

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 886 146**

51 Int. Cl.:

C12N 15/877 (2010.01)

C12N 5/10 (2006.01)

A01K 67/027 (2006.01)

C12N 15/85 (2006.01)

C12N 5/0735 (2010.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.11.2014 PCT/AU2014/050339**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.05.2015 WO15066768**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.11.2014 E 14859664 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.06.2021 EP 3066204**

54 Título: **Composiciones y métodos para producir animales modificados genéticamente**

30 Prioridad:

07.11.2013 AU 2013904307

06.06.2014 AU 2014902162

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
16.12.2021

73 Titular/es:

OZGENE HOLDINGS PTY LTD (100.0%)

5 Parker Place

Bentley, Western Australia 6102, AU

72 Inventor/es:

KOENTGEN, FRANK

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 886 146 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones y métodos para producir animales modificados genéticamente

Solicitudes relacionadas

- 5 Esta solicitud reivindica la prioridad de la Solicitud Provisional Australiana No. 2013904307 titulada "Compositions and Methods for Producing Genetically Modified Animals" presentada el 7 de noviembre de 2013, y de la Solicitud Provisional Australiana No. 2014902162 titulada "Compositions and Methods for Producing Genetically Modified Animals" presentada el 6 de junio de 2014.

Campo de la invención

- 10 El campo de la invención se refiere generalmente a métodos y composiciones para producir embriones de roedor con un gen de fertilidad disrumpido o que se puede disrumpir, que pueden usarse como huéspedes para el desarrollo de células pluripotentes donantes, incluyendo células pluripotentes donantes modificadas genéticamente, en células germinales y gametos. El campo de la invención también se refiere a métodos y composiciones para producir, a partir de dichos embriones, animales roedores quiméricos con un gen de fertilidad disrumpido y para reproducir los animales roedores quiméricos con animales roedores cognados que comprenden un gen de fertilidad que carece de una
- 15 disrupción para producir animales roedores que tienen sustancialmente todos los gametos y/o células germinales derivadas de las células pluripotentes donantes.

Antecedentes de la invención

- 20 Las células madre embrionarias (ES) de ratón son pluripotentes y pueden contribuir a todos los tejidos de un ratón después de la inyección de blastocistos. También pueden manipularse genéticamente con una facilidad relativa y se han usado para la generación de ratones modificados genéticamente después de la introducción de mutaciones dirigidas en el genoma (véase, p. ej., Doetschman T *et al.*, 1987. Nature 330: 576-578).

- 25 WO 03/08190 A2 se refiere a la generación de un animal que tiene una modificación genética deseada caracterizado porque los blastocistos o embrión fuente es de un animal que tiene un defecto permanente o condicional en sus células de la línea germinal. WO 2013/131285 A1 describe un ratón con inactivación por delección de GILZ en donde el exón 6 de GILZ se deleciona por el uso de la recombinasa CRE.

- 30 Cuando se introducen en el entorno embrionario de blastocistos, las células ES "donantes" de ratón con la modificación genética se integran en la masa celular interna del blastocisto huésped y se diferencian en linajes de células somáticas y germinales, dando lugar eventualmente a ratones mosaico conocidos como quimeras. Las diferencias en el quimerismo se deben a diferentes cantidades de contribución de las células ES donantes a los blastocistos. Cuanto mejor se comporten las células ES donantes en el blastocisto, más células del embrión derivan de las células ES donantes, lo que, a su vez, aumenta la transmisión de la modificación genética en la línea germinal (transmisión en la línea germinal).

- 35 Sin embargo, debido a varios factores complejos que se entienden poco, incluyendo (i) el requerimiento de que las células ES donantes estén en el lugar correcto en el momento correcto para integrarse en el proceso de desarrollo de la masa celular interna (ICM), (ii) la capacidad inherente (genética y epigenética) de las células ES donantes de volverse células germinales primordiales y de desarrollarse posteriormente en gametos funcionales, y (iii) la competición entre las células madre huésped y donantes durante el desarrollo embrionario en quimeras convencionales para el nicho de desarrollo de volverse eventualmente gametos, la contribución de la línea germinal de las células ES donantes en quimeras es impredecible y varía del 0 % al 100 %.

- 40 Por consiguiente, existe una necesidad de mejorar la transmisión en la línea germinal de células pluripotentes modificadas genéticamente tales como células ES y de acelerar la generación de animales derivados de células pluripotentes a partir de quimeras.

Resumen de la invención

- 45 La presente invención surge, en parte, de la determinación de que la transmisión en la línea germinal de una célula pluripotente de roedor donante (p. ej., que comprende una modificación genética) que comprende un gen de fertilidad endógeno puede aumentarse significativamente disrumpiendo el gen de fertilidad en un embrión de roedor preimplantación en el que se introduce la célula pluripotente de roedor donante. La implantación y gestación del embrión en un animal roedor sustituto o adoptivo produce descendencia que incluye animales roedores quiméricos que comprenden células germinales o gametos endógenos que comprenden un gen de fertilidad disrumpido, así como animales roedores quiméricos que comprenden células germinales o gametos derivados de la célula pluripotente de
- 50 roedor donante que no comprenden una disrupción en el gen de fertilidad. Cuando se cruzan con un animal roedor cognado que comprende un gen de fertilidad no disrumpido, los animales roedores quiméricos que comprenden células germinales o gametos endógenos que comprenden un gen de fertilidad disrumpido tendrán una fertilidad alterada o inhibida y aquellos que comprenden células germinales o gametos derivados de la célula pluripotente de roedor donante tendrán una fertilidad normal o no alterada, aumentando de esta manera la producción de la primera
- 55 camada de crías que comprende células germinales o gametos derivados de la célula pluripotente de roedor donante.

- Por consiguiente, en un aspecto, la presente invención proporciona un embrión huésped de roedor preimplantación que comprende o que consiste esencialmente en, en su línea germinal, un gen de fertilidad disrumpido. El gen de fertilidad que está disrumpido como se describe en la presente memoria puede estar en cualquier cromosoma y, en algunas realizaciones, el gen de fertilidad está localizado en un cromosoma sexual (p. ej., cromosoma X o Y). En realizaciones específicas, el gen de fertilidad está localizado en el cromosoma X. La disrupción del gen de fertilidad puede ser heterocigota u homocigota y, en realizaciones específicas, ambos alelos del gen de fertilidad están disrumpidos. De forma adecuada, la disrupción del gen de fertilidad inhibe la fertilidad masculina y, en ejemplos ilustrativos de este tipo, la disrupción inhibe la función del espermatozoide o la espermatogénesis. En realizaciones específicas, el gen de fertilidad es *GILZ*.
- En un aspecto relacionado, la presente invención proporciona a embrión huésped de roedor preimplantación como se ha descrito anteriormente que comprende además una célula pluripotente de roedor donante que comprende un gen de fertilidad que carece de una disrupción en el mismo. En algunas realizaciones, la célula pluripotente de roedor donante es una célula madre {p. ej., seleccionada de células madre embrionarias (ES), células madre de epiblasto, células germinales embrionarias, células madre pluripotentes inducidas, células ES modificadas genéticamente, células madre de epiblasto modificadas genéticamente, células germinales embrionarias (EG) modificadas genéticamente, células madre pluripotentes inducidas (iPS) modificadas genéticamente o una combinación de dos cualquiera o más de estas}. De forma adecuada, la célula pluripotente comprende una modificación genética. En realizaciones específicas, la célula pluripotente de roedor donante es una célula pluripotente masculina.
- Otro aspecto de la presente invención proporciona un embrión huésped de roedor que comprende un gen de fertilidad disrumpido como se ha definido anteriormente y en otro lugar de la presente memoria y una célula pluripotente de roedor donante que comprende un gen de fertilidad que carece de una disrupción en el mismo. En algunas realizaciones, la célula pluripotente de roedor donante es una célula madre (p. ej., una célula ES) que, de forma adecuada, comprende una modificación genética. La célula pluripotente de roedor donante es, de forma adecuada, una célula pluripotente masculina.
- En otro aspecto más de la presente invención, se proporcionan métodos para generar animales roedores. Estos métodos generalmente comprenden o consisten esencialmente en introducir un embrión huésped de roedor preimplantación como se ha definido anteriormente y en otro lugar de la presente memoria en un animal roedor pseudopreñado y gestar el embrión huésped de roedor preimplantación en condiciones adecuadas para el desarrollo del embrión, generando de esta manera un animal roedor.
- En un aspecto relacionado, la presente invención proporciona un animal roedor a partir de estos métodos.
- Otro aspecto más de la presente invención proporciona un animal roedor sustituto o adoptivo que comprende o que consiste esencialmente en un embrión huésped de roedor como se ha definido anteriormente ampliamente y en otro lugar de la presente memoria.
- En otro aspecto de la presente invención, se proporcionan métodos para generar un animal roedor quimérico. Estos métodos generalmente comprenden o consisten esencialmente en introducir en un animal roedor pseudopreñado un embrión huésped de roedor preimplantación como se ha definido anteriormente ampliamente y en otro lugar de la presente memoria que comprende una célula pluripotente de roedor donante que comprende un gen de fertilidad que carece de una disrupción en el mismo y gestar el embrión huésped de roedor preimplantación en condiciones adecuadas para el desarrollo del embrión, generando de esta manera un animal roedor quimérico.
- En un aspecto relacionado, la presente invención proporciona un animal roedor quimérico a partir de estos métodos.
- En la presente memoria se proporcionan métodos para generar un embrión huésped de roedor con un gen de fertilidad disrumpido. Estos métodos generalmente comprenden o consisten esencialmente en cruzar: 1) una primera cepa de animal que porta un gen de fertilidad que se puede disrumir; con 2) una segunda cepa de animal que porta un transgén activador de la infertilidad que comprende un gen que disrumpe el gen de fertilidad que se puede disrumir, generando de esta manera embriones huésped de roedor transgénicos que comprenden células germinales que tienen un gen de fertilidad disrumpido. En algunas realizaciones, los miembros femeninos de la primera cepa de animal se cruzan con miembros masculinos de la segunda cepa de animal. Tal y como se usa en la presente memoria, los miembros respectivos de la primera y segunda cepas de animales son compañeros de reproducción de una pareja de reproducción de animales roedores.
- En otro aspecto más, la presente invención proporciona una pareja de reproducción de animales roedores, que comprende: (1) un primer compañero de reproducción que comprende un transgén de fertilidad que se puede disrumir que comprende un gen de fertilidad que se puede disrumir como se ha descrito anteriormente y en otro lugar de la presente memoria, que se puede disrumir con una molécula disruptora del gen de fertilidad, en donde el gen de fertilidad que se puede disrumir está conectado operativamente a un promotor, y (2) un segundo compañero de reproducción que comprende un transgén disruptor que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica la molécula disruptora del gen de fertilidad ("una secuencia de nucleótidos disruptora"), en donde la secuencia de nucleótidos disruptora está unida operativamente a un promotor. En algunas realizaciones, la molécula disruptora del gen de fertilidad es una recombinasa y el gen de fertilidad que se puede disrumir está conectado operativamente a

sitios de reconocimiento de recombinasa que median la disrupción del gen de fertilidad que se puede disrumpir en presencia de la recombinasa. En otras realizaciones, la molécula disruptora del gen de fertilidad es una molécula de ARN inhibidor que inhibe la expresión del gen de fertilidad que se puede disrumpir, de forma adecuada, por la supresión antisentido o interferencia de ARN. En otras realizaciones más, la molécula disruptora del gen de fertilidad es un anticuerpo que es inmuno-interactivo con un producto polipeptídico del gen de fertilidad que se puede disrumpir.

En algunas realizaciones, la secuencia de nucleótidos disruptora se puede expresar condicionalmente y, en ejemplos ilustrativos de este tipo, el transgén disruptor comprende un elemento modulador de la expresión unido operativamente a la secuencia de nucleótidos disruptora, en donde el elemento inhibe condicionalmente la expresión de la secuencia de nucleótidos disruptora. Por ejemplo, el elemento modulador de la expresión puede inhibir la transcripción de la secuencia de nucleótidos disruptora bajo una primera condición y la disrupción del elemento modulador de la expresión puede permitir o aumentar la transcripción de la secuencia de nucleótidos disruptora bajo una segunda condición. En algunas realizaciones, el elemento modulador de la expresión comprende una secuencia de nucleótidos inhibidora (p. ej., un terminador de la transcripción) que inhibe la expresión de la secuencia de nucleótidos disruptora y que está unida operativamente a sitios de reconocimiento de recombinasa, en donde los sitios de reconocimiento de recombinasa median la disrupción de la secuencia de nucleótidos inhibidora en presencia de una recombinasa. En ejemplos ilustrativos de este tipo, el primer compañero de reproducción comprende un transgén activador que estimula o aumenta la expresión de la secuencia de nucleótidos disruptora, que comprende una secuencia codificadora para la recombinasa, conectada operativamente a un promotor.

