían una vez obtenido el animal transgénico (Robl et al. 2007).

Aunque esta técnica, como todas las anteriores, también presenta algunas limitaciones. Una gran limitación es la obtención del animal

Tabla 4. Algunos ejemplos de proteínas recombinantes humanas obtenidas mediante la utilización de cultivo de células de mamíferos (Chu y Robinson, 2001).

Nombre comercial	Proteína recombinante	Sistema expresión	Indicaciones
TNKase	Tenecteplasa (Activador tisular del plaminógeno)	CHO	Reducción de la mortalidad asociada al infarto de miocardio
Re Facto	Factor antihemofílico	CHO	Control de episodios hemorrágicos
NovoSeven	Factor de coagulación VIIa	BHK	Tratamiento para pacientes con hemofilia A o B
Enbrel	Etanercept (inhibidor del factor de crecimiento tumoral)	CHO	Tratamiento para artritis reumatoide
Herceptin	Trastuzumab (anticuerpo monoclonal)	CHO	Tratamientos en cáncer de mama metastásicos
Rituxan	Rituximab (anticuerpo monoclonal)	CHO	Tratamiento en linfomas no Hodgkin

transgénico en sí, ya que es un proceso complicado y poco eficiente (Robl et al. 2007). Hay que conseguir que el animal produzca la proteína conservando su propia integridad. Por lo tanto, en este sistema lo más costoso es la obtención del animal transgénico, pero una vez obtenido se puede conseguir descendencia transgénica mediante la reproducción normal de los animales. Por otra parte, el mayor problema al que se enfrenta esta forma de producción de proteínas son los problemas éticos (De Montera, 2003) y legales que presentan la manipulación genética de animales, así como los posibles efectos adversos que puedan producir en las personas la utilización de estos productos, como por ejemplo, la transmisión de enfermedades. Estas limitaciones, entre otras, han sido la causa de que solo dos proteínas generadas en animales transgénicos (se verán a continuación) estén siendo comercializadas actualmente, lo que no cubre las expectativas que se produjeron al principio con la aparición de este tipo de animales.

PRODUCCIÓN DEL ANIMAL TRANSGÉNICO

El primer animal de granja transgénico fue obtenido en 1985 mediante microinyección del fragmento de ADN en el pronúcleo del cigoto fecundado (Hammer et al. 1985). En sus comienzos, esta técnica presentaba muchas limitaciones como son la integración al azar de la secuencia introducida por todo el genoma, baja eficacia y frecuente incidencia de mosaicismo. Todas estas limitaciones hacían de la microinyección un proceso ineficiente y costoso (eficiencia <1%), impidiendo su uso tanto para la investigación como para uso industrial (Liu et al. 2013). Por lo tanto, las investigaciones en los años posteriores se basaron en la mejora de la eficiencia de la microinyección, así como en la generación de métodos alternativos que mejoren la producción de animales transgénicos (Houdebine, 2002).

Los sistemas de transferencia de ADN que se utilizan actualmente tienen una mayor eficiencia, reduciendo el coste asociado a la producción de estos animales (Houdebine, 2002). Estas técnicas nos permiten introducir el transgén en sitios conocidos del genoma, disminuyendo así tanto el peligro de la aparición de mutaciones como la interacción con genes endógenos (Robl et al. 2007). Algunas de estas técnicas alternativas de transferencia de ADN son, entre otras: inyección de ADN mediada por espermatozoide (Chang et al. 2002; Lavitrano et al. 1989), inyección o infección de los ovocitos o embriones con vectores virales (Jaenisch y Mintz, 1974; Chan et al. 1998) y la transferencia nuclear (Robl et al. 2007). De estas técnicas, es la transferencia nuclear la más utilizada actualmente, por su mayor eficacia en la mayoría de las especies.

PRODUCCIÓN DE PROTEÍNAS EN ANIMALES TRANSGÉNICOS

A la hora de generar un animal transgénico para obtener de él una proteína deberemos definir la especie animal y el tejido en el que queremos que se exprese la proteína.

