

## MANEJO Y RENDIMIENTO REPRODUCTIVO DE UNA COLONIA DE CERDOS KNOCK OUT PARA EL GEN *TPC2* EN HETEROSIS

Barceló<sup>1</sup>, M.D., Navarro-Serna<sup>1,2</sup>, S., Piñeiro-Silva<sup>1,2</sup>, C., Fernández-Martín<sup>1</sup>, I., Crespo<sup>1,3</sup>, S., Briski<sup>1,4</sup>, O., Parrington<sup>5</sup>, J. y Gadea<sup>1,2\*</sup>, J.

<sup>1</sup>Dept. Fisiología. Universidad de Murcia, Murcia, España. <sup>2</sup>IMIB-Arrixaca, Murcia, España.

<sup>3</sup>CEFU SA. <sup>4</sup>Universidad de Buenos Aires, Argentina. <sup>5</sup>University of Oxford, Reino Unido  
\*jgadea@um.es

### INTRODUCCIÓN

Mediante la edición génica con el empleo de CRISPR-Cas9 fue posible generar cerdos que tienen anulado (Knock out) el gen *TPC2* implicado en la señalización celular de calcio (Navarro-Serna *et al.*, 2021). Para el fenotipado de estos animales es necesario manejar una colonia con animales en heterosis (un alelo mutado, otro alelo normal) que tras su cruce de lugar a animales con los tres genotipos posibles (KO, Heterosis, WT) dentro de la misma camada, reduciendo la variabilidad no asociada al genotipo y favoreciendo la potencia o robustez de las conclusiones, y reduciendo el número de animales necesarios en los estudios. En este estudio analizamos los resultados preliminares del rendimiento reproductivo de esta colonia de cerdos TPC2KO, y evaluamos si existe alguna influencia del genotipo KO en la viabilidad de los lechones al nacimiento, la proporción de hembras en la camada, tasa de crecimiento (pesos y longitud), o en la mortalidad durante la lactación.

### MATERIAL Y MÉTODOS

A partir de los animales fundadores TPC2KO bialélicos (Navarro-Serna *et al.*, 2021) hemos criado y seleccionado 2 machos y 3 hembras en heterosis, que han sido cruzado para obtener un total de 5 camadas durante el año 2022. Los lechones fueron genotipados mediante técnicas de electroforesis capilar a partir de una muestra de cola (Navarro-Serna *et al.*, 2022; Piñeiro-Silva *et al.*, 2023). Los animales fueron evaluados de forma periódica, y se registró el peso y longitud al nacimiento y durante la lactación (28-30 días), la proporción de animales por sexo y la viabilidad de los lechones. Los datos descriptivos se muestran como porcentajes y media  $\pm$  error standard.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Nacieron  $11 \pm 2,38$  lechones totales por camada (rango 8-13), y  $7,6 \pm 3,5$  lechones nacidos vivos. Del total de nacidos hubo una mayor proporción de hembras (68 %), con una proporción del 57,2 % de animales HET, 20,4 % KO y 22,4 % WT, que no difiere de las proporciones esperadas. La proporción de hembras fue diferente para los distintos genotipos (HET 57 %, KO 80 % y WT 36 %), sin que el tamaño muestral permita explorar las posibles causas de estas diferencias. La mortalidad durante el parto y la lactación fue elevada (30 %) y con mayor incidencia en hembras (45 %) que machos (9,5 %), y estando asociada fundamentalmente al genotipo WT (36,3 %), ya que los grupos HET (4,5 %) y KO (0 %) tuvo una incidencia mucho menor. En cuanto a los pesos y longitud de los animales viables se refieren no se encontraron diferencias entre genotipos y sexos al nacimiento ( $1,3 \pm 0,6$  Kg,  $30,8 \pm 2,4$  cm) ni durante la fase de lactación, con valores a los 28-30 días de  $6,9 \pm 1,2$  Kg y  $50,5 \pm 4,2$  cm. Estos datos preliminares sugieren que el genotipo TPC2KO no supone un efecto negativo en la viabilidad del embrión/feto antes del nacimiento, ni para las primeras fases de lactación, como antes fue observado en los animales fundadores KO y WT resultantes de las transferencias de embriones tras el proceso de microinyección con CRISPR-Cas9 (Navarro-Serna *et al.*, 2021) En cualquier caso, es necesario completar la valoración fenotípica de este tipo de animales con nuevas camadas.

### CONCLUSIÓN

La estrategia de cruces de animales con un alelo del gen *TPC2KO* (en heterosis) se muestra como un sistema eficaz para desarrollar estudios de fenotipado en este modelo, aun cuando la eficiencia debe ser mejorada, haciendo hincapié en el cuidado de la paridera y de los primeros días de lactación. El protocolo de actuación desarrollado puede ser aplicado a otros modelos de cerdos editados actualmente en desarrollo.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Navarro-Serna, S. *et al.* 2021. CRISPR J. 4: 132-46
- Navarro-Serna, S. *et al.* 2022. Theriogenology. 186: 175-184.
- Piñeiro-Silva, C. *et al.* 2023. Animals. 13(3): 342.

**Agradecimientos:** Proyectos AES 2019 (DTS19/00061); Fundación Séneca 21666/PDC/21 y 22065/PI/22, MCIN/AEI/10,13039/501100011033/ y PID2020-113366RB-I00