En algunas realizaciones, el primer compañero de reproducción es hembra y el segundo compañero de reproducción es macho.

De forma adecuada, el primer compañero de reproducción es homocigoto para el transgén activador y/o el segundo compañero de reproducción es homocigoto para el transgén disruptor.

En un aspecto relacionado, la presente invención proporciona una pareja de reproducción de animales roedores, que comprende: (1) un primer compañero de reproducción que comprende un transgén que se puede disrumpir que comprende un gen de fertilidad que se puede disrumpir que está unido operativamente a un promotor y a sitios de reconocimiento de recombinasa que median la disrupción del gen de fertilidad en presencia de una recombinasa; y (2) un segundo compañero de reproducción que comprende un transgén disruptor que comprende una secuencia de nucleótidos disruptora que codifica una molécula disruptora del gen de fertilidad, que está conectada operativamente a un promotor, en donde la molécula disruptora del gen de fertilidad comprende la recombinasa. En algunas realizaciones, el primer compañero de reproducción es hembra y el segundo compañero de reproducción es macho.

En algunas realizaciones, el primer compañero de reproducción es homocigoto para el transgén que se puede disrumpir y/o el segundo compañero de reproducción es homocigoto para el transgén disruptor.

En algunas realizaciones, la pareja de reproducción de animales roedores comprende: (1) un primer compañero de reproducción que comprende un primer transgén que se puede disrumpir que comprende un gen de fertilidad que se puede disrumpir conectado operativamente a un promotor y a primeros sitios de reconocimiento de recombinasa, que median la disrupción del gen de fertilidad que se puede disrumpir en presencia de una primera recombinasa, y un primer transgén disruptor que comprende una secuencia codificadora para una segunda recombinasa unido operativamente a un promotor, en donde la segunda recombinasa reconoce específicamente los segundos sitios de reconocimiento de recombinasa, y (2) un segundo compañero de reproducción que comprende un segundo transgén que se puede disrumpir que comprende un gen de fertilidad que se puede disrumpir conectado operativamente a un promotor y a segundos sitios de reconocimiento de recombinasa, que median la disrupción del gen de fertilidad que se puede disrumpir en presencia de la segunda recombinasa, y un segundo transgén disruptor que comprende una secuencia codificadora para la primera recombinasa unido operativamente a un promotor, en donde la primera recombinasa reconoce específicamente los primeros sitios de reconocimiento de recombinasa. De forma adecuada, el primer compañero de reproducción es homocigoto para el primer transgén que se puede disrumpir y el primer transgén disruptor y/o el segundo compañero de reproducción es homocigoto para el segundo transgén que se puede disrumpir y el segundo transgén disruptor.

En otro aspecto relacionado, la presente invención proporciona una pareja de reproducción de animales roedores, que comprende: (1) un primer compañero de reproducción que comprende un gen de fertilidad que se puede disrumpir; y (2) un segundo compañero de reproducción que comprende un transgén disruptor que comprende una secuencia de nucleótidos disruptora, que está unida operativamente a un promotor, y que codifica una molécula de ARN inhibidor (p. ej., ARN antisentido, ARNsi, ARNsh, etc.) que inhibe la expresión del gen de fertilidad que se puede disrumpir. En algunas realizaciones, la secuencia de nucleótidos disruptora se puede expresar condicionalmente y, en ejemplos ilustrativos de este tipo, el transgén disruptor comprende un elemento modulador de la expresión unido operativamente a la secuencia de nucleótidos disruptora, en donde el elemento inhibe condicionalmente la expresión de la secuencia de nucleótidos disruptora. Por ejemplo, el elemento modulador de la expresión puede inhibir la transcripción de la secuencia de nucleótidos disruptora bajo una primera condición y la disrupción del elemento modulador de la expresión puede permitir o aumentar la transcripción de la secuencia de nucleótidos disruptora bajo una segunda condición. En algunas realizaciones, el elemento modulador de la expresión comprende una secuencia de nucleótidos inhibidora (p. ej., un terminador de la transcripción) que inhibe la expresión de la secuencia de nucleótidos disruptora y que está

unida operativamente a sitios de reconocimiento de recombinasa, en donde los sitios de reconocimiento de recombinasa median la disrupción de la secuencia de nucleótidos inhibidora en presencia de una recombinasa. En ejemplos ilustrativos de este tipo, el segundo compañero de reproducción comprende un transgén activador que comprende una secuencia codificadora para la recombinasa, conectada operativamente a un promotor. El gen de fertilidad que se puede disrumpir del segundo compañero de reproducción es, de forma adecuada, un gen de tipo salvaje. En algunas realizaciones, el primer compañero de reproducción es hembra y el segundo compañero de reproducción es macho.

Por tanto, en algunas realizaciones, la pareja de reproducción de animales roedores comprende: (1) un primer compañero de reproducción que comprende un gen de fertilidad que se puede disrumpir conectado operativamente a un promotor y un transgén activador que comprende una secuencia codificadora para una recombinasa unido operativamente a un promotor; y (2) un segundo compañero de reproducción que comprende un transgén disruptor que comprende una secuencia de nucleótidos disruptora que codifica una molécula de ARN inhibidor (p. ej., ARN antisentido, ARNsi, ARNsh, etc.) que inhibe la expresión del gen de fertilidad que se puede disrumpir, en donde la secuencia de nucleótidos disruptora está unida operativamente a un promotor y a un elemento modulador de la expresión que comprende una secuencia de nucleótidos inhibidora (p. ej., un terminador de la transcripción) que inhibe la expresión de la secuencia de nucleótidos disruptora en ausencia de la recombinasa y que está unida operativamente a sitios de reconocimiento de recombinasa que median la disrupción de la secuencia de nucleótidos inhibidora en presencia de la recombinasa. De forma adecuada, el primer compañero de reproducción es homocigoto para el transgén activador y/o el segundo compañero de reproducción es homocigoto para el transgén disruptor. En algunas realizaciones, el primer compañero de reproducción es hembra y el segundo compañero de reproducción es macho.

En otro aspecto relacionado más, la presente invención proporciona una pareja de reproducción de animales roedores, que comprende: (1) un primer compañero de reproducción que comprende un gen de fertilidad que se puede disrumpir; y (2) un segundo compañero de reproducción que comprende un transgén disruptor que comprende una secuencia de nucleótidos disruptora, que codifica un anticuerpo que es inmuno-interactivo con un producto polipeptídico del gen de fertilidad que se puede disrumpir, y que está unida operativamente a un promotor. En algunas realizaciones, la secuencia de nucleótidos disruptora se puede expresar condicionalmente y, en ejemplos ilustrativos de este tipo, el transgén disruptor comprende un elemento modulador de la expresión unido operativamente a la secuencia de nucleótidos disruptora, en donde el elemento inhibe condicionalmente la expresión de la secuencia de nucleótidos disruptora. Por ejemplo, el elemento modulador de la expresión puede inhibir la transcripción de la secuencia de nucleótidos disruptora bajo una primera condición y la disrupción del elemento modulador de la expresión puede permitir o aumentar la transcripción de la secuencia de nucleótidos disruptora bajo una segunda condición. En algunas realizaciones, el elemento modulador de la expresión comprende una secuencia de nucleótidos inhibidora (p. ej., un terminador de la transcripción) que inhibe la expresión de la secuencia de nucleótidos disruptora y que está unida operativamente a sitios de reconocimiento de recombinasa, en donde los sitios de reconocimiento de recombinasa median la disrupción de la secuencia de nucleótidos inhibidora en presencia de una recombinasa. En ejemplos ilustrativos de este tipo, el primer compañero de reproducción comprende un transgén activador que comprende una secuencia codificadora para la recombinasa, conectada operativamente a un promotor. El gen de fertilidad que se puede disrumpir del segundo compañero de reproducción es, de forma adecuada, un gen de tipo salvaje. En algunas realizaciones, el primer compañero de reproducción es hembra y el segundo compañero de reproducción es macho.

Por tanto, en algunas realizaciones, la pareja de reproducción de animales roedores comprende: (1) un primer compañero de reproducción que comprende un gen de fertilidad que se puede disrumpir conectado operativamente a un promotor y un transgén activador que comprende una secuencia codificadora para una recombinasa unido operativamente a un promotor; y (2) un segundo compañero de reproducción que comprende un transgén disruptor que comprende una secuencia de nucleótidos disruptora que codifica un anticuerpo que es inmuno-interactivo con un producto polipeptídico del gen de fertilidad, en donde la secuencia de nucleótidos disruptora está unida operativamente a un promotor y a un elemento modulador de la expresión que comprende una secuencia de nucleótidos inhibidora (p. ej., un terminador de la transcripción) que inhibe la expresión de la secuencia de nucleótidos disruptora en ausencia de una recombinasa y que está unida operativamente a sitios de reconocimiento de recombinasa que median la disrupción de la secuencia de nucleótidos inhibidora en presencia de la recombinasa. De forma adecuada, el primer compañero de reproducción es homocigoto para el transgén activador y/o el segundo compañero de reproducción es homocigoto para el transgén disruptor. En algunas realizaciones, el primer compañero de reproducción es hembra y el segundo compañero de reproducción es macho.

En otro aspecto, la presente invención proporciona métodos para producir un embrión huésped de roedor que comprende un gen de fertilidad disrumpido. Se describen métodos que generalmente comprenden o consisten esencialmente en: (a) cruzar un primer compañero de reproducción de una pareja de reproducción de animales roedores con un segundo compañero de reproducción de la pareja de reproducción, como se ha descrito anteriormente y en otro lugar de la presente memoria; y (b) producir un embrión de roedor preimplantación a partir de un miembro hembra de la pareja de reproducción, embrión que comprende en su línea germinal una disrupción del gen de fertilidad. En algunas realizaciones, los métodos comprenden además cultivar un embrión huésped de roedor en condiciones que permiten la formación del embrión huésped de roedor preimplantación. En algunas realizaciones, el primer compañero de reproducción es hembra y el segundo compañero de reproducción es macho. En algunas realizaciones, los métodos comprenden además introducir una célula pluripotente de roedor donante como se describe, por ejemplo, anteriormente y en otro lugar de la presente memoria en el embrión de roedor preimplantación. De forma adecuada,

la célula pluripotente comprende una modificación genética. En realizaciones específicas, la célula pluripotente es una célula pluripotente masculina.

En un aspecto relacionado, la presente invención proporciona un embrión huésped de roedor a partir de los métodos anteriores.

- 5 En la presente memoria se proporcionan métodos para producir un animal roedor quimérico. Estos métodos generalmente comprenden o consisten esencialmente en: (1) trasplantar un embrión de roedor preimplantación que comprende en su línea germinal una disrupción de un gen de fertilidad como se describe, por ejemplo, anteriormente y en otro lugar de la presente memoria y que comprende además una célula pluripotente heteróloga como se describe, por ejemplo, anteriormente y en otro lugar de la presente memoria; y (2) gestar el embrión huésped de roedor de (1)
- 10 en condiciones adecuadas para el desarrollo del embrión, generando de esta manera un animal roedor quimérico con un gen de fertilidad disrumpido y la modificación genética en su línea germinal. De forma adecuada, el animal roedor quimérico es un animal roedor quimérico macho.

En un aspecto relacionado, la presente invención proporciona un animal roedor quimérico a partir de estos métodos.

- 15 En la presente memoria se proporcionan métodos para producir un animal roedor que comprende una modificación genética en su genoma. Estos métodos generalmente comprenden o consisten esencialmente en: (1) trasplantar un embrión de roedor preimplantación que comprende en su línea germinal una disrupción de un gen de fertilidad como se describe, por ejemplo, anteriormente y en otro lugar de la presente memoria y que comprende además una célula pluripotente heteróloga como se describe, por ejemplo, anteriormente y en otro lugar de la presente memoria; (2)
- 20 gestar el embrión huésped de roedor de (1) en condiciones adecuadas para el desarrollo del embrión, generando de esta manera una camada que comprende el animal roedor quimérico con un gen de fertilidad disrumpido y la modificación genética en su línea germinal; (3) cruzar un animal roedor quimérico macho de la camada con un animal roedor hembra cognado que comprende en su genoma el gen de fertilidad que carece de una disrupción en el mismo, para producir un animal roedor que comprende la modificación genética cuando el animal roedor quimérico macho comprende células germinales o gametos derivados de la célula pluripotente heteróloga.

- 25 En un aspecto relacionado, la presente invención proporciona un animal roedor que comprende una modificación genética, a partir de los métodos anteriores.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un animal roedor (p. ej., un animal roedor sustituto o adoptivo) que tiene trasplantado en el mismo un embrión huésped de roedor preimplantación como se ha descrito ampliamente anteriormente y en otro lugar de la presente memoria.

