

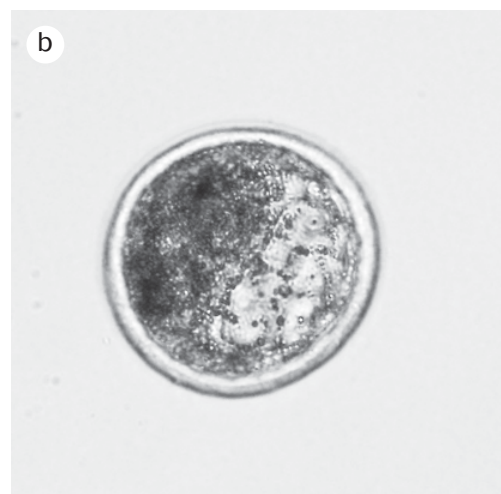
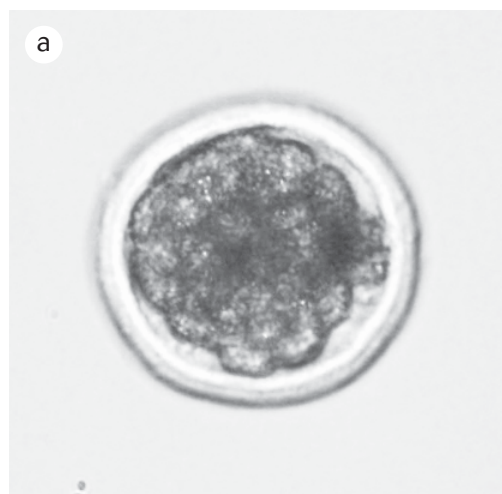
# Determinación no invasiva del sexo de embriones cultivados *in vitro*

- E. GÓMEZ. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA). Centro de Biotecnología Animal. Área de Genética y Reproducción Animal. Camino de Rioseco 1225, 33394-Gijón. Spain.
- M. MUÑOZ. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA). Centro de Biotecnología Animal. Área de Genética y Reproducción Animal. Camino de Rioseco 1225, 33394-Gijón. Spain.
- C. SIMÓ. Foodomics Lab & Metabolomics Platform, CIAL, CSIC, Nicolas Cabrera 9, 28049 Madrid, Spain.
- C. IBÁÑEZ. Foodomics Lab & Metabolomics Platform, CIAL, CSIC, Nicolas Cabrera 9, 28049 Madrid, Spain.
- S. CARROCERA. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA). Centro de Biotecnología Animal. Área de Genética y Reproducción Animal. Camino de Rioseco 1225, 33394-Gijón. Spain.
- D. MARTÍN-GONZÁLEZ. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA). Centro de Biotecnología Animal. Área de Genética y Reproducción Animal. Camino de Rioseco 1225, 33394-Gijón. Spain.
- A. CIFUENTES. Foodomics Lab & Metabolomics Platform, CIAL, CSIC, Nicolas Cabrera 9, 28049 Madrid, Spain.



a) Embrión bovino producido *in vitro* seleccionado en día 6 de desarrollo para cultivo individual.

b) Embrión bovino producido *in vitro* en día 7 de desarrollo tras ser cultivado individualmente durante 24 h.



El uso de embriones producidos *in vitro* permite aumentar la productividad de las explotaciones ganaderas bovinas. La transferencia de estos embriones a hembras receptoras sirve tanto para acelerar la mejora genética, por medio del nacimiento de más crías de alto mérito genético, como para paliar la infertilidad propia de las vacas de alta producción lechera. Y si se selecciona el semen o los propios embriones adecuadamente, se producen crías del sexo deseado, normalmente hembras para producir leche.

La producción e identificación de embriones *in vitro* de un determinado sexo

es posible mediante el uso de semen sexado, o bien a través de una biopsia de una célula del embrión, cuyo ADN es después analizado con técnicas de biología molecular. Sin embargo, los problemas técnicos asociados a la separación de espermatozoides machos y hembras, la disminución del rendimiento de la producción de embriones con semen sexado de ciertos toros, o la complejidad técnica y coste de la biopsia, limitan el nacimiento de crías del sexo deseado en las explotaciones ganaderas.

Recientemente el Servicio de Investigación y Desarrollo Agroalimentario del



Principado de Asturias (SERIDA), en colaboración con el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), han patentado una nueva técnica para diagnosticar el sexo de los embriones bovinos producidos *in vitro* de una forma eficiente y no invasiva antes de su transferencia a hembras receptoras.

La técnica se ha basado en el análisis mediante UHPLC-TOF MS del medio líquido donde se ha desarrollado el embrión durante las últimas 24h de cultivo *in vitro*, justo antes de su transferencia a receptoras o de su criopreservación. El metabolismo de embriones machos y embriones hembras es distinto, lo que a su vez se traduce en diferentes compuestos (metabolitos) presentes en el medio de cultivo en función del sexo de los embriones. La fiabilidad de la técnica no invasiva desarrollada por los investigadores es superior a otras porque se sustenta en el uso de un medio químicamente definido durante las 24h finales de cultivo de los embriones, en contraste con el uso de suplementos de proteína habituales, que no favorecen la obtención de resultados repetibles. Al mismo tiempo, el sistema de cultivo definido resulta más ventajoso porque los embriones almacenan menos lípidos (grasa) y sobreviven mejor a la criopreservación, necesaria para poder almacenarlos durante más tiempo y transportarlos. Este sistema de cultivo también produce menos abortos y más gestaciones a término que el cultivo convencional en medios no definidos. Tampoco requiere equipamiento específico distinto del habitual en el laboratorio y puede adaptarse para la determinación del sexo en cultivos de embriones humanos producidos *in vitro*. El principio sería el mismo que se ha aplicado en bovino: hay que identificar en un medio de cultivo adecuado qué marcadores son característicos de los embriones de cada sexo que se están cultivando.

El trabajo científico donde se identifican los biomarcadores del sexo de los embriones bovinos se ha publicado en la revista "Journal of Chromatography A", y las gestaciones obtenidas con el medio químicamente definido en sendos artículos de la revista *Reproduction, Fertility & Development*.

El equipo del SERIDA está compuesto por Susana Carrocera y David Martín (técnicos de laboratorio); Antonio Murillo (estudiante de doctorado); y los doctores Marta Muñoz y Enrique Gómez (responsable del grupo). Por su parte, el grupo del CSIC está integrado por la doctora Carolina Simó, Clara Ibáñez y Alejandro Cifuentes (responsable del grupo).

## El proceso

Los ovocitos recogidos bien de ovarios de ganado sacrificado o de donantes vivas mediante punción guiada por ecografía se maduran *in vitro* (MIV), se fertilizan *in vitro* (FIV) y se cultivan *in vitro* (CIV) durante 6-8 días hasta un estadio denominado blastocisto. El proceso total (MIV+FIV+CIV) dura en la vaca 9 días. En las últimas horas del cultivo los embriones se dejan crecer en el medio químicamente definido (QD), y a continuación se determina el sexo. Después el embrión puede transferirse a una receptora o criopreservarse. El embrión criopreservado hay que "descongelarlo" antes de transferirlo.

## Financiación

La actuación está financiada por el Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO; proyecto AGL2016-78597) y UAMA 13-4E-2770; el Principado de Asturias, Plan de Ciencia, Tecnología e Innovación 2013-2017 (GRUPIN 14-114); FEDER.

Los autores son miembros de COST Action FA1201 Epiconcept: Epigenetics and Periconception environment. ■