Tejido de producción

Gracias a la construcción de estructuras con expresión específica, podemos hacer que la proteína se exprese en diferentes tejidos del animal transgénico (Houdebine, 2002). Lo más fácil, para la posterior obtención y purificación de la proteína, es que dicha proteína se obtenga en un fluido al que se tenga fácil acceso sin dañar al animal. Por lo tanto, en la mayoría de los animales transgénicos la expresión se produce en fluidos corporales como orina, plasma seminal, leche o sangre. También se han obtenido muchas proteínas en huevos de aves transgénicas, ya que la clara es una sustancia rica en proteínas y fácilmente extraíble (Song y Han, 2011). De todos los

fluidos anteriormente citados la leche es, con mucha diferencia, el más utilizado para la obtención de proteínas. Ya a mediados de los 80 se sugirió la leche como el mejor sistema de producción de proteínas recombinantes a escala industrial, ya que la glándula mamaria tiene la capacidad de producir proteínas complejas, con gran eficiencia y rentabilidad (Houdebine, 2009). Esta glándula presenta también una gran accesibilidad a las proteínas expresadas y un potencial para incrementar la producción de leche, y con ella la de la proteína, mediante la cría animal. La leche, en sí misma, contiene gran cantidad de proteínas, siendo la mayoría de ellas únicamente sintetizadas en la glándula mamaria y codificadas por genes de copia única que se expresan solo durante la gestación y lactación (Houdebine, 1995). La primera prueba experimental se consiguió en 1987 cuando se obtuvo activador tisular del plasminógeno humano (tPA) y β -lactoglobulina ovina en leche de ratón. (Pittius et al. 1988). Desde entonces, se han llevado a cabo grandes esfuerzos para desarrollar, como biorreactores transgénicos, las especies tradicionalmente lecheras como son: vaca, cabra y oveja (Jänney et al. 1992). Para la obtención de las proteínas en la leche tienen que usarse promotores de genes que tengan expresión exclusiva en la glándula mamaria, como son los promotores β -lactoglobulina (oveja), β -caseína (cabra) y α -s1 caseína (vaca) (Houdebine, 1995).

Pero la producción de proteínas en la glándula mamaria también tiene una serie de limitaciones. Por una parte encontramos las limitaciones productivas, ya que hay un largo intervalo de tiempo desde el nacimiento hasta la primera lactancia y a partir de ella se producirá un ciclo de lactación que no es continuo. La solución sería la utilización de animales con intervalos generacionales cortos como el cerdo y el conejo, pero estas especies presentan, en general, una baja tasa de rendimiento productivo (Houdebine, 1995). Por otra parte, encontramos que la elevada concentración de

proteínas en la leche compete con la producción de las proteínas recombinantes, lo que a su vez, complica la purificación de las proteínas de interés (Wang et al. 2013). El objetivo, para contrarrestar este efecto, es reducir el contenido de las principales proteínas de la leche, silenciado su producción, y favoreciendo así la producción de las proteínas transgénicas de interés (Kues y Niemann, 2011). Otro problema sería la toxicidad para el propio animal, ya que algunas proteínas producidas en una elevada concentración pueden ser reabsorbidas a la sangre produciendo interferencia con la propia salud del animal.

Una vez establecida la glándula mamaria como tejido de elección para la producción de las proteínas, vamos a resumir las características más importantes a tener en cuenta a la hora de elegir la especie animal de la cual queremos obtener leche con la proteína de elección.

Especie de producción

La especie animal que hagamos transgénica para obtener de ella una proteína, va a influir en la formación de dicha proteína, por ellos habrá que tener en cuenta diferentes factores a la hora de elegir la especie (Jänne et al. 1992). Por una parte, tendremos que tener en cuenta las características reproductivas de la especie (momento de la pubertad, periodo de gestación, tamaño de la camada), y por otro la cantidad de leche que produce así como la cantidad de proteína en leche (Niemann y Kues, 2007). Las características reproductivas y de producción de leche de las principales especies se encuentran resumidas en la Tabla 5 (Ziomek, 1998).