- 30 Otro aspecto de la presente invención proporciona un animal roedor quimérico que se deriva de un embrión huésped de roedor preimplantación como se ha descrito ampliamente anteriormente y en otro lugar de la presente memoria.

Descripción breve de los dibujos

- La Figura 1 es una visión esquemática del vector de direccionamiento de inactivación condicional de Tsc22d3. Cajas azules: exones; neo: casete de neomicina para la selección en células ES; FRT: secuencia de reconocimiento para la eliminación de neo mediada por la recombinasa flp; loxP: secuencia de reconocimiento para la delección de exones
- 35 mediada por la recombinasa cre; amp: gen de resistencia a la ampicilina; ori: origen de la replicación.

- La Figura 2 es una representación esquemática que ilustra una Variante del Alelo A de ROSA26 diana. Ubic: promotor de ubiquitina humano; neo: casete de neomicina para la selección en células ES; cre: recombinase Cre; PARADA: elemento de "parada" transcripcional/traducciona; loxP: secuencia de reconocimiento para la delección de PARADA
- 40 mediada por la recombinasa Cre; pA: señal de poliadenilación; elemento disruptor: cualquier elemento que disrumpe la expresión de un gen de fertilidad o la función de su producto proteico (p. ej., ARNsh, anticuerpo).

- La Figura 3 es una representación esquemática que ilustra una Variante del Alelo B de ROSA26 diana. Ubic: promotor de ubiquitina humano; neo: casete de neomicina para la selección en células ES; cre: recombinase Cre; PARADA: elemento de "parada" transcripcional/traducciona; loxP: secuencia de reconocimiento para la delección de PARADA
- 45 mediada por la recombinasa Cre; pA: señal de poliadenilación; elemento disruptor: cualquier elemento que disrumpe la expresión de un gen de fertilidad o la función de su producto proteico (p. ej., ARNsh, anticuerpo).

- La Figura 4 es una representación esquemática que muestra una Variante del Alelo A de ROSA26 diana en la Descendencia. Ubic: promotor de ubiquitina humano; neo: casete de neomicina para la selección en células ES; cre: recombinase Cre; PARADA: elemento de "parada" transcripcional/traducciona; loxP: secuencia de reconocimiento
- 50 para la delección de PARADA mediada por la recombinasa Cre; pA: señal de poliadenilación; elemento disruptor: cualquier elemento que disrumpe la expresión de un gen de fertilidad o la función de su producto proteico (p. ej., ARNsh, anticuerpo).

- La Figura 5 es una representación fotográfica que muestra un ejemplo no limitativo de la primera camada de crías producida por una realización del método de la presente invención. Las crías mostradas en esta figura son las camadas completas de dos quimeras. Las quimeras se generaron sobre la base de blastocistos Tsc22d3 conKO/conKO. Todas
- 55

las crías muestran un color de pelaje blanco que se espera para los animales derivados de la célula ES dirigida.

La Figura 6 es una representación fotográfica que muestra un ejemplo representativo de un análisis por transferencia Southern para el genotipado. Las muestras de biopsia se lisaron y se digirieron con *Bam*HI. Los tamaños esperados son 17,5kb para el alelo wt y 9,7kb para el alelo diana. A045, A046, A049, A055, A077, A078, A065, A066, A056, A057, A058, A059, A064 y A074 se determinaron como wt/diana; A047, A048, A050, A076, A080, A067, A068, A069, A060, A070 y A075 se determinaron como wt/wt y A054, A079 y A070 no pudieron determinarse.

Descripción detallada de la invención

1. Definiciones

A no ser que se definan de otra forma, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado que el entendido comúnmente por los expertos en la técnica a la que pertenece la invención. Aunque pueden usarse cualesquiera métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente memoria en la práctica o ensayo de la presente invención, se describen los métodos y materiales preferidos. Para los propósitos de la presente invención, a continuación, se definen los siguientes términos.

Los artículos "un" y "una" se usan en la presente memoria para hacer referencia a uno o a más de uno (es decir, a al menos uno) del objeto gramatical del artículo. Como ejemplo, "un gen de fertilidad" significa un único gen de fertilidad o más de un gen de fertilidad.

Tal y como se usa en la presente memoria, "y/o" se refiere a y engloba cualquiera y todas las combinaciones posibles de uno más de los ítems enumerados asociados, así como la ausencia de combinaciones cuando se interpreta en la alternativa (o).

El término "anticuerpo" se usa para hacer referencia a cualquier molécula semejante a anticuerpo que tiene una región de unión a antígeno, e incluye fragmentos de anticuerpo tales como Fab', Fab, F(ab')₂, anticuerpos de dominio único (DAB), Fv, scFv (Fv de cadena única), y similares.

El término "antisentido" se refiere a una secuencia de nucleótidos cuya secuencia de residuos de nucleótidos está en la orientación inversa 5' a 3' en relación con la secuencia de residuos de desoxinucleótidos en la cadena con sentido de un dúplex de ADN. Una "cadena con sentido" de un dúplex de ADN se refiere a una cadena en un dúplex de ADN que se transcribe por una célula en su estado natural en un "ARNm con sentido". Por tanto, una secuencia "antisentido" es una secuencia que tiene la misma secuencia que la cadena no codificadora en un dúplex de ADN. El término "ARN antisentido" se refiere a un transcrito de ARN que es complementario a todo o parte de un transcrito primario diana o ARNm y que bloquea la expresión de un gen diana al interferir con el procesamiento, transporte y/o traducción de su transcrito primario o ARNm. La complementariedad de un ARN antisentido puede ser con cualquier parte del transcrito génico específico, en otras palabras, en la secuencia no codificadora en 5', secuencia no codificadora en 3', intrones, o la secuencia codificadora. Además, tal y como se usa en la presente memoria, el ARN antisentido puede contener regiones de secuencias de ribozimas que incrementan la eficacia del ARN antisentido para bloquear la expresión génica. "Ribozima" se refiere a un ARN catalítico e incluye endorribonucleasas específicas de secuencia. "Inhibición antisentido" se refiere a la producción de transcritos de ARN antisentido capaces de prevenir la expresión de la proteína diana.

El término "reproducir", tal y como se usa en la presente memoria, significa la unión de gametos masculinos y femeninos de manera que se produce la fertilización. Dicha unión puede llevarse a cabo por cruce (copulación) o por métodos artificiales *in vitro* o *in vivo*. Dichos métodos artificiales incluyen, pero no están limitados a, inseminación artificial, inseminación artificial asistida quirúrgicamente, fertilización *in vitro*, inyección de esperma intracitoplásmica, perforación de la zona pelúcida, cultivo *in vitro* de ovocitos fertilizados, transferencia ovárica y división ovárica.

"Células", "células huésped", "células huésped transformadas" y similares son términos que se refieren no solo a la célula objeto particular sino a la progenie o progenie potencial de dicha célula. Como pueden ocurrir determinadas modificaciones en las generaciones sucesivas debido bien a mutación o influencias medioambientales, dicha progenie puede, de hecho, no ser idéntica a la célula parental, pero aun así está incluida en el alcance del término tal y como se usa en la presente memoria.

Tal y como se usa en la presente memoria, el término "secuencia que actúa en *cis*" "o secuencia que regula en *cis*" o término similar debe tomarse con el significado de cualquier secuencia de nucleótidos que deriva de una secuencia genética expresable en donde la expresión de la secuencia genética está regulada, al menos en parte, por la secuencia de nucleótidos. Los expertos en la técnica serán conscientes de que una región que regula en *cis* puede ser capaz de activar, silenciar, aumentar, reprimir o alterar de otra forma el nivel de expresión y/o la especificidad de tipo celular y/o especificidad de desarrollo de cualquier secuencia génica estructural.

Por "secuencia codificadora", región codificadora y similares se quiere decir cualquier secuencia de ácido nucleico que contribuye al código del producto polipeptídico de un gen. Por el contrario, los términos "secuencia no codificadora" y "región no codificadora" se refieren a cualquier secuencia de ácido nucleico que no contribuye al código del producto polipeptídico de un gen.

Los términos "construcción" se usan en la presente memoria para hacer referencia a un gen o secuencia de ácido nucleico o segmento que comprende al menos dos secuencias de ácido nucleico o segmentos de especies que no combinan estas secuencias o segmentos en condiciones naturales, o secuencias o segmentos que están posicionados o unidos de una manera que no aparece normalmente en el genoma o nucleoma nativo del huésped no transformado.

5 Tal y como se usa en la presente memoria, polinucleótidos "complementarios" son aquellos que son capaces de hibridar por emparejamiento de bases según las reglas de complementariedad estándar de Watson-Crick. Específicamente, las purinas se emparejarán por bases con las pirimidinas para formar una combinación de guanina emparejada con citosina (G:C) y adenina emparejada bien con timina (A:T) en el caso del ADN, o adenina emparejada con uracilo (A: U) en el caso del ARN. Por ejemplo, la secuencia "A-G-T" se une a la secuencia complementaria "T-C-A". Se entiende que dos polinucleótidos pueden hibridar entre sí incluso si no son completamente o totalmente complementarios entre sí, siempre que cada uno tenga al menos una región que sea sustancialmente complementaria al otro. Los términos "complementario" o "complementariedad," tal y como se usan en la presente memoria, se refieren a la unión natural de polinucleótidos en condiciones permisivas de sal y temperatura por emparejamiento de bases. La complementariedad entre dos moléculas monocatenarias puede ser "parcial", donde solo se unen algunos de los nucleótidos, o puede ser completa, cuando existe una complementariedad total entre las moléculas monocatenarias bien a lo largo de la longitud completa de las moléculas o a lo largo de una parte o región de las moléculas monocatenarias. El grado de complementariedad entre cadenas de ácido nucleico tiene efectos significativos sobre la eficiencia y la fuerza de la hibridación entre cadenas de ácido nucleico. Tal y como se usa en la presente memoria, los términos "sustancialmente complementario" o "parcialmente complementario" significan que dos secuencias de ácido nucleico son complementarias al menos en aproximadamente un 50 %, 60 %, 70 %, 80 % o 90 % de sus nucleótidos. En algunas realizaciones, las dos secuencias de ácido nucleico pueden ser complementarias al menos en aproximadamente un 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de sus nucleótidos. Los términos "sustancialmente complementario" y "parcialmente complementario" también pueden significar que dos secuencias de ácido nucleico pueden hibridar en condiciones de astringencia alta y dichas condiciones son muy conocidas en la técnica.

25 A lo largo de esta memoria descriptiva, a no ser que el contexto requiera otra cosa, las palabras "comprenden", "comprende" y "que comprende" se entenderá que implican la inclusión de una etapa o elemento indicado o grupo de etapas o elementos, pero no la exclusión de cualquier otra etapa o elemento o grupo de etapas o elementos. Por tanto, el uso del término "que comprende" y similares indica que los elementos enumerados se requieren o son obligatorios, pero que otros elementos son opcionales y pueden o no estar presentes. Por "que consiste en" se quiere decir que incluye, y limitado a, lo que siga a la expresión "que consiste en". Por tanto, la expresión "que consiste en" indica que los elementos enumerados se requieren o son obligatorios, y que no pueden estar presentes otros elementos. Por "que consiste esencialmente en" se quiere decir que incluye cualesquiera elementos enumerados después de la expresión, y limitado a otros elementos que no interfieren con o contribuyen a, la actividad o acción especificada en la descripción de los elementos enumerados. Por tanto, la expresión "que consiste esencialmente en" indica que los elementos enumerados se requieren o son obligatorios, pero que otros elementos son opcionales y pueden estar presentes o no dependiendo de si afectan o no la actividad o acción de los elementos enumerados.

"Promotor constitutivo" se refiere a un promotor que dirige la expresión de una secuencia que se puede transcribir unida operativamente en muchos o todos los tejidos de un organismo.

