
**GENOTIPIFICACIÓN DE RATONES
APO E KNOCK OUT**

**ALEXANDER DÍAZ VERDUGO
LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA**

RESUMEN

Uno de los enfoques de estudio de la enfermedad cardiovascular a sido el uso de animales modificados genéticamente, con el fin de conocer las implicancias de diversos factores genéticos, como un modelo a escala de las patologías que afectan a la fisiología humana. Variadas técnicas se han desarrollado con el fin de corroborar el genotipo de estos animales mediante la genotipificación, para poder ser utilizados así de manera correcta en dichos modelos.

En este estudio se estandarizó la técnica de la PCR, con el propósito de genotipificar una población de 228 ratones de la cepa C57BL/6, alojados en el bioterio de la Universidad de Talca, para su posterior utilización en diversos estudios en torno a la aterosclerosis. Para la obtención del material genético se utilizó los kits de extracción de ADN GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific) y E.Z.N.A.® Tissue DNA Kit (OMEGA bio-tek). Se purificó el mismo a partir de una muestra de la punta de la cola de los ratones, de aproximadamente 0,5 cm, las cuales fueron transportadas en hielo desde el bioterio de la universidad, hasta el laboratorio de inmunología de la Escuela de Tecnología Médica, en donde fueron procesadas, según las recomendaciones de los fabricantes de los kits.

Para la estandarización de la PCR se tomó como base las recomendaciones de Jackson Laboratory, el cual es el proveedor de los animales. Se ajustó a la cantidad de muestra necesaria para la reacción, la temperatura óptima de annealing, obtenida a partir de un gradiente de temperaturas, y la adición de aditivos, específicamente de DMSO, el cual fue fundamental para obtener el patrón de bandas esperado y evitar la aparición de bandas inespecíficas.

Tras estandarizar la técnica, se dividió la población en 5 grupos, con el fin de ser genotipificados en distinto tiempo, obteniéndose 15 ratones de genotipo apoE KO (Knock out) (6,58% de la población), 78 ratones de genotipo heterocigoto (34,21% de la población), 134 ratones Wild type (58,77% de la población) y un ratón del

cual no se obtuvo ninguna banda, inclusive tras la repetición de su genotipificación (0,44% de la población).

Luego de este proceso, se los separó por genotipo en el bioterio, y se dispuso sistemas de cruza en harén, con dos hembras apoE KO y un macho apoE KO y un sistema de pares monogámicos, con una hembra apoE KO y un macho heterocigoto en la misma jaula, y también una hembra heterocigota con un macho heterocigoto.

Tras el estudio, se concluye que la PCR como técnica cumple con todas las características necesarias para instaurarse como método de genotipificación de ratones en la escuela de Tecnología Médica, dada su alta especificidad, confiabilidad y rapidez en la obtención de los resultados. Cabe destacar que el trabajo con los animales, además de metódico, limpio y sumamente ordenado, debe ser humanitario, preservando siempre el cuidado y el bienestar de los animales, para obtener estudios de calidad y excelencia, cumpliendo así los objetivos científicos y éticos de la experimentación.

Palabras clave: genotipificación, apoE KO.