



Edición genómica de *Cochliomyia hominivorax* como forma de erradicar la bichera.

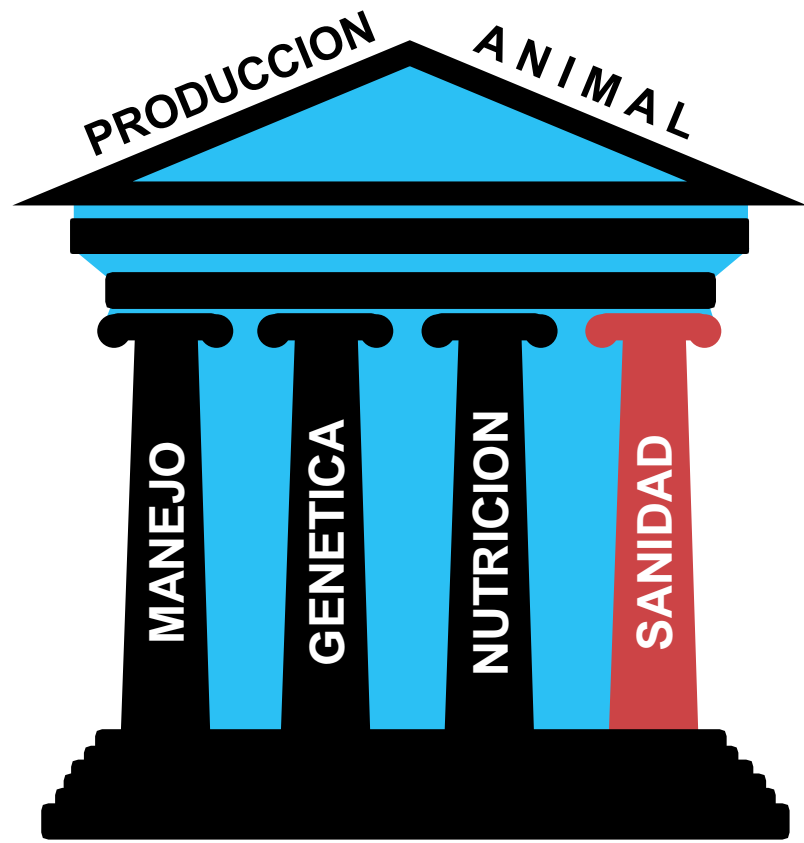
Pablo Fresia

pfresia@pasteur.edu.uy

JORNADA de SALUD ANIMAL de LA ESTANZUELA
De la investigación al campo, una mirada hacia adelante
07 de Noviembre de 2019







Investigación

M. bovis

Leptospira

Leucosis Bovina

Leishmania

Neospora caninum

Toxoplasma gondii

Trypanosoma cruzi

Trypanosoma evansi

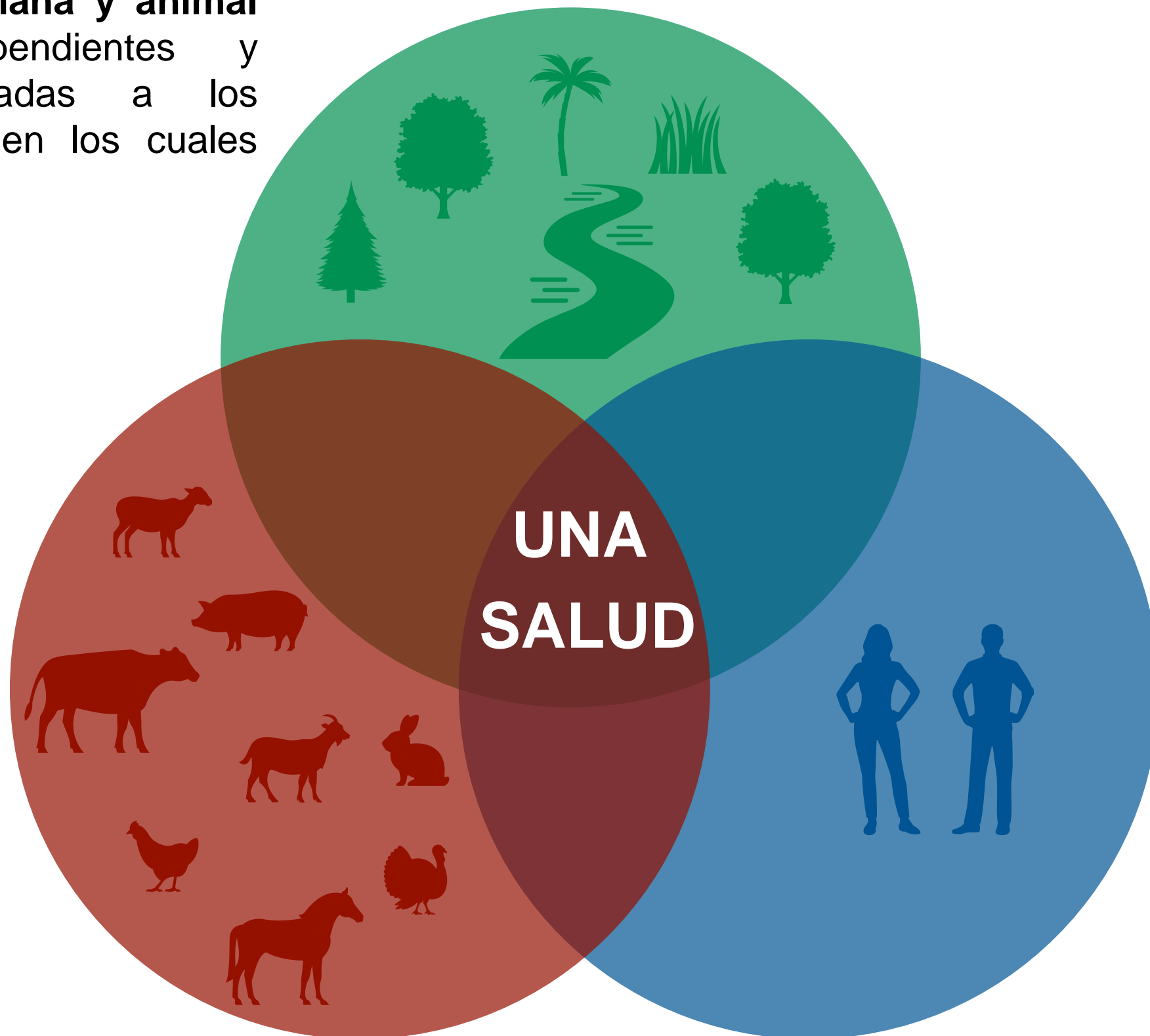
Trypanosoma vivax

C. hominivorax

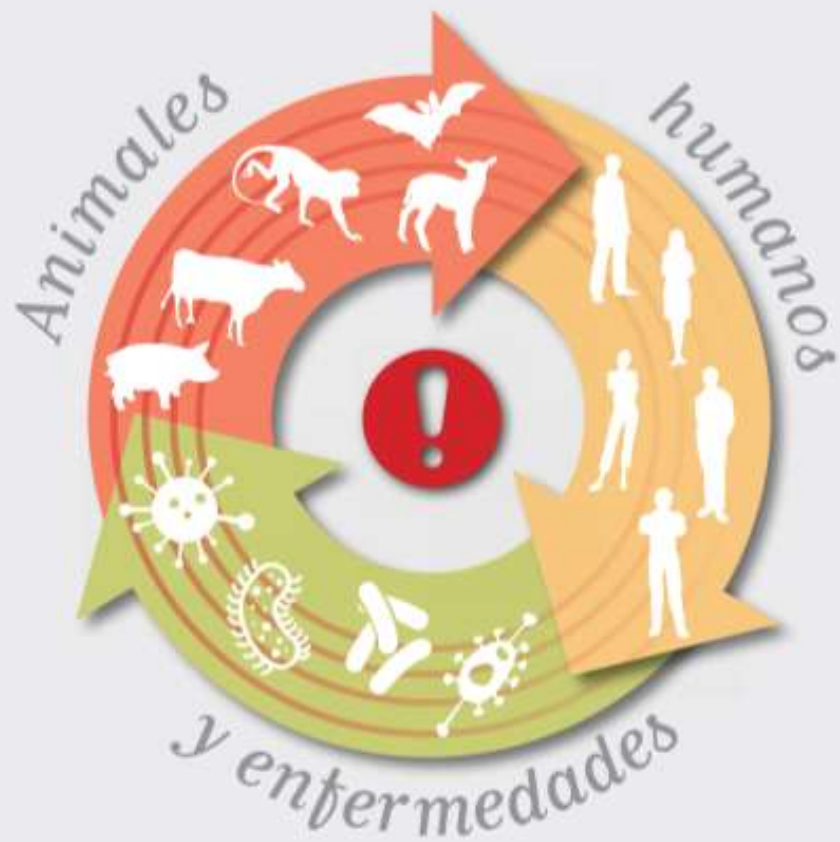


- Concepto introducido en la década del **2000**

- La **salud humana y animal** son interdependientes y están vinculadas a los **ecosistemas** en los cuales coexisten



Los animales domésticos,
la fauna silvestre y el hombre
están expuestos
a los mismos peligros