40 El término "construcción" se refiere a una molécula genética recombinante incluyendo una o más secuencias de ácido nucleico aisladas de diferentes fuentes. Tal y como se usa en la presente memoria, el término "construcción de expresión", "construcción recombinante" o "construcción de ADN recombinante" se refiere a cualquier molécula de ácido nucleico recombinante tal como un plásmido, cósmido, virus, molécula de polinucleótido con replicación autónoma, fago, o molécula de ácido nucleico de ADN o ARN monocatenaria o bicatenaria lineal o circular, derivada de cualquier fuente, capaz de integración genómica o replicación autónoma, que comprende una molécula de ácido nucleico en la que una o más moléculas de ácido nucleico se han unido operativamente. Una "construcción de expresión" incluye generalmente al menos una secuencia de control unida operativamente a una secuencia de nucleótidos de interés. De esta manera, por ejemplo, los promotores de plantas en conexión operativa con las secuencias de nucleótidos que se van a expresar se proporcionan en construcciones de expresión para la expresión en una planta, parte de planta, órgano de planta y/o célula de planta. Se conocen métodos para introducir construcciones en una célula de una manera tal que se transcribe una molécula de polinucleótido que se puede transcribir en una molécula de ARNm funcional que se traduce y, por lo tanto, se expresa, como un producto proteico. También se pueden preparar construcciones para que sean capaces de expresar moléculas de ARN inhibidor con el fin, por ejemplo, de inhibir la traducción de una molécula de ARN específica de interés. Para la práctica de la presente invención, las composiciones y métodos convencionales para preparar y usar las construcciones y células huésped son muy conocidos para un experto en la técnica, véase, por ejemplo, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3ª edición, Volúmenes 1, 2, y 3. J. F. Sambrook, D. W. Russell, y N. Irwin, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2000.

60 Por "elemento de control" o "secuencia de control" se quiere decir secuencias de ácido nucleico (p. ej., ADN) que influyen en la expresión de una secuencia de nucleótidos unida operativamente (p. ej., transcripción, procesamiento o estabilidad del ARN, o traducción de la secuencia codificadora asociada). Las secuencias reguladoras incluyen secuencias potenciadoras, promotoras, líder de la traducción, intrones, y secuencias de señal de la poliadenilación. Los elementos de control o las secuencias de control pueden localizarse aguas arriba (secuencias no codificadoras en 5'), en, o aguas abajo (secuencias no codificadoras en 3') de una secuencia codificadora. Incluyen secuencias

naturales y sintéticas, así como secuencias que pueden ser una combinación de secuencias sintéticas y naturales. Por ejemplo, las secuencias de control que son adecuadas para la expresión de una secuencia de nucleótidos unida operativamente en células procariotas incluyen, por ejemplo, un promotor, y opcionalmente una secuencia que actúa en *cis*, tal como una secuencia operadora y un sitio de unión a ribosomas. Las secuencias de control que son adecuadas para las células eucariotas incluyen secuencias de control de la transcripción, tales como promotores, señales de poliadenilación, potenciadores de la transcripción, secuencias de control de la traducción, tales como potenciadores de la traducción, y sitios de unión a ribosoma internos (IRES), secuencias de ácido nucleico que modulan la estabilidad del ARN, así como secuencias de direccionamiento que dirigen a un producto codificado por un polinucleótido transcrito a un compartimento intracelular en una célula o al entorno extracelular. Las secuencias de control representativas incluyen secuencias naturales y sintéticas, así como secuencias que pueden ser una combinación de secuencias sintéticas y naturales.

Por "corresponde a" o "correspondiente a" se quiere decir una secuencia de ácido nucleico que presenta una identidad de secuencia sustancial con una secuencia de ácido nucleico de referencia (p. ej., al menos aproximadamente un 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 % o incluso hasta un 100 % de identidad de secuencia con toda o una parte de la secuencia de ácido nucleico de referencia) o una secuencia de aminoácidos que presenta una similitud o identidad de secuencia sustancial con una secuencia de aminoácidos de referencia (p. ej., al menos un 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 % o incluso hasta un 100 % de similitud o identidad de secuencia con toda o una parte de la secuencia de aminoácidos de referencia).

Los términos "cultivo", "cultivado" y "cultivar" se usan en la presente memoria indistintamente, para hacer referencia al proceso por el cual un embrión o células pluripotentes se crecen *in vitro*.

Los términos "disrupción" y "disruptivo", como se aplican a un ácido nucleico, se usan indistintamente en la presente memoria para hacer referencia a cualquier modificación genética que disminuye o elimina la expresión y/o la actividad funcional del ácido nucleico o un producto de expresión del mismo. Por ejemplo, la disrupción de un gen incluye en su alcance cualquier modificación genética que disminuye o elimina la expresión del gen y/o la actividad funcional de un producto génico correspondiente (p. ej., ARNm y/o proteína). Las modificaciones genéticas incluyen la inactivación completa o parcial, supresión, delección, interrupción, bloqueo, o regulación a la baja de un ácido nucleico (p. ej., un gen). Las modificaciones genéticas ilustrativas incluyen, pero no están limitadas a, desactivación génica, inactivación, mutación (p. ej., inserción, delección, mutaciones puntuales, o de cambio de marco que disrumen la expresión o actividad del producto génico), o el uso de ácidos nucleicos inhibidores (p. ej., ARN inhibidores, tales como ARN con sentido o antisentido, moléculas que median la interferencia de ARN, tales como ARNsi, ARNsh, miARN; etc.), polipéptidos inhibidores (p. ej., anticuerpos, compañeros de unión de polipéptidos, polipéptidos negativos dominantes, enzimas, etc.) o cualquier otra molécula que inhibe la actividad del gen de fertilidad o el nivel o actividad funcional de un producto de expresión del gen de fertilidad.

"Negativo dominante" se refiere a un producto génico que afecta adversamente, bloquea o suprime la función de un producto génico normal, de tipo salvaje, cuando se coexpresa con el producto génico de tipo salvaje en la misma célula incluso cuando la célula es heterocigota (de tipo salvaje y negativa dominante). La expresión del mutante negativo dominante da lugar generalmente a una disminución de la función normal del producto génico de tipo salvaje.

Tal y como se usa en la presente memoria, un "embrión en estadio temprano" engloba a todos los estadios del desarrollo embrionario que empieza después de la fertilización de un ovocito (es decir, un ovocito fertilizado) y se extiende a lo largo del estadio de 2 células, el estadio de 4 células, el estadio de 8 células, y la mórula (el embrión en estadio de 16 a 32 células). Como se define en la presente memoria, un embrión en estadio temprano no incluye el estadio de desarrollo de blástula. Por "blástula" se quiere decir el estadio de desarrollo embrionario caracterizado por el desarrollo de una bola hueca de células rodeada por una cavidad denominada el blastocelo. Un experto en la técnica reconocerá que la organización global de la blástula variará dependiendo del organismo. Por ejemplo, un "blastocisto" se refiere a un estadio de escisión de embrión de mamíferos caracterizado por una bola hueca de células compuesta por células trofoblasto externas y una masa celular interna.

Los términos "célula madre embrionaria" y célula ES se usan indistintamente en la presente memoria para hacer referencia a una célula que puede dar lugar a muchos tipos de células diferenciadas en un embrión o un adulto, incluyendo las células germinales. Las células ES engloban células cultivadas derivadas de embrión temprano caracterizadas porque dichas células pueden proliferar mientras mantienen la anaplasticidad (totipotencia). Generalmente, las células madre embrionarias son de una línea celular que se establece cultivando células de una masa celular interna que son células madre no diferenciadas, que existen en el interior del blastocito en un embrión temprano de un animal, de manera que las células mantienen la proliferación mientras se mantienen en su estado no diferenciado.

Tal y como se usa en la presente memoria, el término "célula germinal embrionaria", que también se refiere como una célula EG, se refiere a una célula cultivada derivada de una célula germinal primordial, que se caracteriza porque tiene la capacidad casi equivalente a la de la célula madre embrionaria anterior. Las células germinales embrionarias son de una línea celular que se establece cultivando células germinales primordiales obtenidas de un embrión de varios días a varias semanas después de la fertilización (por ejemplo, en el caso de un ratón, un embrión de

aproximadamente 8,5 días de edad), de manera que las células mantienen la proliferación mientras se mantienen en su estado no diferenciado.

Tal y como se usa en la presente memoria, los términos "codifican", "que codifican" y similares se refieren a la capacidad de un ácido nucleico de proporcionar otro ácido nucleico o un polipéptido. Por ejemplo, una secuencia de ácido nucleico se dice que "codifica" un polipéptido si puede transcribirse y/o traducirse para producir el polipéptido o si puede procesarse en una forma que puede transcribirse y/o traducirse para producir el polipéptido. Dicha secuencia de ácido nucleico puede incluir una secuencia codificadora o tanto una secuencia codificadora como una secuencia no codificadora. Por tanto, los términos "codifican", "que codifican" y similares incluyen un producto de ARN que se produce a partir de la transcripción de una molécula de ADN, una proteína que se produce a partir de la traducción de una molécula de ARN, una proteína que se produce a partir de la transcripción de una molécula de ADN para producir un producto de ARN y la traducción posterior del producto de ARN, o una proteína que se produce a partir de la transcripción de una molécula de ADN para proporcionar un producto de ARN, el procesamiento del producto de ARN para proporcionar un producto de ARN procesado (p. ej., ARNm) y la traducción posterior del producto de ARN procesado.

Tal y como se usa en la presente memoria, un "mamífero en peligro de extinción" pertenece a una población de mamíferos que está en riesgo de extinguirse porque hay pocos ejemplares, o está amenazada por el cambio de los parámetros ambientales o de depredación, tales como elefantes, felinos grandes y primates no humanos, incluyendo lobo gris, ualabí liebre con bandas, jaguar, elefante asiático, antílope saiga y rinocerontes blancos nortños (*Ceratotherium simum cottoni*).

El término "endógeno", en el contexto de un ácido nucleico o proteína, se refiere a una secuencia de ácido nucleico o segmento o a una secuencia de aminoácidos o segmento que se encuentra normalmente en un organismo huésped o célula huésped.

Los términos "gametos endógenos" y "células germinales endógenas", tal y como se usan en la presente memoria, se refieren a gametos y células germinales "que se originan o producen del interior" de un embrión huésped y excluyen a los gametos y células germinales en el embrión huésped que derivan de células pluripotentes donantes.

El término "expresión", con respecto a una secuencia génica, se refiere a la transcripción del gen y, según sea apropiado, a la traducción del transcrito de ARNm resultante a una proteína. Por tanto, como será evidente a partir del contexto, la expresión de una secuencia codificadora se produce a partir de la transcripción y la traducción de la secuencia codificadora. A la inversa, la expresión de una secuencia no codificadora se produce a partir de la transcripción de la secuencia no codificadora.

Tal y como se usa en la presente memoria, un "gen de fertilidad" se refiere a un gen que está implicado en la producción de descendencia o en la capacidad de concebir. Por tanto, la disrupción de un gen de fertilidad puede disminuir, alterar o suprimir la capacidad de un animal no humano de concebir o producir descendencia, dando lugar de esta manera a la infertilidad. La infertilidad resultante puede estar presente bien en machos o hembras. Los ejemplos no limitativos de infertilidad incluyen azoospermia; trastornos genéticos asociados con espermatogénesis defectuosa (p. ej., síndrome de Klinefelter y disgénesis gonadal); oligospermia, varicocele, y otros trastornos del esperma relacionados con la función alterada del esperma incluyendo, pero no limitado a, bajos recuentos de esperma, movilidad del esperma, y morfología del esperma; y disfunción ovulatoria (p. ej., síndrome del ovario poliquístico (PCOS) o anovulación crónica). Tal y como se usa en la presente memoria, un gen de fertilidad que se puede disrumpir (p. ej., por una molécula disruptora) se refiere como un "gen de fertilidad que se puede disrumpir".

Los términos "flanqueado por", "que flanquea" y similares, como se aplican a las relaciones entre dos o más secuencias de nucleótidos en construcciones de direccionamiento de la invención, no requieren que una de estas secuencias de nucleótidos esté localizada directamente adyacente a otra secuencia de nucleótidos. Por ejemplo, tres secuencias de nucleótidos (A, B y C) pueden estar flanqueadas por secuencias de sitios diana de recombinación, o las secuencias de sitios diana de recombinación pueden estar flanqueando a estas secuencias de referencia, incluso si la secuencia de referencia B no es directamente adyacente a estos sitios. Por consiguiente, el término "flanqueado por" es equivalente a estar "en medio" de los sitios de recombinación y el término "que flanquea" es equivalente a que los sitios de recombinación estén en 5' o 3' de una secuencia de referencia.

"Gen funcional" se refiere a un gen que produce un producto génico que lleva a cabo una función definible. En realizaciones específicas, el gen funcional es un gen endógeno.

Los términos "gameto" y "gametos" se usan indistintamente y se refieren a células germinales secundarias, incluyendo ovocitos, ova, espermatozoides y esperma.

Tal y como se usa en la presente memoria, el término "gen" se refiere a una molécula de ácido nucleico que puede ser usada para producir ARNm, ARN antisentido, ARNsi, ARNsh, miARN, y similares. Los genes pueden o no ser usados para producir una proteína funcional. Los genes pueden incluir tanto regiones codificadoras como no codificadoras (p. ej., intrones, elementos reguladores, promotores, potenciadores, secuencias de terminación y regiones no traducidas en 5' y 3').