El conejo es una de las especies que mayores ventajas presenta dado que posee un corto intervalo reproductivo y su leche contiene un alto porcentaje de proteína (un 14%, comparado con el 5% de la leche de vaca), llegando a producir cada coneja lactante unos 170-220 g de leche al día (10kg leche al año) (Fan y Watanabe, 2003). Es un animal cuyo manteni-

Tabla 5. Comparación tanto de los intervalos reproductivos como la producción de leche de diferentes especies (Ziomek, 1998).

Especie	Meses de gestación	Meses maduración*	Litros leche por lactancia
Conejo	1	5-6	1-1.5
Cerdo	4	7-8	200-400
Oveja	5	6-8	200-400
Cabra	5	6-8	600-800
Vaca	9	15	8000

* Meses de maduración: tiempo que transcurren desde el nacimiento del animal hasta que este alcanza la madurez sexual.

miento resulta económico, que se puede criar en un ambiente higiénico y que no transmite enfermedades graves a los humanos (Fan y Watanabe, 2003).

Por su parte, el cerdo también presenta un periodo reproductivo relativamente corto, con 4 meses de gestación, y una mayor producción de leche que los conejos. Los problemas que presenta esta especie son unos mayores costes de producción del animal transgénico y de mantenimiento del mismo. Los rumiantes serían potencialmente la especie más apropiada al ser tradicionalmente especies lecheras y producir gran cantidad de proteínas. Por ejemplo la vaca produce unos 8000 litros de leche por lactancia, pero su tiempo de gestación es largo (9 meses), presenta una glicosilación de las proteínas no tan eficiente como conejos y cerdos y una posible transmisión de enfermedades a humanos, como es el caso de los priones que producen la enfermedad de las vacas locas (Houdebine, 1995).

Proteínas producidas en animales transgénicos

Aunque al comienzo del desarrollo de la técnica parecía que iba producir una gran revolución en la industria farmacéutica y aunque más de 100 proteínas han sido producidas en leche de forma experimental, actualmente solo dos proteínas han sido aprobadas para su utilización en humanos (Wang et al. 2013). Al-

gunos ejemplos de proteínas con posible valor terapéutico que se han obtenido de animales transgénicos pero estos aún no están comercializados se observan en la Tabla 6. El hecho de que solo dos de las proteínas obtenidas hayan llegado a comercializarse ha provocado que la investigación en este tipo de fármacos no resulte rentable. Esto se debe a que la generación de estos animales conlleva un proceso largo y costoso y muy pocos de ellos consiguen ser comercializados finalmente.

Las proteínas actualmente comercializadas son: la antitrombina III aprobada por la agencia europea del medicamento (EMEA) en 2006 y por la Food and Drug Administration (FDA) en 2009 (Adiguzely et al. 2009), y el inhibidor de la esterasa C1 (INH C1) (Choi et al. 2007); aprobada por la EMEA en Octubre del 2010.

La antitrombina III humana se produce en la leche de cabra transgénica obtenida mediante transferencia nuclear (Yeung, 2000). Esta proteína se utiliza como tratamiento de profilaxis de trombo embolismo venosos en pacientes con deficiencia congénita de antitrombina sometidos a cirugía (Salas y Miyares, 2013). Es la primera proteína recombinante en animales transgénicos que se comercializó.

El inhibidor humano de la esterasa C1 (C1INH) se obtiene de la leche de los conejos transgénicos (Choi et al. 2007). Esta proteína sirve como tratamiento para la deficiencia

Tabla 6. Proteínas obtenidas de diferentes especies de animales transgénicos y que son útiles para el tratamiento de diferentes enfermedades pero que no están siendo comercializadas en la actualidad.