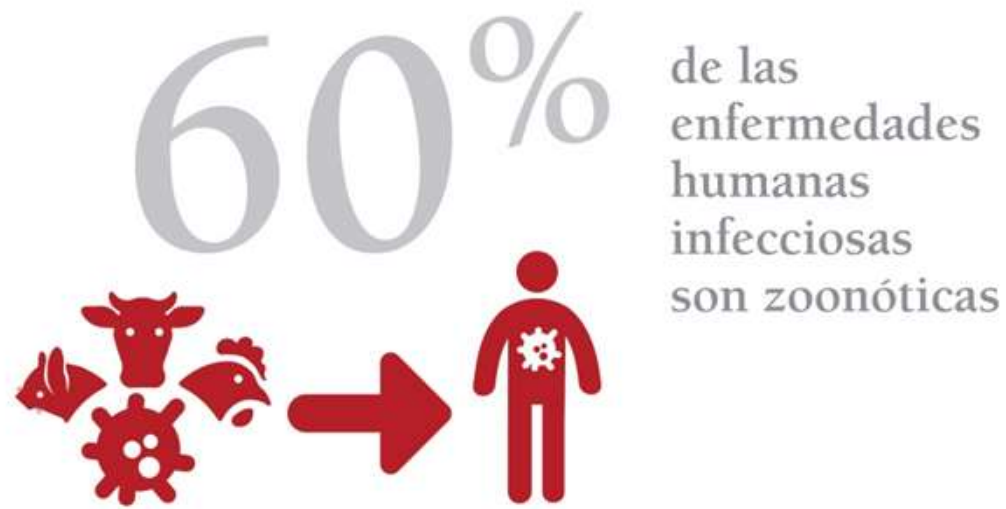


Oie ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL
Proteger a los animales, preservar nuestro futuro





Proteger a los animales, preservar nuestro futuro



Mosca de la Bichera (*Cochliomyia hominivorax*)

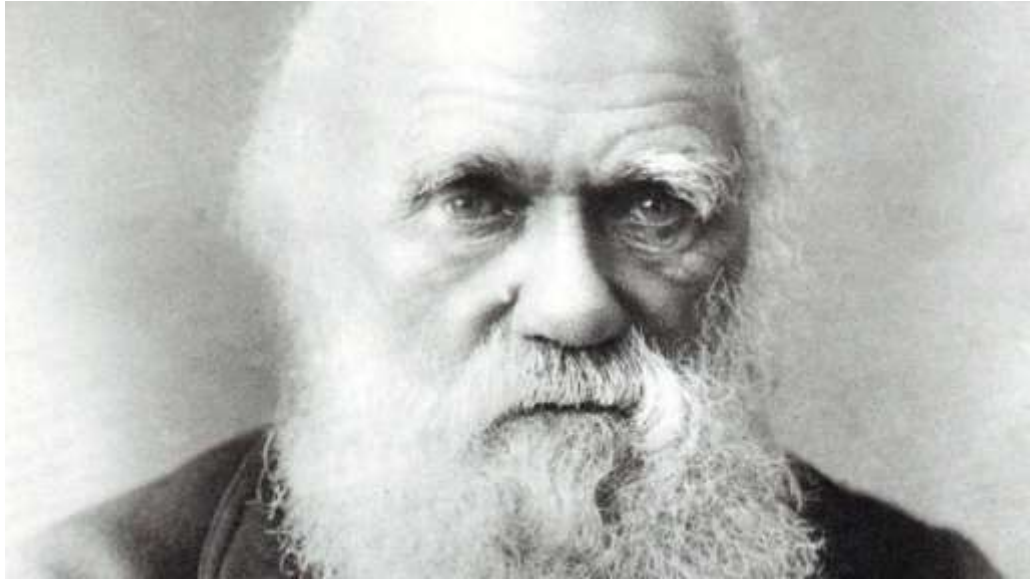
Perdidas económicas

USD 24,5 millones / año



Ciclo de vida de la mosca de la bichera



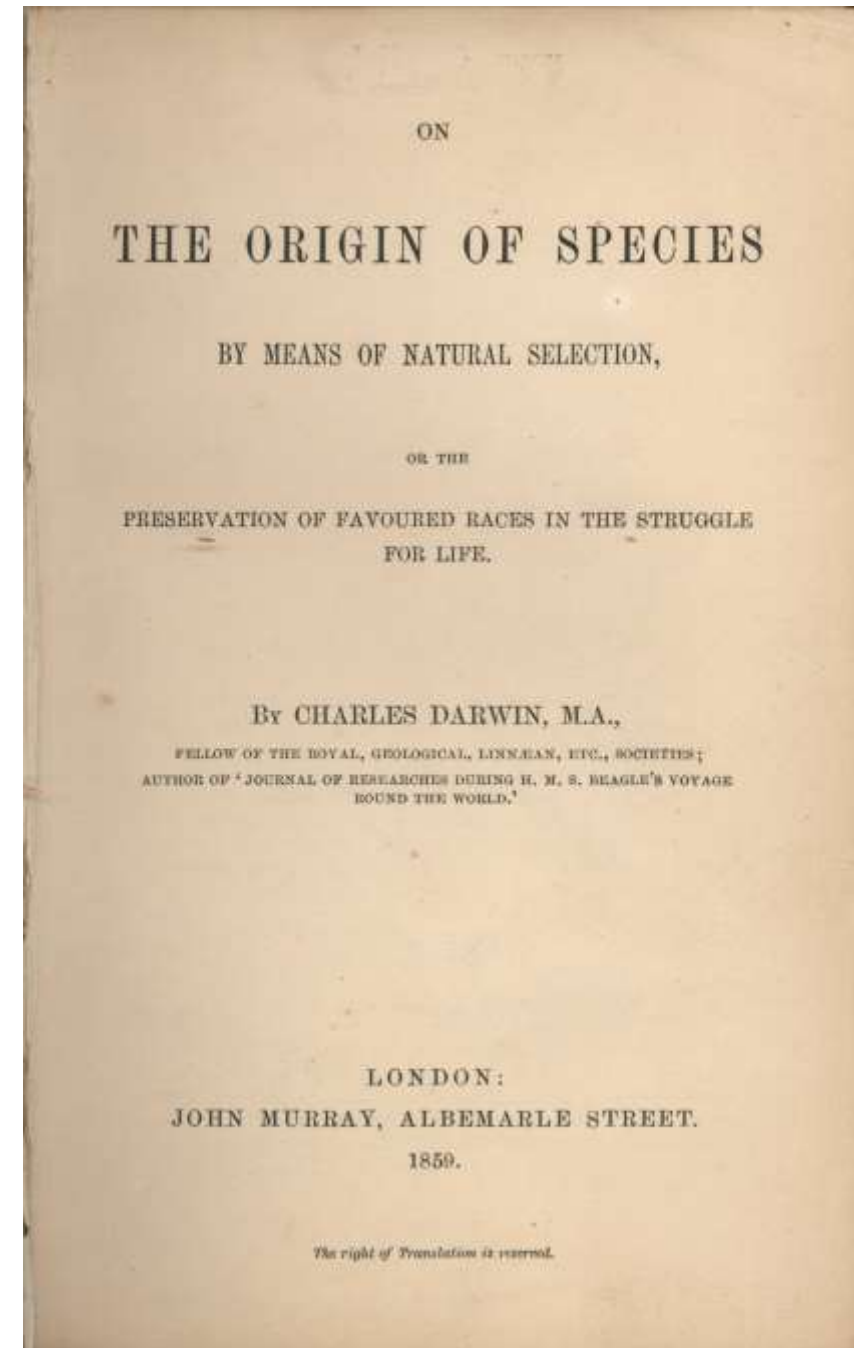


Cochliomyia hominivorax (Coquerel 1858)

1859

“... en diferentes regiones del mundo los insectos determinan la existencia del ganado. Tal vez el Paraguay ofrece el ejemplo más curioso de esto, pues allí, ni el ganado vacuno, ni los caballos, ni los perros se han hecho nunca cimarrones, a pesar de que al norte y al sur abundan en estado salvaje, y Azara y Rengger han demostrado que esto es debido a ser mas numerosa en el Paraguay cierta mosca que pone sus huevos en el ombligo de estos animales cuando acaban de nacer.”