El término "modificación genética" se refiere a un cambio genético permanente o transitorio inducido en una célula

después de la introducción de nuevo ácido nucleico (es decir, un ácido nucleico exógeno para la célula). El cambio genético ("modificación") puede conseguirse por la incorporación del nuevo ácido nucleico en el genoma de la célula huésped, o por el mantenimiento transitorio o estable del nuevo ácido nucleico como un elemento extracromosómico. Cuando la célula es una célula eucariota, un cambio genético permanente puede lograrse por la introducción del ácido nucleico en el genoma de la célula. La modificación genética incluye en su alcance cambios genéticos de activación e inactivación.

Los términos "célula germinal", "células germinales" y "línea germinal" se usan indistintamente y se refieren a células que dan lugar a gametos. Estos términos incluyen células germinales primordiales, células positivas para fosfatasa alcalina, ovocitos primarios, oogonia, células madre espermatogoniales, espermatogonia y espermatocitos primarios.

El término "heterólogo" se refiere a objetos (p. ej., moléculas de ácido nucleico, polipéptidos, células, tejidos, etc.) que no se originan de un organismo, tejido o célula particular. Por ejemplo, una "célula heteróloga", incluyendo una "célula pluripotente heteróloga", se refiere a una célula que no se encuentra normalmente o naturalmente en un organismo o tejido de un organismo.

Los términos "polinucleótido heterólogo", "polinucleótido extraño", "polinucleótido exógeno" y similares se usan indistintamente en la presente memoria para describir material genético que se ha o se va a introducir artificialmente en un genoma de un organismo huésped y que se transmite a la progenie de ese huésped. El polinucleótido heterólogo puede incluir secuencias génicas encontradas en un organismo en el que se introduce o se va a introducir, siempre que el polinucleótido introducido contenga alguna modificación (p. ej., una mutación puntual, la presencia de un gen marcador seleccionable, la presencia de un sitio loxP, etc.) en relación con el polinucleótido natural. Un polinucleótido heterólogo puede comprender una secuencia de ácido nucleico que puede ser transcrita en ARN y opcionalmente, traducida y/o expresada en condiciones apropiadas. En algunas realizaciones, se transcribe en una molécula que interfiere con la transcripción o traducción (p. ej., molécula antisentido) o media la interferencia de ARN (p. ej., ARNsi o ARNsh). En algunas realizaciones, el polinucleótido heterólogo comprende una secuencia codificadora para un péptido o polipéptido. En algunas realizaciones, el polinucleótido heterólogo comprende un casete de direccionamiento para introducir una modificación genética en un genoma.

Los términos "polipéptido heterólogo", "polipéptido extraño" y "polipéptido exógeno" se usan indistintamente para hacer referencia a cualquier péptido o polipéptido que está codificado por un "polinucleótido heterólogo", "polinucleótido extraño" y "polinucleótido exógeno", como se ha definido anteriormente.

El término "célula huésped" se refiere a una célula en la que se introduce una construcción o construcción de la invención. Las células huésped de la invención incluyen, pero no necesariamente están limitadas a, células bacterianas, de levadura, animales (incluyendo animales vertebrados), de insecto y de planta. Las células huésped pueden ser unicelulares, o pueden crecerse en cultivo tisular como cultivos líquidos, monocapas o similares. Las células huésped también pueden derivar directamente o indirectamente de tejidos o pueden existir en un organismo incluyendo animales. En realizaciones específicas, la célula huésped es una célula huésped de animal, particularmente una célula huésped de animal vertebrado, incluyendo células huésped de mamíferos.

La referencia en la presente memoria a "inmuno-interactivo" incluye la referencia a cualquier interacción, reacción, u otra forma de asociación entre moléculas y, en particular, donde una de las moléculas es, o mimetiza, un componente del sistema inmune.

El término "*knock-in*" generalmente se refiere a un polinucleótido heterólogo o extraño que se ha insertado en un genoma a través de recombinación homóloga. El polinucleótido *knock-in* puede ser una forma mutante de un gen o parte de gen que reemplaza el gen o parte de gen endógeno, de tipo salvaje. Dichas mutaciones incluyen inserciones de secuencias heterólogas, delecciones, mutaciones puntuales, mutaciones de marco y cualesquiera otras mutaciones que puedan evitar, disrumpir o alterar la expresión génica normal. Por tanto, un animal "*knock-in*", tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a un animal modificado genéticamente en el que se inserta un polinucleótido heterólogo o extraño en el genoma de un animal o en el que se reemplaza un gen específico o parte del mismo del genoma de un animal por un gen o secuencia de ADN extraña. Un "*knock-in* condicional" incluye en su alcance un polinucleótido heterólogo o extraño que se ha insertado en un genoma a través de recombinación homóloga y que incita una actividad (p. ej., la regulación de la transcripción o la traducción, la producción de una secuencia de nucleótidos incluyendo una secuencia codificadora y/o no codificadora, etc.) en un estadio de desarrollo designado o bajo condiciones ambientales particulares. Un "vector de *knock-in* condicional" es un vector que incluye un gen o parte del mismo heterólogo o extraño que puede insertarse en un genoma a través de recombinación homóloga y que puede incitar una actividad (p. ej., la regulación de la transcripción o la traducción, la producción de una secuencia de nucleótidos incluyendo una secuencia codificadora y/o no codificadora, etc.) en un estadio de desarrollo designado o bajo condiciones ambientales particulares.

Por "*knock-out*" se quiere decir la inactivación o disrupción de un gen, que disminuye, suprime o inhibe de otra manera el nivel o actividad funcional de un producto de expresión de ese gen. Un animal "*knock-out*" se refiere a un animal modificado genéticamente en el que un gen está disrumpido. Un "*knock-out* condicional" se refiere a un gen que está disrumpido en condiciones específicas, tal como un gen que está disrumpido en un patrón específico de tejido o específico temporal. Un "vector de *knock-out* condicional" es un vector que incluye un gen que puede estar disrumpido

en condiciones específicas.

Por "gen marcador" se quiere decir un gen que imparte un fenotipo distintivo a las células que expresan el gen marcador y, por tanto, permite distinguir a dichas células transformadas de las células que no tienen el marcador. Un gen marcador seleccionable confiere un rasgo por el que se puede "seleccionar" sobre la base de la resistencia a un agente selectivo (p. ej., un herbicida, antibiótico, radiación, calor, u otro tratamiento que daña a las células no transformadas). Un gen marcador que se puede cribar (o gen informador) confiere un rasgo que puede identificarse a través de la observación o el ensayo, es decir, por "cribado" (p. ej., β -glucuronidasa, luciferasa, proteína verde fluorescente u otra actividad que no está presente en las células no transformadas).

El término "microARN" o "miARN" se refiere a moléculas de ARN pequeñas, no codificadoras, que se han encontrado en un diverso conjunto de eucariotas, incluyendo plantas. Los precursores del miARN comparten una estructura secundaria característica, formando ARN "en horquilla" cortos. El término "miARN" incluye secuencias procesadas, así como transcritos primarios largos correspondientes (pri-miARN) y precursores procesados (pre-miARN). Los estudios genéticos y bioquímicos han indicado que los miARN se procesan en sus formas maduras por Dicer, una nucleasa de la familia de las RNasa III, y funcionan a través de la interferencia mediada por ARN (ARNi) y rutas relacionadas para regular la expresión de genes diana (Hannon, 2002, *Nature* 418, 244-251; Pasquinelli, *et al.*, 2002, *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* 18, 495-513). Los miARN pueden estar configurados para permitir la manipulación experimental de la expresión génica en células como "ARN en horquilla cortos" sintéticos que desencadenan el silenciamiento (ARNsh) (Paddison *et al.*, 2002, *Cancer Cell* 2, 17-23). El silenciamiento por los ARNsh implica la maquinaria de ARNi y se correlaciona con la producción de ARN pequeños de interferencia (ARNsi), que son una firma de ARNi.

Tal y como se usa en la presente memoria, una molécula de ácido nucleico "natural" se refiere a una molécula de ARN o ADN que tiene una secuencia de nucleótidos que aparece en la naturaleza. Por ejemplo, una molécula de ácido nucleico natural puede codificar una proteína que aparece en la naturaleza.

El término "secuencia no codificadora" se refiere a cualquier secuencia de ácido nucleico que no contribuye al código del producto polipeptídico de un gen.

El término "animal no humano" significa un animal, excluyendo los seres humanos, y se pretende que incluya cualquier vertebrado, tales como mamíferos, pájaros, reptiles, anfibios y peces. Los mamíferos adecuados incluyen roedores, primates no humanos, equinos tales como caballos, ovejas, cabras, lagomorfos tales como conejos, perros, gatos, ganado, animales del zoo, así como mamíferos en peligro de extinción o exóticos. En algunas realizaciones, los animales no humanos se seleccionan de la familia de roedores incluyendo rata y ratón. En realizaciones específicas, el animal roedor es un ratón.

Por "nucleoma" se quiere decir el complemento de ácido nucleico total e incluye el genoma, moléculas de ácido nucleico extracromosómico y todas las moléculas de ARN tales como ARNm, ARN nuclear heterogéneo (ARNhn), ARN nuclear pequeño (ARNsn), ARN nucleolar pequeño (ARNsno), ARN citoplásmico pequeño (ARNsc), ARN ribosomal (ARNr), ARN de control de la traducción (ARNtc), ARN de transferencia (ARNt), ARNe, ARN complementario de interferencia de ARN mensajero (ARNmic) o ARN de interferencia (ARNi), ARN de cloroplastos o plástidos (ARNcp) y ARN mitocondrial (ARNmt).

Los términos "conectado operativamente", "unido operativamente", "en unión operativa", "en conexión operativa" y similares se usan en la presente memoria para hacer referencia a la unión de elementos de polinucleótidos en una relación funcional. Un ácido nucleico está "unido operativamente" cuando se pone en una relación funcional con otra secuencia de ácido nucleico. Por ejemplo, un sitio de reconocimiento de recombinasa está conectado operativamente a un casete de direccionamiento cuando está lo suficientemente próximo como para facilitar la recombinación entre el casete de direccionamiento y un sitio diana en el genoma de la célula huésped. En algunas realizaciones, el sitio de reconocimiento de recombinasa está localizado a no más de 10 kb, 9 kb, 8 kb, 7 kb, 6 kb, 5 kb, 4 kb, 3 kb, 2 kb, 1 kb, 900 pb, 800 pb, 700 pb, 600 pb, 500 pb, 400 pb, 300 pb, 200 pb, 100 pb, 90 pb, 80 pb, 70 pb, 60 pb, 50 pb, 40 pb, 30 pb, 20 pb o 10 pb del casete de direccionamiento. En otras realizaciones, "conexión operativa" y similares se refieren al posicionamiento de una secuencia que se puede transcribir bajo el control regulador de un promotor, que controla la transcripción y opcionalmente la traducción de la secuencia. En la construcción de combinaciones de promotor heterólogo/secuencia que se puede transcribir, es deseable generalmente posicionar la secuencia genética o promotor a una distancia del sitio de inicio de la transcripción génica que es aproximadamente la misma que la distancia entre esa secuencia genética o promotor y el gen que controla en su entorno natural; es decir, el gen del que se deriva la secuencia genética o promotor. Como se conoce en la técnica, alguna variación en esta distancia puede acomodarse sin pérdida de función. De manera similar, el posicionamiento deseable de otro elemento de control con respecto a una secuencia de ácido nucleico o gen heterólogo que se va a poner bajo su control se define por el posicionamiento del elemento en su entorno natural; es decir, los genes de los que deriva. Estos términos también incluyen en su alcance uniones o conexiones operativas entre un promotor y una secuencia que se puede transcribir en las que un elemento modulador de la expresión se usa para inhibir la transcripción de la secuencia que se puede transcribir bajo una primera condición y en las que la disrupción del elemento modulador de la expresión se usa para permitir o aumentar la transcripción de la secuencia que se puede transcribir bajo una segunda condición.

Tal y como se usa en la presente memoria, el término "silenciamiento génico posterior a la transcripción" (PTGS) se

refiere a una forma de silenciamiento génico en la que el mecanismo inhibidor ocurre después de la transcripción. Esto puede dar lugar bien a un nivel estacionario disminuido de una diana de ARN específico o a la inhibición de la traducción (Tuschl *et al.*, 2001, *ChemBiochem* 2: 239-245). En la bibliografía, los términos interferencia de ARN (ARNi) y cosupresión posterior a la transcripción se usan frecuentemente para indicar el silenciamiento génico posterior a la transcripción.