Especie animal	Proteína	Tratamiento	Bibliografía
Conejo	α _Glucosilasa	Enfermedad de Pompe	(Jongen <i>et al.</i> , 2007)
Cabra	Activador del plasminógeno tisular	Coágulos coronarios	(Shen <i>et al.</i> , 2007)
Cerdo	Factor VIII humano	Hemofilia	(Lee <i>et al.</i> , 2009)
	Proteína C	Prevención de trombos	(Van Cott <i>et al.</i> , 2001)
Oveja	α 1_ antitripsina	Fibrosis quística	(Wright <i>et al.</i> , 1991)
	Factor de coagulación IX	Hemofilia	(Schnieke <i>et al.</i> , 1997)
Vaca	Hormona humana del crecimiento	Enanismo	(Salamone <i>et al.</i> , 2006)

congénita del factor C1INH que produce el angioedema hereditario (HAE) (Reshef *et al.* 2008). El inhibidor de la esterasa C1 es una proteína natural del cuerpo que regula rutas inflamatorias, y su deficiencia produce angioedema que se caracteriza por una inflamación aguda de los tejidos blandos. El Ruconest, que es el nombre comercial de este medicamento, fue aprobado en Octubre del 2010 para su uso en ataques agudos de la enfermedad para pacientes con HAE en UE además de Noruega, Islandia y Liechtenstein. Ha finalizado la fase II de ensayos clínicos (septiembre 2012) para su aprobación en USA.

Las proteínas recombinantes obtenidas, además de actuar como fármacos para diferentes enfermedades, también pueden tener diferentes funciones. Un ejemplo serían aquellas proteínas que son beneficiosas para la salud al tener, por ejemplo, efectos antibacterianos, antifúngicos, antivirales, como es el caso de la lactoferrina

y lisozima (Liu *et al.* 2013). Y otro ejemplo son proteínas con interés industrial, como es el caso de la producción de la proteína de seda de araña en la leche de cabras transgénicas, que si se comercializa actualmente; BIOSTEEL. Se aplica para la obtención de fibras ligeras y muy resistentes para componentes militares y espaciales. También podría tener posibles aplicaciones médicas como: formación de tendones y ligamentos artificiales, suturas en los ojos y neurocirugía (Williams, 2003).

CONCLUSIÓN

En un principio los animales transgénicos se presentaban como un gran modelo para producir proteínas de uso terapéutico, ya que superaba las limitaciones que presentaban los sistemas existentes para la producción de dichas proteínas. A pesar de ello, actualmente solo 2 de las más de 100 proteínas recombinantes que

se comercializan proceden de animales transgénicos, lo que ha hecho que no sea rentable la investigación de animales transgénicos para esta finalidad. Esto se debe a que la generación del animales transgénico conlleva un proceso largo y costoso y muy pocos de ellos consiguen ser comercializados finalmente. Puede que en un futuro cuando desaparezcan los prejuicios asociados a la utilización de animales transgénicos podamos aprovecharnos de esta gran tecnología. Esta nos permitiría adquirir tratamiento para enfermedades que actualmente no lo tienen o conseguir proteínas a unos precios mucho más asequibles que los actuales.

AGRADECIMIENTOS

Agradecer sobretudo al Dr. Joaquín Gadeo Mateos, profesor de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia por su apoyo, correcciones y ánimos para poder publicar este trabajo. Y finalmente a todas las personas que me apoyan siempre.