Capitulo 3, Origen de las especies, Charles Darwin

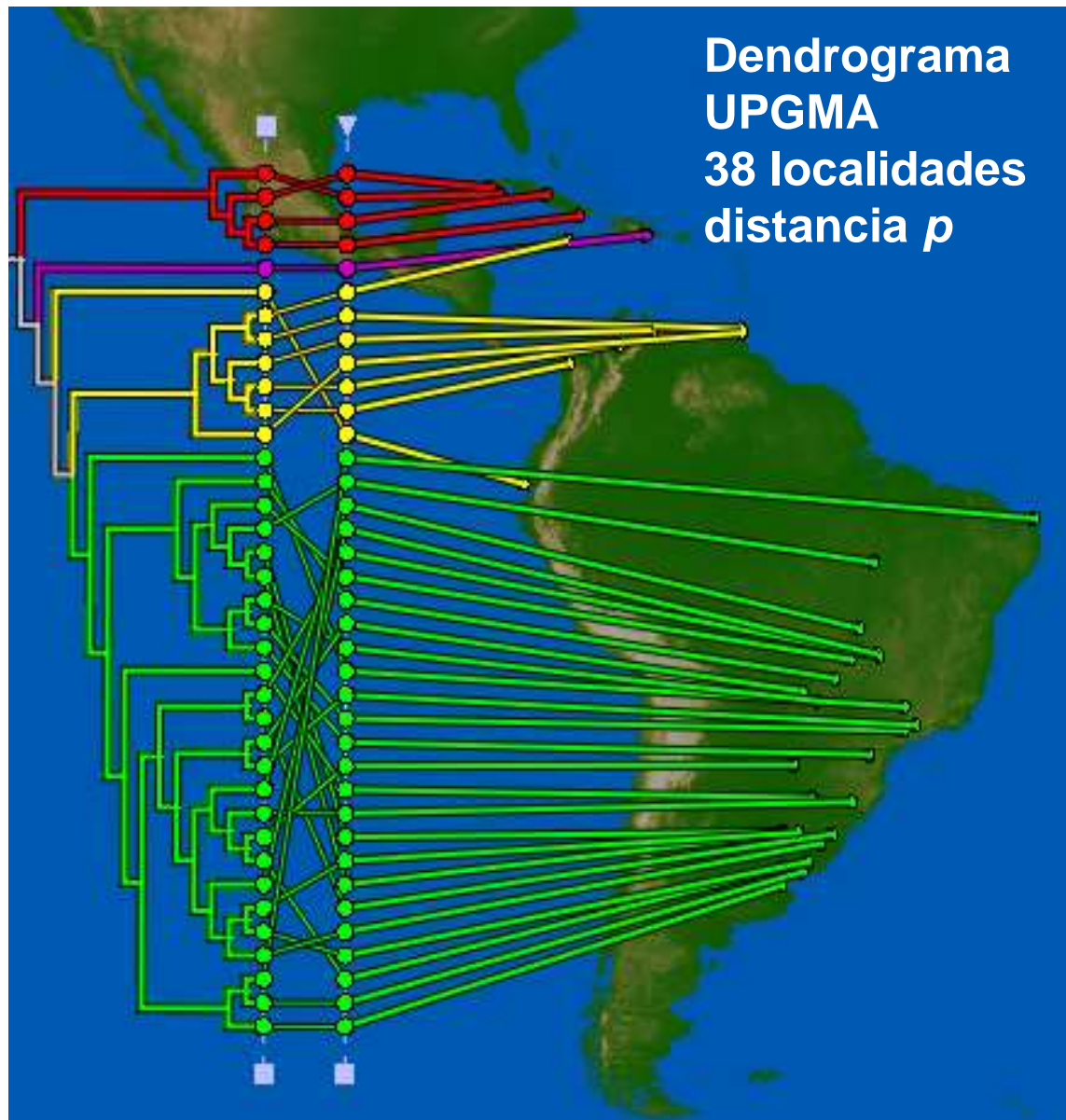


ERRADICACION BASADA EN TIE

1957 - 2000: ~40 años

1 Supresión química, trampas

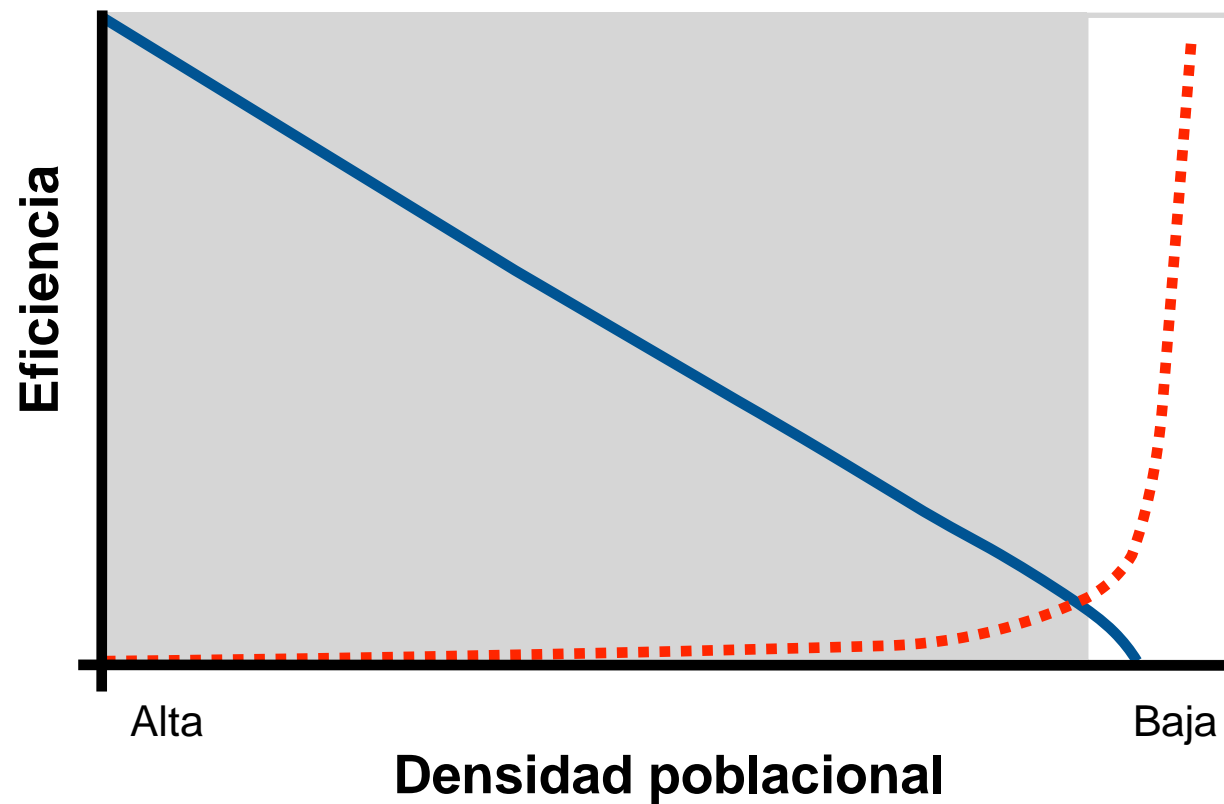
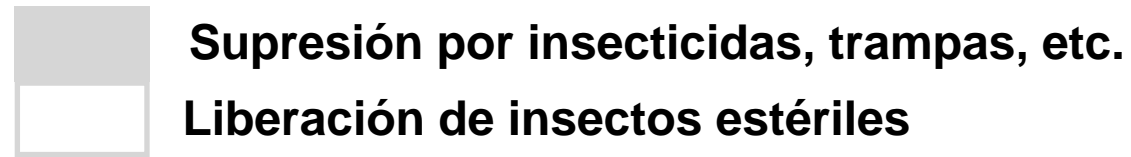
2 Liberación de insectos estériles (10 estériles / 1 silvestre)



A map of South America is shown in orange. A dashed black arrow points from a black rectangular box on the northern coast of South America down to the 'COSTO ANUAL' table.

COSTO ANUAL	
Total	USD 60 millones
Fábrica	USD 44 millones
Liberación	USD 16 millones

PROGRAMA DE CONTROL BASADO EN TIE



Adaptado de Feldmann & Henrichs 2001

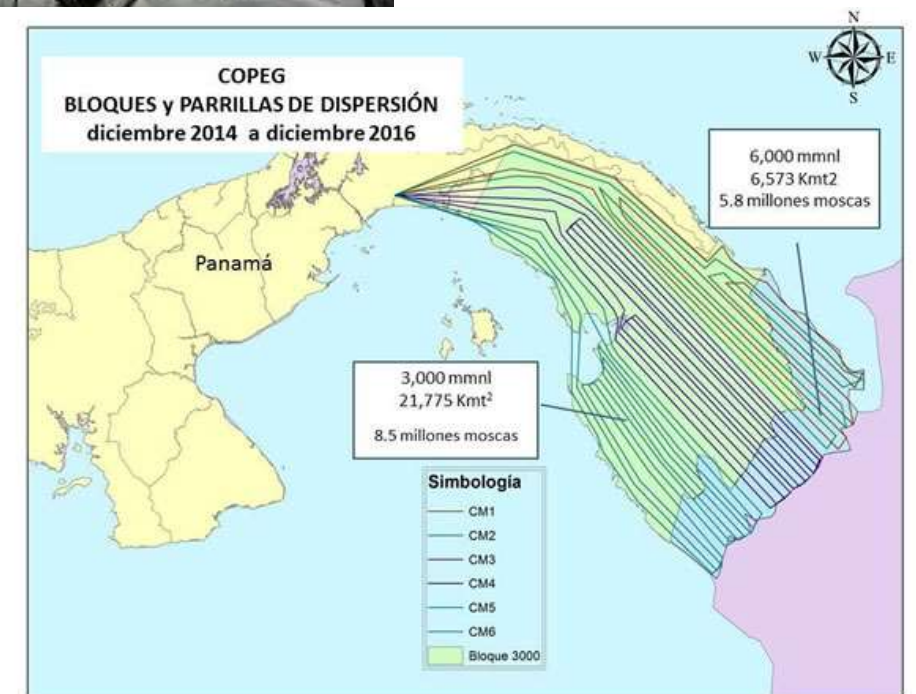
Liberación de insectos estériles

¿**CUANTAS** poblaciones hay en la región?