- 5 El término "pluripotente" se refiere a la capacidad de una célula de diferenciarse en varios tipos celulares diferenciados que están presentes en un organismo adulto (p. ej., animal no humano). Una célula pluripotente está restringida en su capacidad de diferenciación en comparación con una célula totipotente. Las células pluripotentes incluyen, pero no están restringidas a, células madre capaces de diferenciarse en células germinales, tales como células ES, células madre de epiblastos (EpiSC o célula madre epi), células germinales embrionarias (EG) y células madre pluripotentes inducidas (iPS). El término "célula pluripotente" incluye células pluripotentes modificadas genéticamente.

El término "polinucleótido" o "ácido nucleico", tal y como se usa en la presente memoria, designa ARNm, ARN, ARNc, ADNc, ARNi, ARNsi, ARNsh, miARN o ADN. El término se refiere típicamente a oligonucleótidos mayores de 30 nucleótidos de longitud.

- 15 "Polipéptido", "péptido" y "proteína" se usan indistintamente en la presente memoria para hacer referencia a un polímero de residuos de aminoácidos y a variantes y análogos sintéticos de los mismos. Por tanto, estos términos se aplican a polímeros de aminoácidos en los que uno o más residuos de aminoácidos es un aminoácido sintético, no natural, tal como un análogo químico de un aminoácido natural correspondiente, así como a polímeros de aminoácidos naturales.

Los términos "progenie", "progenie del animal no humano transgénico" y similares se refieren a cualquiera y toda la descendencia de cada generación posterior a los animales no humanos transformados originalmente.

- 20 Por "promotor" se quiere decir una región de ADN, que controla al menos en parte el inicio y nivel de la transcripción. La referencia en la presente memoria a un "promotor" debe tomarse en su contexto más amplio e incluye las secuencias reguladoras de la transcripción de un gen genómico clásico, incluyendo una caja TATA y secuencias de caja CCAAT, así como elementos reguladores adicionales (es decir, secuencias activadoras, potenciadores y silenciadores) que alteran la expresión génica en respuesta a estímulos de desarrollo y/o ambientales, o de una manera específica de tejido o específica del tipo de célula. Un promotor está posicionado habitualmente, pero no necesariamente aguas arriba o en 5' de una secuencia que se puede transcribir (p. ej., una secuencia codificadora o una secuencia que codifica un ARN funcional), cuya expresión regula. Además, los elementos reguladores que comprenden un promotor están posicionados habitualmente en 2 kb del sitio de inicio de la transcripción del gen. Los promotores según la invención pueden contener elementos reguladores específicos adicionales, localizados más distales del sitio de inicio para aumentar adicionalmente la expresión en una célula, y/o para alterar el momento o capacidad de inducción de la expresión de un gen estructural al que está conectado operativamente. El término "promotor" también incluye en su alcance promotores inducibles, represibles y constitutivos, así como promotores mínimos. Los promotores mínimos se refieren típicamente a elementos mínimos de control de la expresión que son capaces de iniciar la transcripción de una secuencia de ADN seleccionada a la que están unidos operativamente. En algunos ejemplos, un promotor mínimo no es capaz de iniciar la transcripción en ausencia de elementos reguladores adicionales (p. ej., potenciadores u otros elementos reguladores que actúan *en cis*) por encima de los niveles basales. Un promotor mínimo consiste frecuentemente en una caja TATA o caja semejante a TATA. En la bibliografía se conocen numerosas secuencias de promotores mínimos. Por ejemplo, los promotores mínimos pueden seleccionarse de una amplia variedad de secuencias conocidas, incluyendo regiones promotoras de fos, CMV, SV40 e IL-2, entre muchas otras. Se proporcionan ejemplos ilustrativos que usan un promotor mínimo de CMV o un promotor mínimo del gen de IL2 (-72 a +45 con respecto al sitio de inicio; Siebenlist, 1986).

- 45 Tal y como se usa en la presente memoria, "especie rara o en peligro de extinción" incluye, pero no está limitada a, cualquier animal enumerado por cualquier organización, como que está amenazado o en peligro de extinción, o cualquier animal cuya población, o hábitat, está amenazado, o cualquier animal que se cría deseablemente en cautividad. Por ejemplo, las listas de especies en peligro de extinción pueden encontrarse en U.S. Fish and Wildlife Service, Endangered Species Program o enumeradas en Endangered Species Act (ESA).

Por "sitio de reconocimiento de recombinasa" (RRS) se quiere decir un sitio o secuencia de ácido nucleico al que se une o con el que interacciona de otra forma una recombinasa. Dicha unión o interacción puede ser directa o indirecta.

- 50 El término "promotor regulable" se refiere a promotores que dirigen la expresión génica no constitutivamente, sino de una manera regulada temporalmente y/o espacialmente, e incluyen tanto promotores específicos de tejido como inducibles. Incluyen secuencias naturales y sintéticas, así como secuencias que pueden ser una combinación de secuencias sintéticas y naturales. Los diferentes promotores pueden dirigir la expresión de un gen en diferentes tejidos o tipos de células, o en diferentes estadios del desarrollo, o en respuesta a diferentes condiciones ambientales. Constantemente se están descubriendo nuevos promotores de diversos tipos útiles en células huésped. Como en la mayoría de los casos no se han definido completamente los límites exactos de las secuencias reguladoras, los fragmentos de ácido nucleico de diferentes longitudes pueden tener una actividad promotora idéntica.

Tal y como se usan en la presente memoria, los términos "interferencia de ARN" y "ARNi" se refieren a un proceso específico de secuencia por el que una molécula diana (p. ej., un gen, proteína o ARN diana) se regula a la baja mediante

la regulación a la baja de la expresión. Sin estar ligado a un mecanismo específico, como entienden actualmente los expertos en la técnica, el ARNi implica la degradación de moléculas de ARN, p. ej., moléculas de ARNm en una célula, catalizada por un complejo enzimático de silenciamiento inducido por ARN (RISC). El ARNi está presente naturalmente en las células para eliminar los ARN extraños (p. ej., ARN virales) desencadenado por fragmentos de ARNds escindidos de ARNds más largos que dirigen el mecanismo de degradación a otras secuencias de ARN que tienen secuencias muy homólogas. Como se practica como una tecnología, el ARNi puede iniciarse por la intervención humana para reducir o incluso silenciar la expresión de genes diana usando bien ARNds sintetizados exógenamente o ARNds transcritos en la célula (p. ej., sintetizados como una secuencia que forma una estructura en horquilla corta).

Tal y como se usa en la presente memoria, los términos "ARN de interferencia pequeño" y "ARN de interferencia corto" ("ARNsi") se refieren a una molécula de ARN corta, generalmente una molécula de ARN bicatenario de aproximadamente 10-50 nucleótidos de longitud (el término "nucleótidos" incluyendo análogos de nucleótidos), preferiblemente entre aproximadamente 15-25 nucleótidos de longitud. En la mayor parte de los casos, el ARNsi tiene una longitud de 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, o 25 nucleótidos. Dicho ARNsi puede tener extremos protuberantes (p. ej., protuberancias en 3' de 1, 2, o 3 nucleótidos (o análogos de nucleótidos). Dicho ARNsi puede mediar la interferencia de ARN.

Tal y como se usa en conexión con la presente invención, el término "ARNsh" se refiere a una molécula de ARN que tiene una estructura de tallo-bucle. La estructura de tallo-bucle incluye dos secuencias mutuamente complementarias, en las que las orientaciones respectivas y el grado de complementariedad permiten el emparejamiento por bases entre las dos secuencias. Las secuencias mutuamente complementarias están unidas por una región de bucle, produciéndose el bucle por una ausencia de emparejamiento por bases entre los nucleótidos (o análogos de nucleótidos) en la región de bucle.

El término "identidad de secuencia", tal y como se usa en la presente memoria, se refiere al grado en el que las secuencias son idénticas en una base de nucleótido a nucleótido o en una base de aminoácido a aminoácido sobre una ventana de comparación. Por tanto, un "porcentaje de identidad de secuencia" se calcula comparando dos secuencias alineadas óptimamente sobre la ventana de comparación, determinando el número de posiciones en las que aparece la base de ácido nucleico idéntica (p. ej., A, T, C, G, I) o el residuo de aminoácido idéntico (p. ej., Ala, Pro, Ser, Thr, Gly, Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp, Lys, Arg, His, Asp, Glu, Asn, Gin, Cys y Met) en ambas secuencias para rendir el número de posiciones concordantes, dividiendo el número de posiciones concordantes por el número total de posiciones en la ventana de comparación (es decir, el tamaño de la ventana), y multiplicando el resultado por 100 para rendir el porcentaje de identidad de secuencia. Para los propósitos de la presente invención, se entenderá que "identidad de secuencia" significa el "porcentaje de concordancia" calculado por el programa informático DNASIS (Versión 2.5 para windows; disponible en Hitachi Software engineering Co., Ltd., South San Francisco, California, EE. UU.) usando los parámetros por defecto estándar como se usa en el manual de referencia adjunto al software.

"Similitud" se refiere al número porcentual de aminoácidos que son idénticos o constituyen sustituciones conservativas como se define en la tabla 1.

Tabla 1

RESIDUO ORIGINAL	SUSTITUCIONES EJEMPLARES
Ala	Ser
Arg	Lys
Asn	Gln, His
Asp	Glu
Cys	Ser
Gln	Asn
Glu	Asp
Gly	Pro
His	Asn, Gln
Ile	Leu, Val
Leu	Ile, Val
Lys	Arg, Gln, Glu
Met	Leu, Ile,
Phe	Met, Leu, Tyr
Ser	Thr
Thr	Ser
Trp	Tyr
Tyr	Trp, Phe
Val	Ile, Leu

La similitud puede determinarse usando programas de comparación de secuencias tales como GAP (Deveraux *et al.* 1984, Nucleic Acids Research 12, 387-395). De esta manera, las secuencias con una longitud similar o sustancialmente diferente a las citadas en la presente memoria podrían compararse por la inserción de huecos en el alineamiento, determinándose dichos huecos, por ejemplo, por el algoritmo de comparación usado por GAP.

Los términos usados para describir las relaciones de secuencia entre dos o más polinucleótidos o polipéptidos incluyen "secuencia de referencia", "ventana de comparación", "identidad de secuencia", "porcentaje de identidad de secuencia" e "identidad sustancial". Una "secuencia de referencia" tiene una longitud de al menos 12, pero frecuentemente 15 a 18 y frecuentemente, al menos 25 unidades de monómero, incluyendo nucleótidos y residuos de aminoácidos. Como dos polinucleótidos pueden comprender cada uno (1) una secuencia (es decir, solo una parte de la secuencia completa del polinucleótido) que es similar entre los dos polinucleótidos, y (2) una secuencia que es divergente entre los dos polinucleótidos, las comparaciones de secuencias entre dos (o más) polinucleótidos se realizan típicamente comparando las secuencias de los dos polinucleótidos sobre una "ventana de comparación" para identificar y comparar regiones locales de similitud de secuencia. Una "ventana de comparación" se refiere a un segmento conceptual de al menos 6 posiciones contiguas, habitualmente aproximadamente 50 a aproximadamente 100, más habitualmente aproximadamente 100 a aproximadamente 150 en las que una secuencia se compara con una secuencia de referencia del mismo número de posiciones contiguas después de que las dos secuencias se alinean óptimamente. La ventana de comparación puede comprender adiciones o deleciones (es decir, huecos) de aproximadamente el 20 % o menos en comparación con la secuencia de referencia (que no comprende adiciones o deleciones) para el alineamiento óptimo de las dos secuencias. El alineamiento óptimo de secuencias para alinear una ventana de comparación puede llevarse a cabo por implementaciones computerizadas de algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA, y TFASTA en el Paquete de Software de Wisconsin Genetics Versión 7.0, Genetics Computer Group, 575 Science Drive Madison, WI, EE. UU.) o por inspección y se selecciona el mejor alineamiento (es decir, el que produce la mayor homología porcentual sobre la ventana de comparación) generado por cualquiera de los diversos métodos. También puede hacerse una referencia a la familia de programas BLAST como se describe, por ejemplo, por Altschul *et al.*, 1997, Nucl. Acids Res. 25:3389. Una discusión detallada del análisis de secuencias puede encontrarse en la Unidad 19.3 de Ausubel *et al.*, "Current Protocols in Molecular Biology," John Wiley & Sons Inc, 1994- 1998, Capítulo 15.

El término "recombinación homóloga específica de sitio" se refiere a eventos de intercambio cruzado de cadenas entre secuencias de ácido nucleico sustancialmente similares en su composición de nucleótidos. Estos eventos de cruzamiento pueden tener lugar entre secuencias contenidas en la construcción de direccionamiento de la invención y secuencias de ácido nucleico genómico endógenas. Además, es posible que pueda ocurrir más de un evento de

recombinación homóloga específica de sitio, que daría lugar a un evento de reemplazo en el que las secuencias de ácido nucleico contenidas en la construcción de direccionamiento han reemplazado secuencias específicas presentes en las secuencias genómicas endógenas.