BIBLIOGRAFÍA

- ADIGUZEL C., ADIGUZEL C., IQBAL O., DEMIR M., FAREED J. 2009. European community and US-FDA approval of recombinant human antithrombin produced in genetically altered goats. *Clin Appl Thromb Hemost* 15:645-51.
- AGGARWAL, S. R. 2012. What's fueling the biotech engine-2011 to 2012. *Nat Biotechnol*.30:1191-7.
- BALDI L., HACKER DL., ADAM M., WURM FM. 2007. Recombinant protein production by large-scale transient gene expression in mammalian cells: state of the art and future perspectives. *Biotechnol Lett*.29:677-84.
- BERLECA., STRUKELJ B. 2013. Current state and recent advances in biopharmaceutical production in *Escherichia coli*, yeasts and mammalian cells. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 40:257-74.
- BERSCH N., GROOPMAN J. E., GOLDE D. W. 1982. Natural and biosynthetic insulin stimulates the growth of human erythroid progenitors in vitro. *J Clin Endocrinol Metab*.55:1209-11.
- CHAN A. W., HOMAN E. J., BALLOU L. U., BURNS J. C., BREMEL R.D. 1998. Transgenic cattle produced by reverse-transcribed gene transfer in oocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*.95:14028-33.
- CHANG K., QIAN J., JIANG M., LIU Y. H., WU M. C., CHEN C. D. 2002. Effective generation of transgenic pigs and mice by linker based sperm-mediated gene transfer. *BMC Biotechnol*.2:5.
- CHOI G., SOETERS M. R., FARKAS H., VARGA L., OBTULOWICZ K., BILO B. 2007. Recombinant human C1-inhibitor in the treatment of acute angioedema attacks. *Transfusion*.47:1028-32.
- CHU L., ROBINSON D. K. 2001. Industrial choices for protein production by large-scale cell culture. *Curr Opin Biotechnol*. 12:180-7.
- DE MONTERA B. 2003. Genomics and ethics: the case of cloned and/or transgenic animals. *Comp Funct Genomics*.4:26-30.
- DRUGMAND J. C., SCHNEIDER Y. J., AGATHOS S. N. 2012. Insect cells as factories for biomanufacturing. *Biotechnol Adv*.30:1140-57.
- DYCK M. K., LACROIX D., POTHIER F., SIRARD M. A. 2003. Making recombinant proteins in animals--different systems, different applications. *Trends Biotechnol*.21:394-9.
- FAN J., WATANABE T. 2003. Transgenic rabbits as therapeutic protein bioreactors and human disease models. *Pharmacol Ther*.99:261-82.
- GOLOVKIN M. 2011. Plant biotechnology for production of recombinant pharmaceuticals. *Hum Vaccin*.7:303-4.
- GORDON J. W., SCANGOS G. A., PLOTKIN D. J., BARBOSA J. A., RUDDLE F. H.1980. Genetic transformation of mou-