¿**CUAL** es la **densidad** de la poblaciones?

¿**CUANDO** liberar?

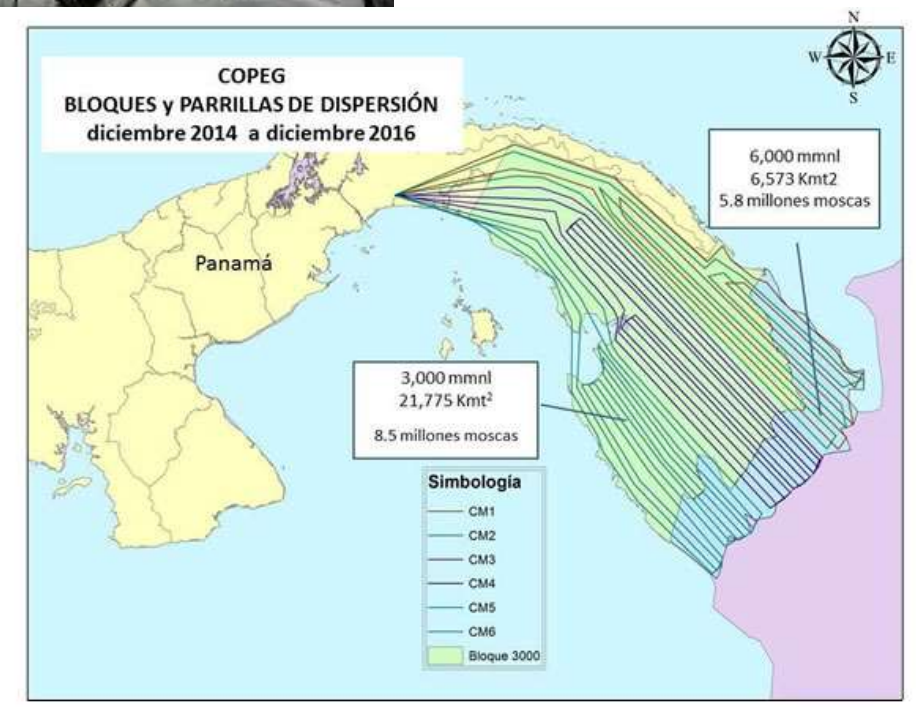
“... el manejo preventivo de las poblaciones de una especie plaga en **todos los habitats del ecosistema**, evitando que potenciales migrantes sean capaces de restablecer las poblaciones en las áreas de interés” (Klassen, 2005).





TIE Plan piloto Artigas-Quaraí 2009

USD 2,6 millones
 200 millones de moscas
 Área 6000 km²



Manejo actual de la mosca de la bichera

Grupo Técnico de la DGSG-MGAP

Dr. Andrés Gil

Lic. Laura Marques

Dr. Ricardo Perez Rama

Dr. José Piaggio

Dr. Martín Altuna

Dr. Oscar Caponi



Manejo de la Parasitosis

Herida + *C. hominivorax* (Hembra Grávida) = INFESTACIÓN

1. PREVENIR HERIDA
MANEJO DE LOS ANIMALES
(descome. castración, esquila señalada,
caravanas. ombligo. garrapata)

2. PREVENIR INFESTACIÓN
(INSECTICIDAS)

3.1 TRAMPAS PARA ADULTOS
CON ATRAYENTE E INSECTICIDA

3.2 SIT (TÉCNICA DE ESTERILIZACIÓN DE INSECTOS)

4. INSECTICIDA PARA TRATAR LA INFESTACIÓN

¿Qué podemos hacer?

Edición genómica: CRISPR/Cas9

Edición genómica: CRISPR/Cas9



TTGCGGTACACACCTGTGATAATGCATTACGGGTGACTACGATCGT
TTGCGGTACACACCTGTGATAATGCATTACGGGTGACTACGATCGT

Genoma

Edición genómica: CRISPR/Cas9



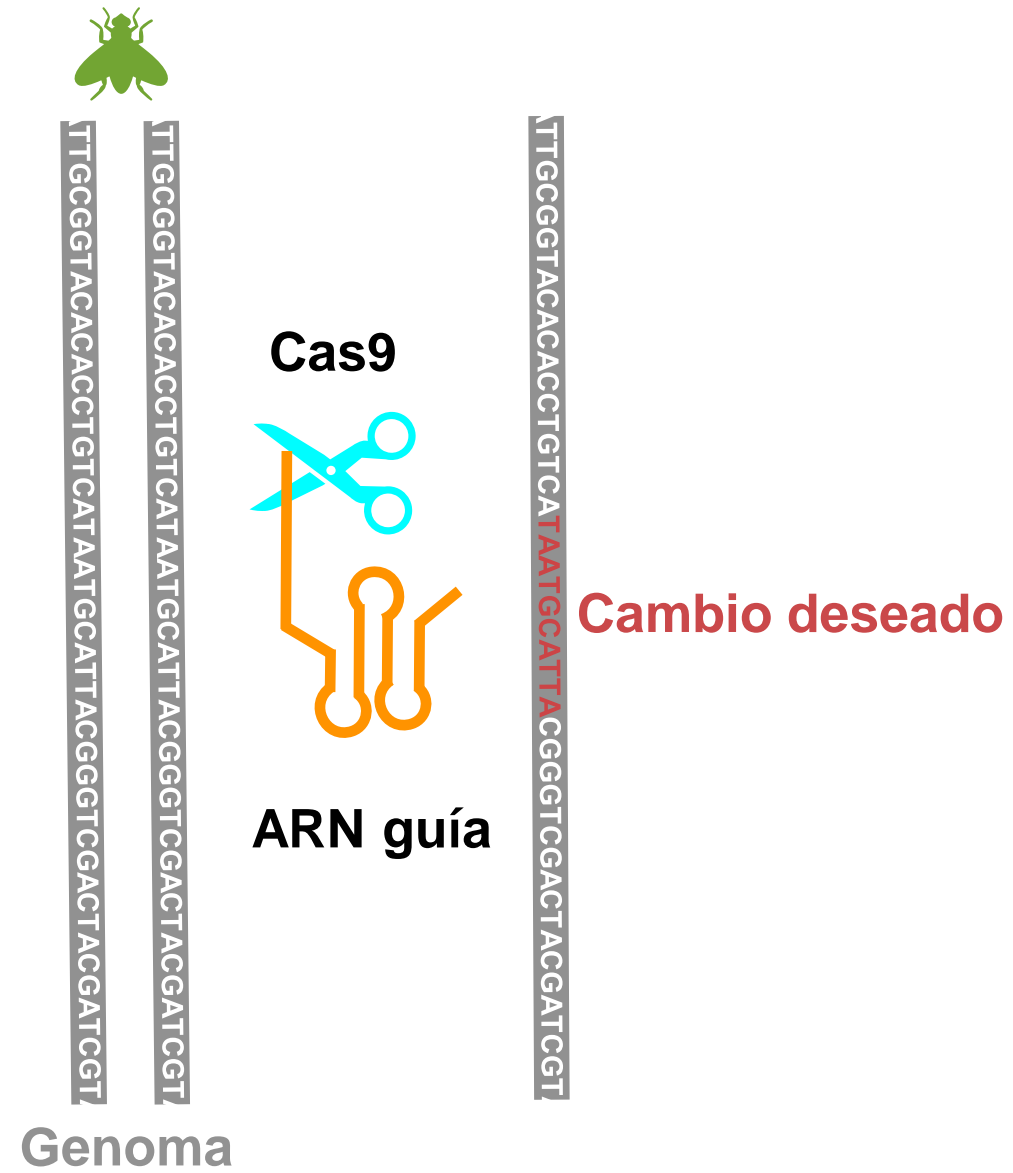
TTGGGGTACACACCCTGTCATAATGCATTACGGGTGACTACGATCGT
TTGGGGTACACACCCTGTCATAATGCATTACGGGTGACTACGATCGT