El término "específicamente" como se aplica a la disrupción de un gen o al reconocimiento de sitios de reconocimiento de recombinasa se refiere a una disrupción de ese gen o al reconocimiento de esos sitios de reconocimiento de recombinasa sin una disrupción sustancial de otro gen o reconocimiento sustancial de otros sitios de reconocimiento de recombinasa. Por ejemplo, un agente que disrumpe específicamente un gen de fertilidad es uno que presenta una especificidad para ese gen de fertilidad de más de aproximadamente 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces o mayor de aproximadamente 100 veces, 500 veces, 1.000 veces con respecto a la disrupción de otro gen de fertilidad, o de un gen no relacionado con la fertilidad. En otro ejemplo, un agente que reconoce específicamente sitios de reconocimiento de una recombinasa especificada es uno que presenta una especificidad para esos sitios de reconocimiento de más de aproximadamente 2 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces o mayor de aproximadamente 100 veces, 500 veces, 1.000 veces con respecto a la especificidad para los sitios de reconocimiento de otra recombinasa.

"Astringencia", tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a las condiciones de temperatura y fuerza iónica, y a la presencia o ausencia de determinados disolventes orgánicos, durante los procedimientos de hibridación y lavado. Cuanto mayor es la astringencia, mayor será el grado de complementariedad entre las secuencias de nucleótidos diana inmovilizadas y las secuencias de polinucleótidos de la sonda marcadas que permanecen hibridadas a la diana después del lavado.

"Condiciones astringentes" se refiere a condiciones de temperatura y iónicas bajo las cuales solo hibridarán las secuencias de nucleótidos que tengan una alta frecuencia de bases complementarias. La astringencia requerida depende de la secuencia de nucleótidos y depende de los diversos componentes presentes durante la hibridación y los lavados posteriores, y el tiempo que se permite para estos procesos. Generalmente, con el fin de maximizar la tasa de hibridación, se seleccionan condiciones de hibridación no astringentes; aproximadamente 20 a 25 °C menor que el punto de fusión térmico (T_m). La T_m es la temperatura a la que el 50 % de la secuencia diana específica hibrida con una sonda perfectamente complementaria en disolución a una fuerza iónica y pH definidos. Generalmente, con el fin de requerir al menos aproximadamente un 85 % de complementariedad de nucleótidos de las secuencias hibridadas, se seleccionan condiciones de lavado altamente astringentes que son aproximadamente 5 a 15 °C menor que la T_m . Con el fin de requerir al menos aproximadamente un 70 % de complementariedad de nucleótidos de las secuencias hibridadas, se seleccionan condiciones de lavado moderadamente astringentes que son aproximadamente 15 a 30 °C menor que la T_m . Las condiciones de lavado altamente permisivas (astringencia baja) pueden ser tan bajas como 50 °C por debajo de la T_m , permitiendo un alto nivel de falta de concordancia entre las secuencias hibridadas. Los expertos en la técnica reconocerán que también pueden alterarse otros parámetros físicos y químicos en las etapas de hibridación y lavado para afectar el resultado de una señal de hibridación detectable a partir de un nivel específico de identidad de secuencia entre las secuencias diana y de la sonda.

Los términos "casete de direccionamiento", "construcción de direccionamiento" y similares se refieren a una construcción de ácido nucleico que facilita la disrupción o inserción de una secuencia de ácido nucleico específica en el genoma de un organismo o célula huésped por recombinación homóloga. Generalmente, el casete de direccionamiento comprende: (1) al menos una región de homología o brazo de homología que tiene una secuencia que es sustancialmente idéntica o sustancialmente complementaria a una secuencia presente en el locus de un gen endógeno de la célula huésped, y (2) una región de direccionamiento que se integra en el locus de un gen endógeno de la célula huésped por recombinación homóloga entre una región de homología de la construcción de direccionamiento y la secuencia del locus del gen endógeno. Una región de direccionamiento puede comprender una secuencia que es sustancialmente homóloga a una secuencia génica endógena y/o puede comprender, en algunas realizaciones, una secuencia no homóloga, tal como un marcador seleccionable (p. ej., *neo*, *tk*, *gpt*) o polinucleótido heterólogo. Los términos "casete de direccionamiento", "construcción de direccionamiento" y similares no indican necesariamente que la región de direccionamiento comprende un gen que se integra en el genoma huésped, ni indica necesariamente que la región de direccionamiento comprende una secuencia de un gen estructural completa. Como se usan en la técnica, los términos "casete de direccionamiento", "construcción de direccionamiento" y similares son sinónimos del término "transgén", tal y como se usa en la presente memoria.

El término "totipotente" se refiere a la capacidad de una célula de diferenciarse en todos los tipos de células de un organismo adulto (p. ej., animal no humano).

El término "secuencia de ácido nucleico que se puede transcribir" o "secuencia de ácido nucleico transcrita" excluye la secuencia reguladora no transcrita que dirige la transcripción. Dependiendo del aspecto de la invención, la secuencia que se puede transcribir puede derivar totalmente o en parte de cualquier fuente conocida en la técnica, incluyendo una planta, un hongo, un animal, un genoma o episoma bacteriano, ADN eucariota, nuclear o plasmídico, ADNc, ADN viral o ADN sintetizado químicamente. Una secuencia que se puede transcribir puede contener una o más modificaciones bien en las regiones codificadoras o no traducidas, que podrían afectar la actividad biológica o la estructura química del producto de expresión, la tasa de expresión o la manera de controlar la expresión. Dichas modificaciones incluyen, pero no están limitadas a, inserciones, delecciones y sustituciones de uno o más nucleótidos. La secuencia que se puede transcribir puede contener una secuencia codificadora ininterrumpida o puede incluir uno

o más intrones, unidos por las uniones de corte y empalme apropiadas. La secuencia que se puede transcribir también puede codificar una proteína de fusión. En otras realizaciones, la secuencia que se puede transcribir comprende solo regiones no codificadoras.

"Transfección" significa el proceso durante el cual una molécula de ácido nucleico (p. ej., un plásmido o fragmento de ADN) se inserta en una célula eucariota. Típicamente, el 2-50 % de las células captan el plásmido y expresan el producto proteico durante ~3 días sin incorporar el ADN plasmídico o fragmento de ADN en los cromosomas de la célula (= transfección transitoria). Una pequeña proporción de estas células incorporará eventualmente el ADN plasmídico en sus cromosomas y expresará permanentemente el producto proteico (= transfección estable).

El término "transgén" se usa en la presente memoria para describir material genético que ha sido o va a ser introducido artificialmente en un genoma de un organismo huésped y que se transmite a la progenie de ese huésped. El transgén comprenderá típicamente un polinucleótido que contiene secuencias no codificadoras y/o codificadoras que habitualmente, pero no necesariamente, imparten o incitan una actividad (p. ej., la regulación de la transcripción o la traducción, la producción de una secuencia de nucleótidos que incluye una secuencia codificadora y/o no codificadora, etc.). En algunas realizaciones, el transgén comprende un polinucleótido que puede ser transcrito en ARN y opcionalmente, traducido y/o expresado en condiciones apropiadas. En algunas realizaciones, se transcribe en una molécula que interfiere con la transcripción o la traducción (p. ej., molécula antisentido) o media la interferencia de ARN (p. ej., ARNsi o ARNsh). En algunas realizaciones, el transgén comprende una secuencia codificadora para un polipéptido. En algunas realizaciones, el transgén comprende un casete de direccionamiento para introducir una modificación genética en un genoma. Puede usarse cualquiera de diversos métodos para introducir un transgén en un animal no humano para producir un animal transgénico. Dichas técnicas son muy conocidas en la técnica e incluyen, pero no están limitadas a, microinyección pronuclear, infección viral y transformación de células madre embrionarias y células iPS. Los métodos para generar animales transgénicos que pueden usarse incluyen, pero no están limitados a, los descritos en J. P. Sundberg y T. Ichiki, Eds., *Genetically Engineered Mice Handbook*, CRC Press; 2006; M. H. Hofker e I. van Deursen, Eds., *Transgenic Mouse Methods and Protocols*, Humana Press, 2002; A. L. Joyner, *Gene Targeting: A Practical Approach*, Oxford University Press, 2000; *Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual*, 3ª edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2002, ISBN-10: 0879695919; K. Turksen (Ed.), *Embryonic stem cells: methods and protocols* en *Methods Mol. Biol.* 2002; 185, Humana Press; *Current Protocols in Stem Cell Biology*, ISBN: 978047015180; Meyer et al. *PNAS USA*, vol. 107 (34), 15022-15026.

Tal y como se usa en la presente memoria, el término "transgénico" o "transformado" con respecto a una célula huésped, parte de huésped, tejido de huésped o huésped significa una célula huésped, parte de huésped, tejido de huésped o animal huésped, que comprende una modificación genética, que se ha introducido en el nucleoma, especialmente el genoma, de una célula huésped, parte de huésped, tejido de huésped o animal huésped, típicamente mediante un transgén.

Por "vector" se quiere decir una molécula de ácido nucleico, de forma adecuada, una molécula de ADN derivada, por ejemplo, de un plásmido, bacteriófago, o virus de planta, en el que puede insertarse o clonarse una secuencia de ácido nucleico. Un vector contiene típicamente uno o más sitios de restricción únicos y puede ser capaz de replicación autónoma en una célula huésped definida incluyendo una célula o tejido diana o una célula o tejido progenitor de la misma, o puede integrarse con el genoma del huésped definido de manera que la secuencia clonada es reproducible. Por consiguiente, el vector puede ser un vector con replicación autónoma, es decir, un vector que existe como una entidad extracromosómica, cuya replicación es independiente de la replicación cromosómica, p. ej., un plásmido circular cerrado, un elemento extracromosómico, un minicromosoma, o un cromosoma artificial. El vector puede contener cualquier medio para asegurar la autorreplicación. Alternativamente, el vector puede ser uno que, cuando se introduce en la célula huésped, se integra en el genoma y se replica junto con el o los cromosomas en los que se ha integrado. Un sistema de vector puede comprender un único vector o plásmido, dos o más vectores o plásmidos, que conjuntamente contienen el ADN total que se va a introducir en el genoma de la célula huésped, o un transposón. La elección del vector dependerá típicamente de la compatibilidad del vector con la célula huésped en la que se va a introducir el vector. El vector también puede incluir un marcador tal como un gen de resistencia a antibiótico que puede usarse para la identificación de los transformantes adecuados. Los ejemplos de dichos genes de resistencia son muy conocidos para los expertos en la técnica.

El término "región no codificadora en 5'" se usa en la presente memoria en su contexto más amplio para incluir todas las secuencias de nucleótidos que derivan de la región aguas arriba de un gen que se puede expresar, distintas de aquellas secuencias que codifican residuos de aminoácidos que comprenden el producto polipeptídico del gen, en donde la región no codificadora en 5' confiere o activa o facilita de otra forma, al menos en parte, la expresión del gen.

Tal y como se usa en la presente memoria, el término "región no traducida en 5'" o "5' UTR" se refiere a una secuencia localizada en 3' de una región promotora y en 5' de la región codificadora aguas abajo. Por tanto, dicha secuencia, aunque se transcribe, está aguas arriba (es decir, en 5') del codón de inicio de la traducción y, por lo tanto, generalmente no se traduce en una parte del producto polipeptídico.

El término "región no traducida en 3'" o "3' UTR" se refiere a una secuencia de nucleótidos aguas abajo (es decir, en 3') de una secuencia codificadora. Se extiende desde el primer nucleótido posterior al codón de parada de una secuencia codificadora hasta justo antes de la cola de poli(A) del ARNm transcrito correspondiente. La 3' UTR puede

contener secuencias que regulan la eficiencia de la traducción, la estabilidad del ARNm, el direccionamiento del ARNm y/o la poliadenilación.

El término "de tipo salvaje" se refiere a un gen o producto génico que tiene las características de ese gen o producto génico cuando se aísla de una fuente natural. Un gen de tipo salvaje es aquel que se observa más frecuentemente en una población y se designa, por tanto, arbitrariamente como la forma "normal" o "de tipo salvaje" del gen. Por el contrario, el término "modificado" "variante" o "mutante" se refiere a un gen o producto génico que presenta modificaciones en la secuencia y o propiedades funcionales (es decir, características alteradas) cuando se compara con el gen o producto génico de tipo salvaje. Se indica que pueden aislarse los mutantes naturales; estos se identifican por el hecho de que tienen características alteradas cuando se comparan con el gen o producto génico de tipo salvaje.