- se embryos by microinjection of purified DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*.77:7380-4.
- HAMMER R. E., PURSEL V. G., REXROAD C. E., WALL R. J., BOLT D. J., EBERT K. M. 1985. Production of transgenic rabbits, sheep and pigs by microinjection. *Nature*.315:680-3.
- HOUEBINE L. M. 1995. The production of pharmaceutical proteins from the milk of transgenic animals. *Reprod Nutr Dev*.32:107-21.
- HOUEBINE L. M. 2002. The methods to generate transgenic animals and to control transgene expression. *J Biotechnol*.98:145-60.
- HOUEBINE L. M. 2009. Production of pharmaceutical proteins by transgenic animals. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*.35:609-17.
- JAENISCH R., MINTZ B. 1947. Simian virus 40 DNA sequences in DNA of healthy adult mice derived from preimplantation blastocysts injected with viral DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 71:1250-4.
- JONGEN S. P., GERWIG G. J., LEEFLANG B. R., KOLES K., MANNESSE M. L., VAN BERKEL P. H. 2007. N-glycans of recombinant human acid alpha-glucosidase expressed in the milk of transgenic rabbits. *Glycobiology*.17:600-19.
- JÄNNE J., HYTTINEN J. M., PEURA T., TOLVANEN M., ALHONEN L., HALMEKYTÖ M. 1992. Transgenic animals as bioproducers of therapeutic proteins. *Ann Med*.24:273-80.
- KUES W. A., NIEMANN H. 2011. Advances in farm animal transgenesis. *Prev Vet Med*.102:146-56.
- LAVITRANO M., CAMAIONI A., FAZIO V. M., DOLCI S., FARACE M. G., SPADAFORA C. 1989. Sperm cells as vectors for introducing foreign DNA into eggs: genetic transformation of mice. *Cell*.57:717-23.
- LEE H. G., LEE H. C., KIM S. W., LEE P., CHUNG H. J., LEE Y. K. Production of recombinant human von Willebrand factor in the milk of transgenic pigs. *J Reprod Dev*.55:484-90.
- LI F., VIJAYASANKARAN N., SHEN A. Y., KISS R., AMANULLAH A. 2010. Cell culture processes for monoclonal antibody production. *MAbs*.2:466-79.
- LIU C., XIE W., GUI C., DU Y. 2013. Pronuclear microinjection and oviduct transfer procedures for transgenic mouse production. *Methods Mol Biol*.1027:217-32.
- LIU C., ZHAI S., ZHANG Q., LIU B. 2013. Immunochromatography detection of human lactoferrin protein in milk from transgenic cattle. *J AOAC Int*. 96:116-20.
- NIEMANN H., KUES W. A. 2007. Transgenic farm animals: an update. *Reprod Fertil Dev*. 19:762-70.
- PITTIUS C. W., HENNIGHAUSEN L., LEE E., WESTPHAL H., NICOLS E., VITALE J. 1988. A milk protein gene promoter directs the expression of human tissue plasminogen activator cDNA to the mammary gland in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*.85:5874-8.
- RASKIN I., RIBNICKY D. M., KOMARNYTSKY S., ILIC N., POULEV A., BORISJUK N. 2002. Plants and human health in the twenty-first century. *Trends Biotechnol*.20:522-31.
- RESHEF A., LEIBOVICH I., GOREN A. 2008. Hereditary angioedema: new hopes for an orphan disease. *Isr Med Assoc J*.10:850-5.
- ROBL J. M., WANG Z., KASINATHAN P., KUROIWA Y. 2007. Transgenic animal production and animal biotechnology. *Theriogenology*.67:127-33.
- SALAMONE D., BARAÑAO L., SANTOS C., BUSSMANN L., ARTUSO J., WERNING C. 2006. High level expression of bioactive recombinant human growth hormone in the milk of a cloned transgenic cow. *J Biotechnol*.124:469-72.
- SALAS C. M., MIYARES M. A. 2013. Antithrombin III Utilization in a Large Teaching Hospital. *P T*.38:764-79.

- SCHNIEKE A. E., KIND A. J., RITCHIE W. A., MYCOCK K., SCOTT A. R., RITCHIE M. 1997. Human factor IX transgenic sheep produced by transfer of nuclei from transfected fetal fibroblasts. *Science*.278:2130-3.
- SHEN W., LAN G., YANG X., LI L., MIN L., YANG Z. 2007. Targeting the exogenous htPAm gene on goat somatic cell beta-casein locus for transgenic goat production. *Mol Reprod Dev*.74:428-34.
- SONG G., HAN J. Y. 2011. Avian biomodels for use as pharmaceutical bioreactors and for studying human diseases. *Ann N Y Acad Sci*.1229:69-75.
- VAN COTT K. E., LUBON H., GWAZDAUSKAS F. C., KNIGHT J., DROHAN W. N., VELANDER WH. 2001. Recombinant human protein C expression in the milk of transgenic pigs and the effect on endogenous milk immunoglobulin and transferrin levels. *Transgenic Res*.10:43-51.
- WANG Y., ZHAO S., BAI L., FAN J., LIU E. 2013. Expression systems and species used for transgenic animal bioreactors. *Biomed Res Int*.2013:580463.
- WILLIAMS D. 2003. Sows' ears, silk purses and goats' milk: new production methods and medical applications for silk. *Med Device Technol*.14:9-11.
- WRIGHT G., CARVER A., COTTOM D., REEVES D., SCOTT A., SIMONS P. 1991. High level expression of active human alpha-1-antitrypsin in the milk of transgenic sheep. *Biotechnology (N Y)*. 9:830-4.
- YEUNG P. K. 2000. Transgenic antithrombin III (Genzyme). *IDrugs*.3:669-73.
- ZHU J. 2012. Mammalian cell protein expression for biopharmaceutical production. *Biotechnol Adv*.30:1158-70.
- ZIOMEK C. A. 1998. Commercialization of proteins produced in the mammary gland. *Theorigenology*. 49:139-44.