Genoma

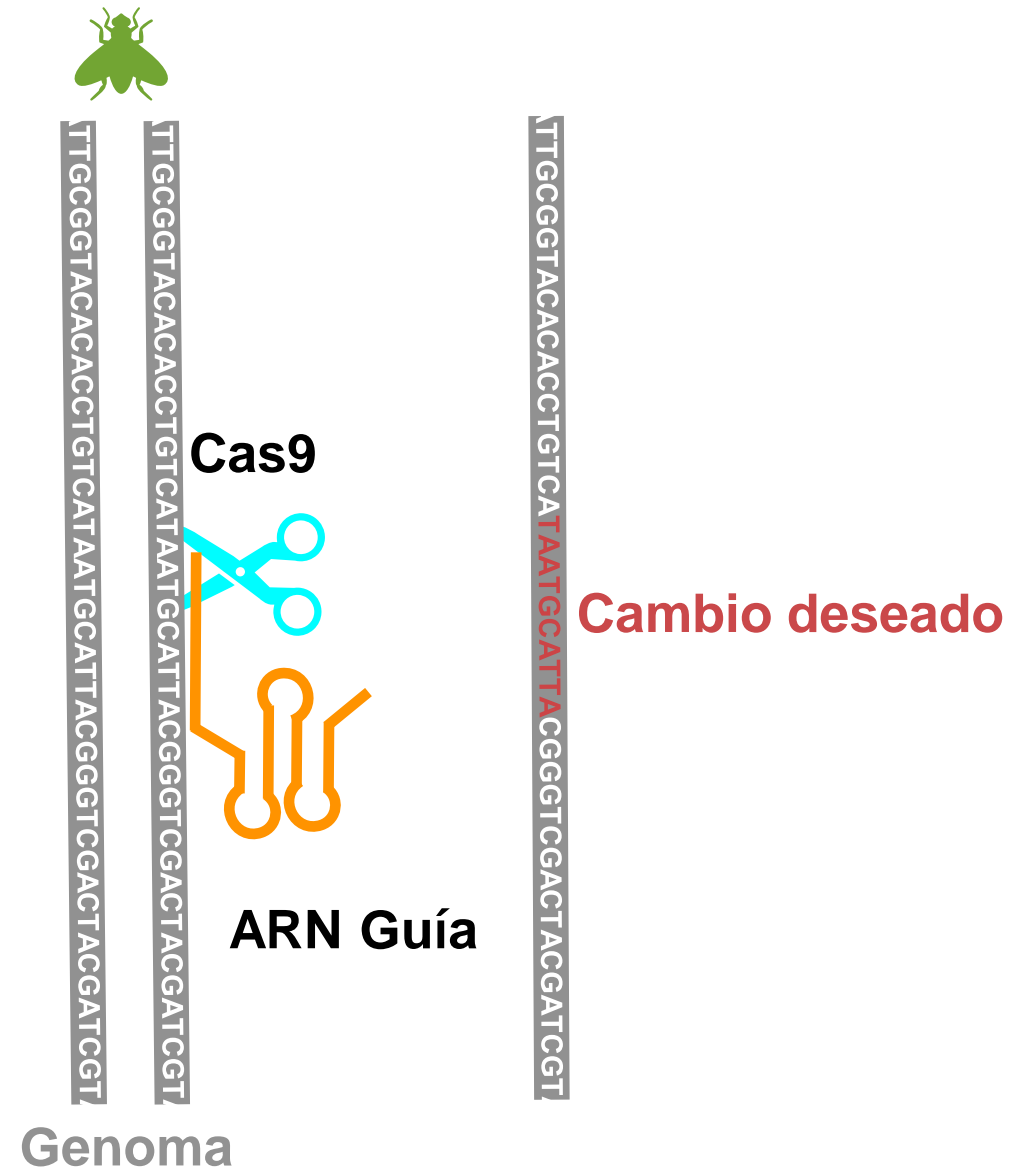
TTGGGGTACACACCCTGTCATAATGCATTACGGGTGACTACGATCGT

Cambio deseado

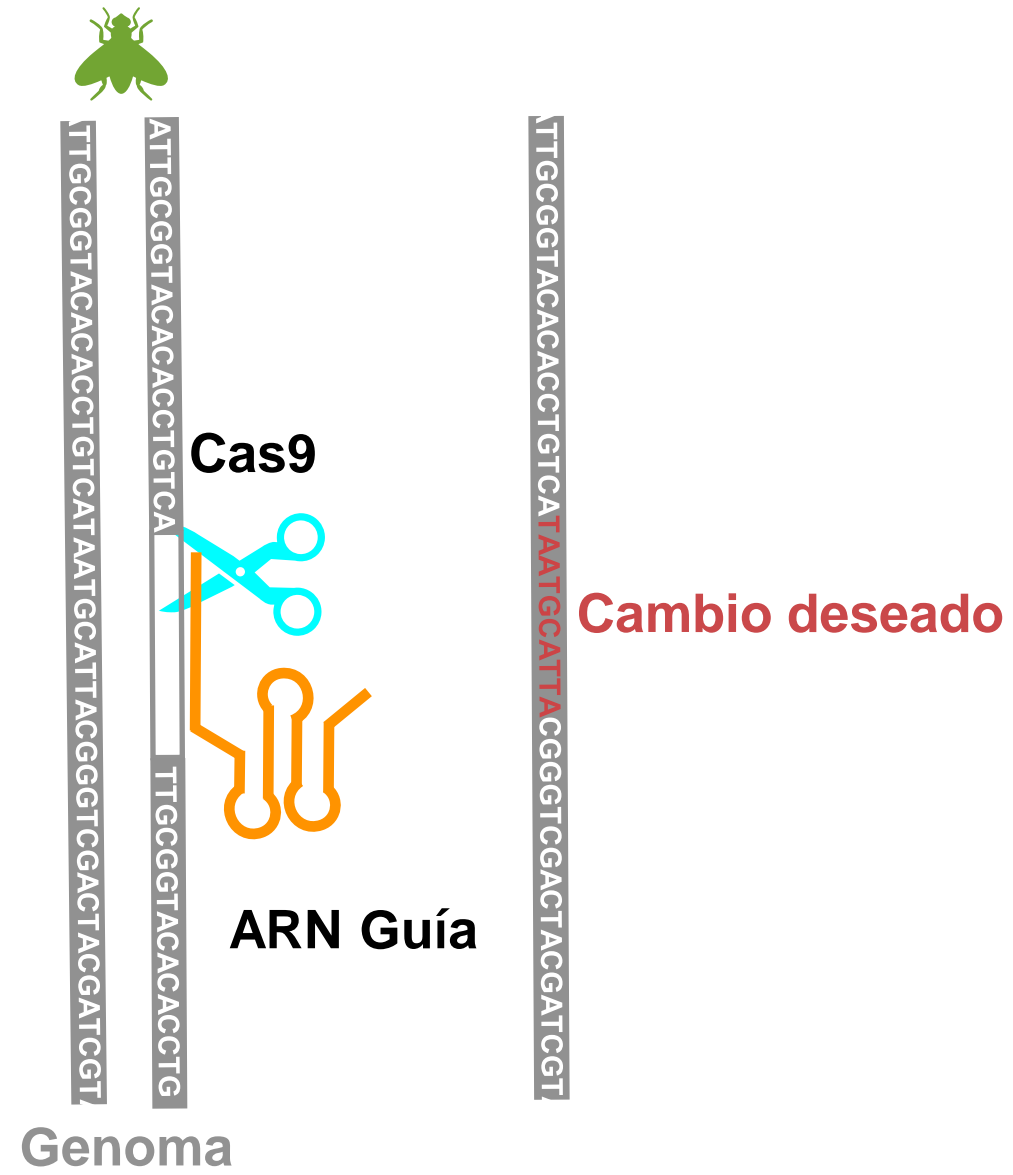
Edición genómica: CRISPR/Cas9



Edición genómica: CRISPR/Cas9



Edición genómica: CRISPR/Cas9



Edición genómica: CRISPR/Cas9



ATTGGGTACACACCTGTCA
TTGGGTACACACCTG

TTGCGGTACACACCTGTCA
TTGCGGTACACACCTG

Genoma

TTGCGGTACACACCTGTCA
TTGCGGTACACACCTG

Cambio deseado

Edición genómica: CRISPR/Cas9



TTGCCGTACACACCCTGTCAATAATGCATTACGGGTGACTACGATCGT

ATTGGGTACACACCCTGCA TTGCCGTACACACCCTG

TTGCCGTACACACCCTGTCAATGCATTACGGGTGACTACGATCGT

Genoma

Edición genómica: CRISPR/Cas9



TTGGCGTACACACCTGTCA
TTGGCGTACACACCTG
TTGGCGTACACACCTGTCA
TTGGCGTACACACCTG
TTGGCGTACACACCTGTCA
TTGGCGTACACACCTG

Genoma

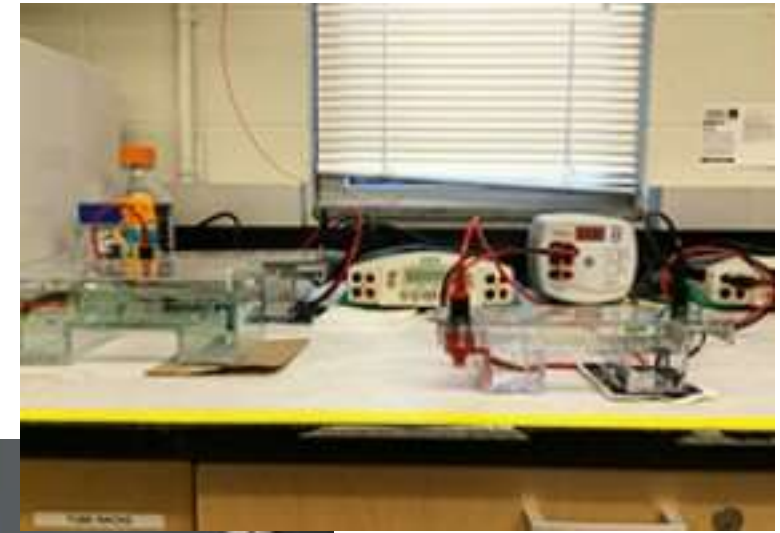
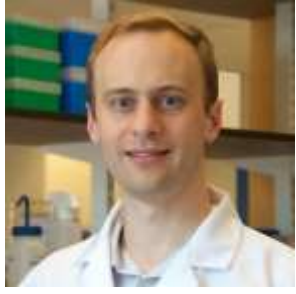
Edición genómica: CRISPR/Cas9



Linaje editado con la información genética deseada

TTGGCGTACACACCTGTCAATGCAATGCGGTGACTACGATCGT
TTGGCGTACACACCTGTCAATGCAATGCGGTGACTACGATCGT

Genoma



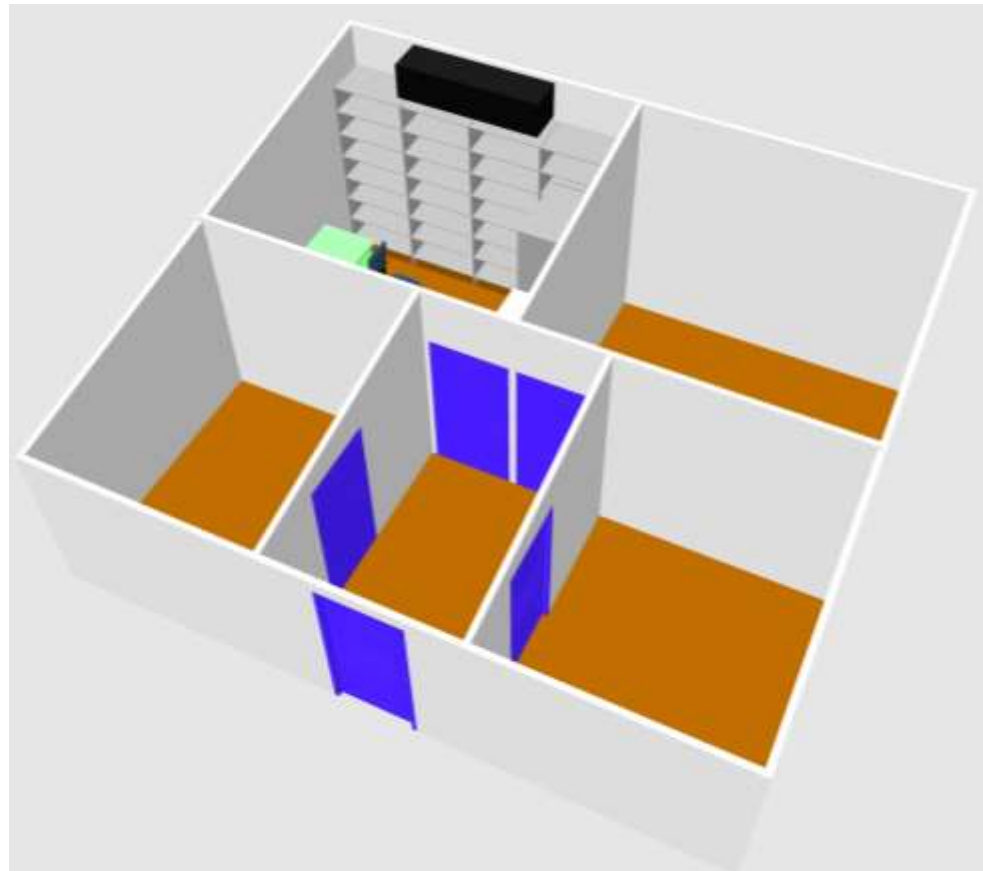
PROPUESTA de LABORATORIO

Lugar: **INIA La Estanzuela**



PROPUESTA de LABORATORIO

Lugar: **INIA La Estanzuela**



Arthropod Containment Guidelines, Version 3.2

A project of The American Committee of Medical Entomology of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene

¿Cómo transferir el gen editado a las poblaciones naturales?

¿Cómo transferir el gen editado a las poblaciones naturales?

Gene drive ocurre cuando:

- un elemento genético es **transmitido verticalmente**
- sensiblemente **aumenta su frecuencia**
- incluso si **no ayuda al organismo a reproducirse**

***GENE DRIVE*: ¿Cómo funciona?**



TTGGGTTACACACCTGTGATAATGCATTACGGGTCGACTACGATCGT
TTGGGTTACACACCTGTGATAATGCATTACGGGTCGACTACGATCGT

Genoma

GENE DRIVE: ¿Cómo funciona?



TTGGGTTACACACCTGTGATAATGCATTACGGGTCGACTACGATCGT

TTGGGTTACACACCTGTGATAATGCATTACGGGTCGACTACGATCGT

TTGGGTTACACACCTGTGATAATGCATTACGGGTCGACTACGATCGT

CRISPR/Cas9
+
Cambio deseado
+
ARN guía

Genoma

GENE DRIVE: ¿Cómo funciona?



CRISPR/Cas9
+
Cambio deseado
+
ARN guía

Genoma

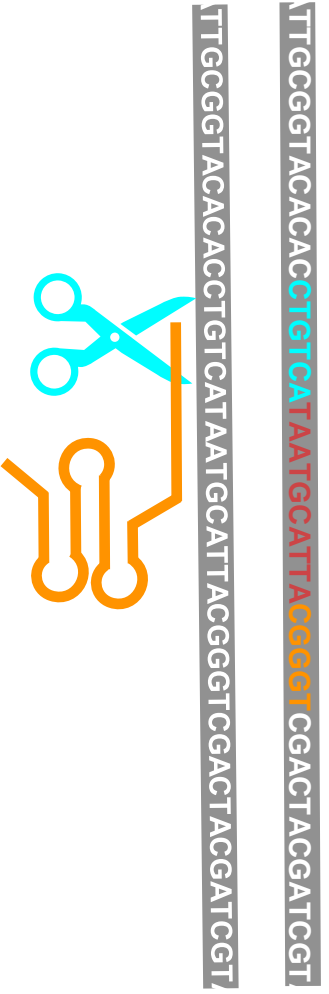
GENE DRIVE: ¿Cómo funciona?



TTGGGTACACACCCTGTGATAATGCATTACGGGTCGACTACGATCGT
TTGGGTACACACACTGTGATAATGCATTACGGGTCGACTACGATCGT

Genoma

GENE DRIVE: ¿Cómo funciona?



Genoma

GENE DRIVE: ¿Cómo funciona?



TTGGGTACACACACTGTGATTAATGCATTACGGGTGACTACGATCGT
TTGGGTACACACACTGTGATTAATGCATTACGGGTGACTACGATCGT

Genoma

GENE DRIVE: ¿Cómo funciona?



TTGGGTTACACACACTGTGATTAATGCATTACGGGTCGACTACGATCGT

Genoma

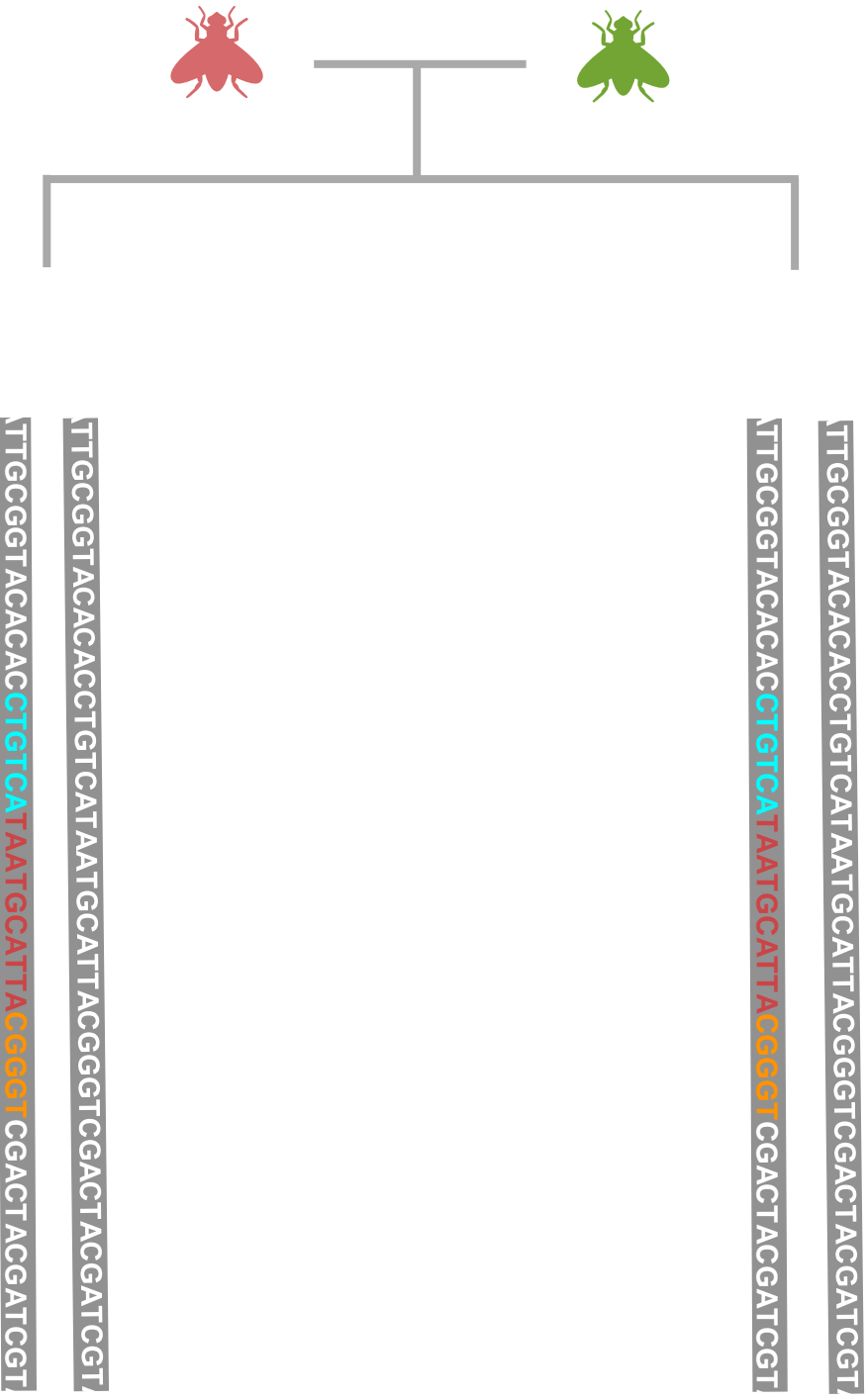
X



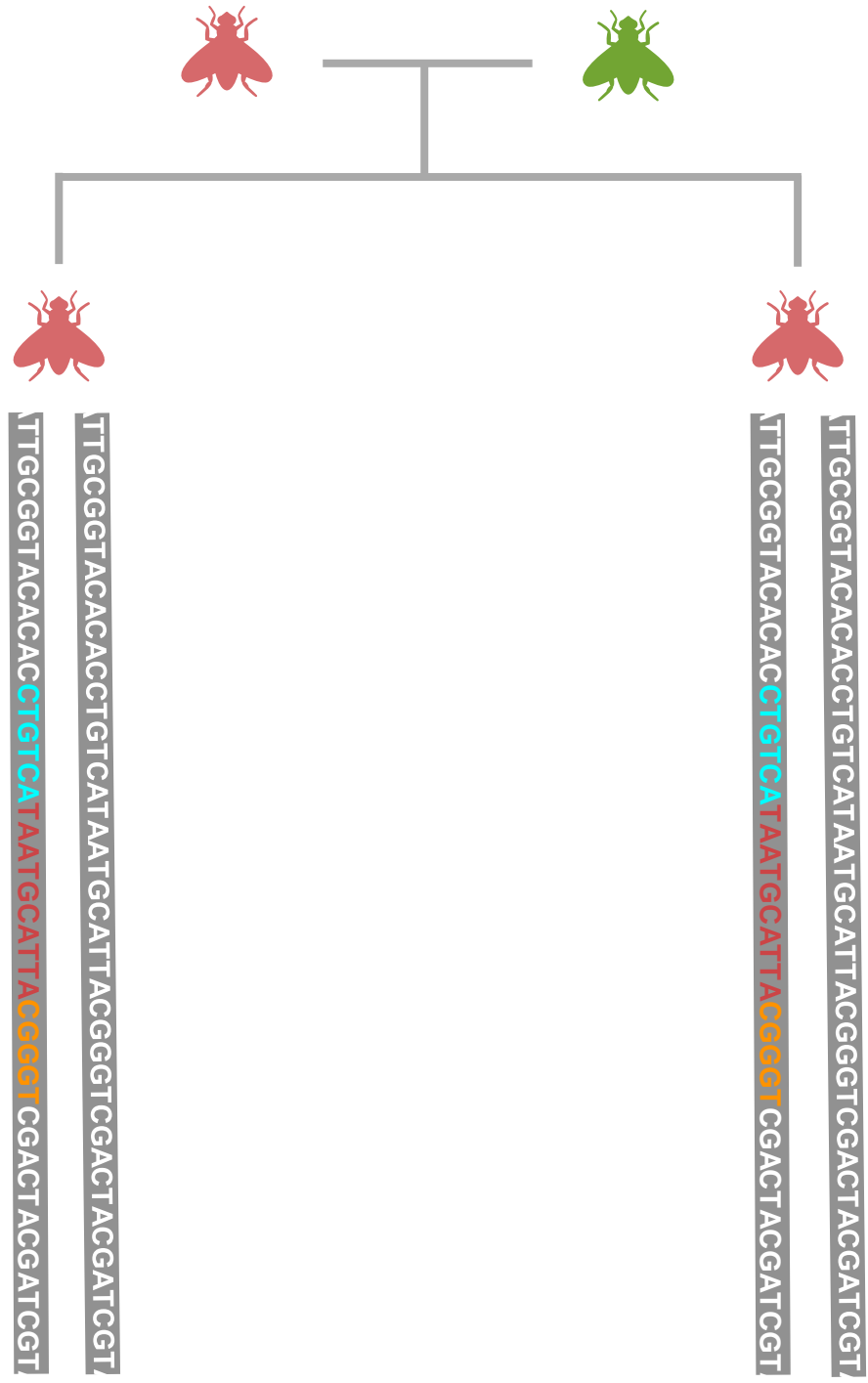
TTGGGTTACACACACTGTGATTAATGCATTACGGGTCGACTACGATCGT

Genoma

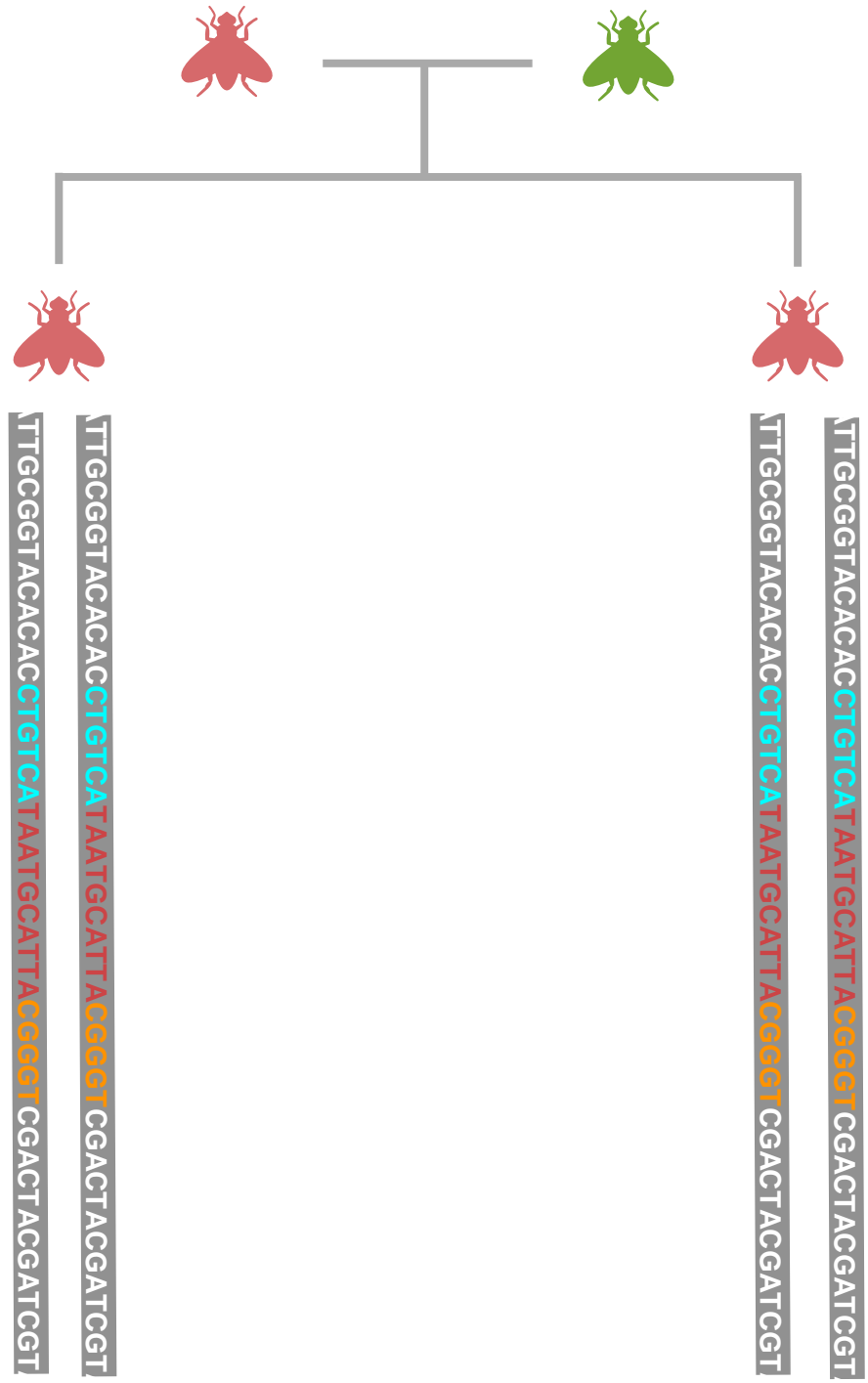
GENE DRIVE: ¿Cómo funciona?



GENE DRIVE: ¿Cómo funciona?

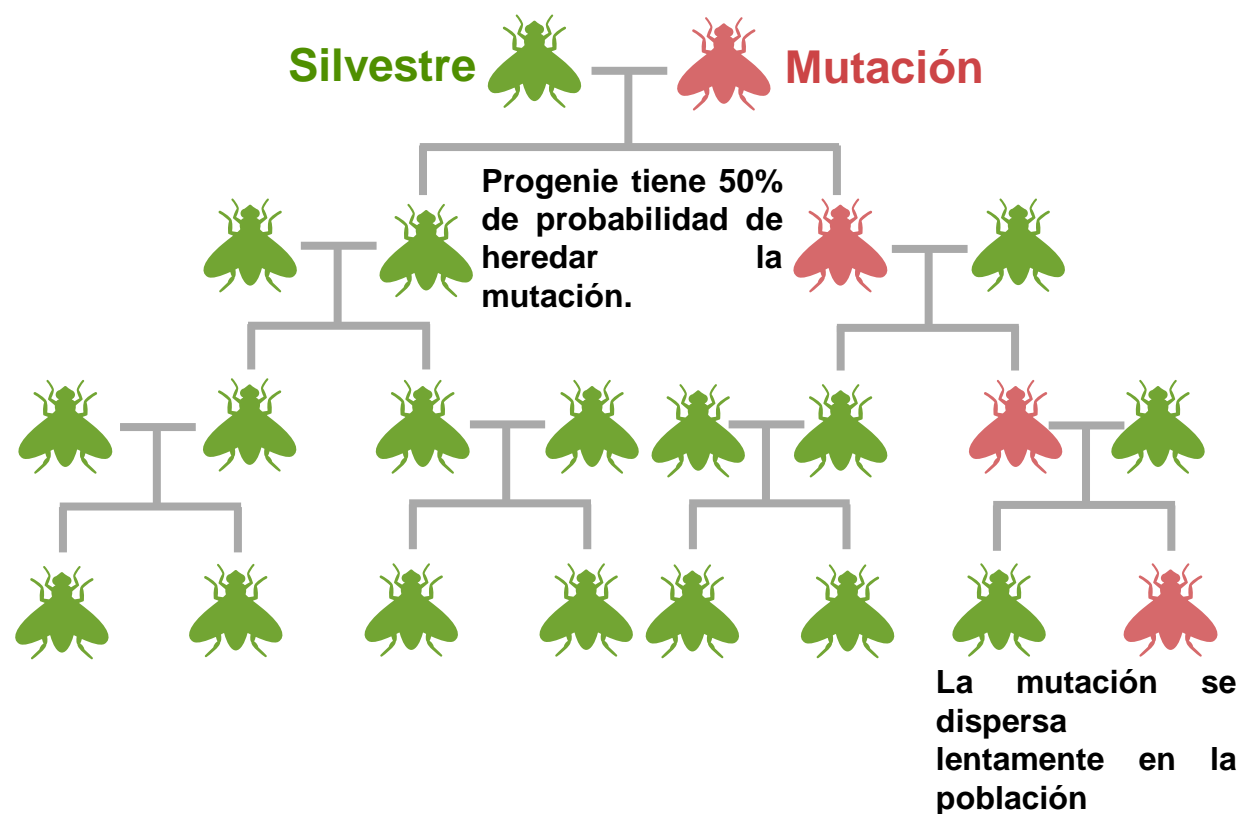


GENE DRIVE: ¿Cómo funciona?

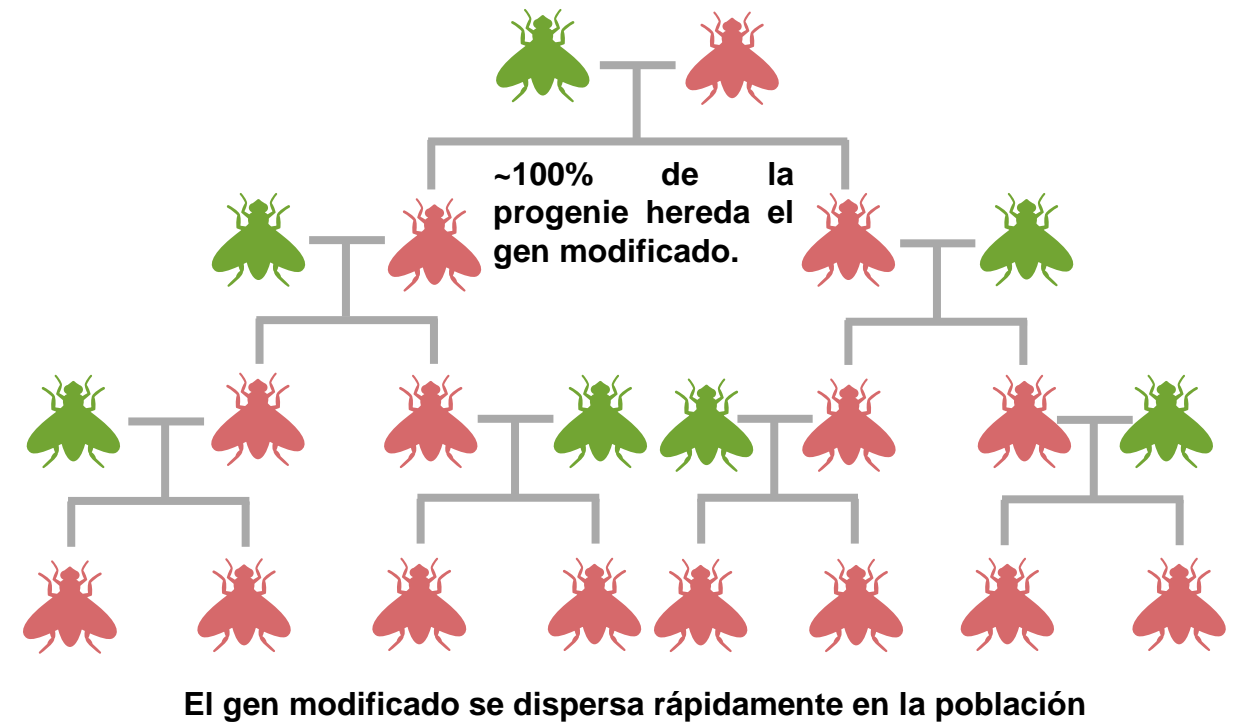


GENE DRIVE: ¿Cómo funciona?

Herencia normal



Herencia *gene drive*



- Puede ser sustancialmente más eficiente que un enfoque inundativo, como la TIE
- Requiere la liberación de pequeñas cantidades de insectos GE para suprimir una población
- Menos del 1% de la población blanco (Burt 2014, Godfray et al. 2017).

La **expectativa** para organismos con un *gene drive* es que el **sistema se propague en la naturaleza**

La **expectativa** para organismos con un *gene drive* es que el **sistema se propague en la naturaleza**

Requisitos

- Reproducción sexual
- La propagación depende del lapso de **tiempo de cada generación** y del **flujo génico**
- Puede usarse para **alterar** o **suprimir** poblaciones

¿Funciona realmente?

¿Funciona realmente?

Exito en:

- **Levadura** (*Saccharomyces cerevisiae*) DiCarlo et al. **2015** *Nature Biotechnology*
- **Drosophila** (*Drosophila melanogaster*) Gantz VM & Bier E **2015** *Science*
- **Mosquitos** (*Anopheles stephensi*: vector de malaria en Asia) Gantz et al. **2015** *PNAS*
(*Anopheles gambiae*: vector de malaria) Hammond et al. **2016** *Nature Biotechnology*

Agradecimientos



José Luis Repetto
Franklin Riet-Correa
Marco Dalla Rizza
Anderson Saravia
Junta Directiva



Institut Pasteur
de Montevideo

Otto Pritsch
Carlos Batthyany
Martina Crispo



Alejo Menchaca

¿Preguntas?

- 1) Salud Animal, “una sola salud”
- 2) Mosca de la bichera: biología y control
- 3) Intervenir: ¿por qué? ¿Cómo intervenir?
- 4) Biotecnología: herramientas con alto impacto para solucionar el problema, especie Específicas... **emprendimiento para liderar en la región.**
- 5) Genómica: definición básica, genoma, genes: funciones
- 6) Edición génica: ¿Qué es? Herramienta: CRISPR/Cas
- 7) Gene drive: ¿Qué es? ¿Por qué nos sirve?
- 8) Aplicación en un plan de control de la mosca de la bichera en Uruguay y la región
- 9) Posicionamiento de Uruguay como referente regional en el tema. Beneficios.
- 10) ¿Cuáles son nuestros problemas? Tema regulatorio, bioética ... y cómo nos pueden apoyar
- 11) Jugar en el mismo cuadro: retroalimentación