Tal y como se usa en la presente memoria, el subrayado o cursiva del nombre de un gen indicará el gen, a diferencia de su producto proteico, que se indica en ausencia de cualquier subrayado o cursiva. Por ejemplo, "*GILZ*" significará el gen *GILZ*, mientras que "GILZ" indicará el producto proteico del gen "*GILZ*".

Cada realización descrita en la presente memoria debe aplicarse *mutatis mutandis* a cada una y todas las realizaciones, a no ser que se afirme específicamente otra cosa.

2. Abreviaturas

A lo largo de la solicitud se usan las siguientes abreviaturas:

dpc =días después del coito

célula ES = célula madre embrionaria

célula madre epi = célula madre de epiblasto

célula EG = célula germinal embrionaria

célula iPS = célula madre pluripotente inducida

d =día

h =hora

s = segundos

3. Uso de embriones de roedor con un gen de fertilidad disrumpido para aumentar la transmisión de la línea germinal de células pluripotentes de roedor donantes

La presente invención proporciona composiciones y métodos para aumentar la transmisión de la línea germinal de células pluripotentes de roedor donantes, incluyendo unas con modificaciones genéticas. Las células germinales que se originan en embriones huésped de roedor se modifican, de manera que al menos un gen que contribuye a la fertilidad (es decir, un gen de fertilidad) se disrumpe. Los embriones huésped de roedor modificados se usan entonces para "hospedar" células pluripotentes de roedor donantes introducidas que tienen un gen de fertilidad funcional (es decir, un gen de fertilidad que no está disrumpido). La implantación y gestación del embrión huésped de roedor resultante en un animal roedor sustituto o adoptivo produce una camada que incluye habitualmente dos tipos de descendencia quimérica: aquellos que tienen células germinales o gametos endógenos con un gen de fertilidad disrumpido, que derivan generalmente del embrión huésped de roedor, y aquellos que comprenden células germinales o gametos con un gen de fertilidad funcional, que derivan generalmente de la célula pluripotente de roedor donante. Cuando se cruzan con animales roedores cognados que comprenden un gen de fertilidad funcional, los animales roedores quiméricos que comprenden células germinales o gametos endógenos que tienen un gen de fertilidad disrumpido tendrán una fertilidad alterada o inhibida. Por el contrario, los animales roedores quiméricos que comprenden células germinales o gametos derivados de la célula pluripotente de roedor donante tendrán una fertilidad normal o no alterada, aumentado de esta manera la producción de una primera camada de crías que comprenden células germinales o gametos derivados de la célula pluripotente de roedor donante.

3.1 Genes de fertilidad

Cualquier gen de fertilidad o combinación de genes de fertilidad adecuados puede disrumpirse para proporcionar embriones huésped de roedor, así como animales roedores derivados y descendencia según la presente invención. Los ejemplos no limitativos de genes de fertilidad se enumeran en la Tabla 2, junto con mutaciones ilustrativas (que se presentan en superíndice) y composiciones alélicas que causan la disrupción del gen de fertilidad y dan lugar a infertilidad (p. ej., infertilidad masculina). En la Tabla 2 también se presentan fondos genéticos ilustrativos, en los que la disrupción de estos genes de fertilidad dio lugar a infertilidad (p. ej., infertilidad masculina).

Tabla 2: genes de fertilidad y mutaciones ilustrativas que dan lugar a infertilidad

Gen(es) de Fertilidad	Composición Alélica (Fondo Genético)
Abcg5	<u>Abcg5^{trac}/Abcg5^{trac}</u> (A/J-Abcg5 ^{trac})
Acox1	<u>Acox1^{tm1Jkr}/Acox1^{tm1Jkr}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6J)
Acr Smcp Tnp2	<u>Acr^{tm1Wen}/Acr^{tm1Wen}</u> <u>Smcp^{tm1Wen}/Smcp^{tm1Wen}</u> <u>Tnp2^{tm1Wen}/Tnp2^{tm1Wen}</u> (implica: 129/Sv * C57BL/6J * CD-1)
Adad1	<u>Adad1^{tm1Reb}/Adad1^{tm1Reb}</u> (129X1/SvJ-Tenr ^{tm1Reb})
Adad1	<u>Adad1^{tm1Reb}/Adad1^{tm1Reb}</u> (implica: 129X1/SvJ * C57BL/6)
Adam1a	<u>Adam1a^{tm1Tba}/Adam1a^{tm1Tba}</u> (implica: 129S2/SvPas * ICR)
Adam3	<u>Adam3^{tm1Hgg}/Adam3^{tm1Hgg}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * CD-1)
Adam3	<u>Adam3^{tm1Pmkf}/Adam3^{tm1Pmkf}</u> (No Especificado)
Adamts2	<u>Adamts2^{tm1Prc}/Adamts2^{tm1Prc}</u> (implica: 129/Sv)
Adcy10	<u>Adcy10^{tm1Lex}/Adcy10^{tm1Lex}</u> (implica: 129S5/SvEvBrd * C57BL/6)
Adra1b	<u>Adra1b^{tm1Cta}/Adra1b^{tm1Cta}</u> (implica: 129 * C57BL/6J)
Adrm1	<u>Adrm1^{Gt(OST128063)Lex}/Adrm1^{Gt(OST128063)Lex}</u> (implica: 129S5/SvEvBrd * C57BL/6J)

Aes Runx2	<u>Aes^{tm1Grid}/Aes^{tm1Grid}</u> <u>Runx2^{tm1Mjo}/Runx2⁺</u> (implica: 129S1/Sv * C57BL/6)
Aff4	<u>Aff4^{tm1Nosa}/Aff4^{tm1Nosa}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)
Agfg1	<u>Agfg1^{tm1Jvd}/Agfg1^{tm1Jvd}</u> (implica: 129P2/OlaHsd)
Agps	<u>Agps^{bs2}/Agps^{bs2}</u> (STOCK Agps ^{bs2} /J)
Agtbbp1	<u>Agtbbp1^{pcd-3J}/Agtbbp1^{pcd-3J}</u> (implica: BALB/cByJ)
Agtbbp1	<u>Agtbbp1^{pcd-5J}/Agtbbp1^{pcd-5J}</u> (DBA/2J)
Agtbbp1	<u>Agtbbp1^{pcd-8J}/Agtbbp1^{pcd-8J}</u> (BALB/cJ-Agtbbp1 ^{pcd-8J} /GrsrJ)
Agtbbp1	<u>Agtbbp1^{pcd-Btlr}/Agtbbp1^{pcd-Btlr}</u> (C57BL/6J-Agtbbp1 ^{pcd-Btlr})
Agtbbp1	<u>Agtbbp1^{pcd-Tg(Dhfr)1Jwg}/Agtbbp1^{pcd-Tg(Dhfr)1Jwg}</u> (implica: C57BL/6J * CD-1 * DBA/2J)
Agtbbp1	<u>Agtbbp1^{pcd}/Agtbbp1^{pcd}</u> (implica: C57BR/cdJ * CBA)
Ak7	<u>Ak7^{Gt(OST434404)Lex}/Ak7^{Gt(OST434404)Lex}</u> (implica: 129S5/SvEvBrd * C57BL/6J)
Ak7	<u>Ak7^{Tg(tetO-Hmox1)67Sami}/Ak7^{Tg(tetO-Hmox1)67Sami}</u> (FVB/N-Ak7 ^{Tg(tetO-Hmox1)67Sami})
Akap4	<u>Akap4^{tm1Eddy/Y}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * C57BL/6)
Alpl Dnmt3a	<u>Alpl^{tm1(cre)Nagy}/Alpl⁺</u> <u>Dnmt3a^{tm3.1Enl}/Dnmt3a^{tm3.2Enl}</u> (implica: 129S1/Sv * 129S4/SvJae * 129X1/SvJ)
Alpl Ehmt2	<u>Alpl^{tm1(cre)Nagy}/Alpl⁺</u> <u>Ehmt2^{tm2Yshk}/Ehmt2^{tm2.1Yshk}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6 * CBA)
Amh Amhr2	<u>Amh^{tm1Bhr}/Amh^{tm1Bhr}</u> <u>Amhr2^{tm1Bhr}/Amhr2^{tm1Bhr}</u> (No Especificado)
Amhr2	<u>Amhr2^{tm1Bhr}/Amhr2^{tm1Bhr}</u> (implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6)
Amhr2	<u>Amhr2^{tm1Bhr}/Amhr2^{tm1Bhr}</u> (implica: 129S7/SvEvBrd)
Amhr2	<u>Amhr2^{tm3(cre)Bhr}/Amhr2⁺</u> (implica: 129P2/OlaHsd * 129S/SvEv * C57BL/6)
Amhr2 Ar	<u>Amhr2^{tm3(cre)Bhr}/Amhr2⁺</u> <u>Ar^{tm1Chc/Y}</u> (implica: 129S/SvEv * C57BL/6)

Amhr2 Ctnnb1	<u>Amhr2^{tm3(cre)Bhr}/Amhr2⁺</u> <u>Ctnnb1^{tm1Mmt}/Ctnnb1⁺</u> (implica: 129X1/SvJ * C57BL/6)
Amhr2 Nr5a1	<u>Amhr2^{tm3(cre)Bhr}/Amhr2⁺</u> <u>Nr5a1^{tm1Klp}/Nr5a1^{tm2Klp}</u> (implica: 129P2/OlaHsd)
Amhr2 Smad1 Smad5	<u>Amhr2^{tm3(cre)Bhr}/Amhr2⁺</u> <u>Smad1^{tm2Rob}/Smad1^{tm2.1Rob}</u> <u>Smad5^{tm1Huy}/Smad5^{tm1Huy}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * 129S/SvEv * C57BL/6)
Amhr2 Smad1 Smad5	<u>Amhr2^{tm3(cre)Bhr}/Amhr2⁺</u> <u>Smad1^{tm2Rob}/Smad1^{tm2Rob}</u> <u>Smad5^{tm1Huy}/Smad5^{tm1Zuk}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * 129S/SvEv * 129S7/SvEvBrd * C57BL/6)
Apaf1	<u>Apaf1^{tm1Her}/Apaf1^{tm1Her}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * C57BL/6J)
Ar Plekha5	<u>Ar^{tm1Chc}/Y</u> <u>Plekha5^{Tg(AMH-cre)1Flor}/0</u> (implica: 129S/SvEv * C57BL/6 * SJL)
Ar Plekha5	<u>Ar^{tm1dz}/Y</u> <u>Plekha5^{Tg(AMH-cre)1Flor}/0</u> (implica: 129X1/SvJ * C57BL/6 * SJL)
Ar Rnase10	<u>Ar^{tm1Verh}/Y</u> <u>Rnase10^{tm1(cre)Hht}/Rnase10⁺</u> (implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6)
Arhgdia Arhgdib	<u>Arhgdia^{tm1Ytk}/Arhgdia^{tm1Ytk}</u> (implica: 129S/SvEv * C57BL/6 * DBA)
Arhgdia Arhgdib	<u>Arhgdia^{tm1Ytk}/Arhgdia^{tm1Ytk}</u> <u>Arhgdib^{tm1Miyo}/Arhgdib^{tm1Miyo}</u> (involves: 129S/SvEv)
Arl	<u>Arl6^{tm2Vcs}/Arl6^{tm2Vcs}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)
Asz1	<u>Asz1^{tm1Zuk}/Asz1^{tm1Zuk}</u> (implica: 129 * C57BL/6)
Atf4	<u>Atf4^{tm1Tow}/Atf4^{tm1Tow}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * NIH Black Swiss)
Atm	<u>Atm^{tm1Awb}/Atm^{tm1Awb}</u> (bien: 129S6/SvEvTac-Atm ^{tm1Awb} o (implica: 129S6/SvEvTac * NIH Black Swiss))
Atm	<u>Atm^{tm1Bal}/Atm^{tm1Bal}</u> (implica: 129S4/SvJae)
Atm	<u>Atm^{tm1Fwa}/Atm^{tm1Fwa}</u> (involves: 129S4/SvJae * C57BL/6)
Atm	<u>Atm^{tm1Led}/Atm^{tm1Led}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * Black Swiss)
Atp1a4	<u>Atp1a4^{tm1Itl}/Atp1a4^{tm1Itl}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * C57BL/6)

Atp2b4	<u>Atp2b4^{tm1Ges}/Atp2b4^{tm1Ges}</u> (implica: 129X1/SvJ * Black Swiss)
Atp2b4	<u>Atp2b4^{tm1Ges}/Atp2b4^{tm1Ges}</u> (BKS.W.129X1-Atp2b4 ^{tm1Ges})
Atp2b4	<u>Atp2b4^{tm1Ksch}/Atp2b4^{tm1Ksch}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)
Atp7a	<u>Atp7a^{Mo-blo}/Y</u> (No Especificado)
Atp7a	<u>Atp7a^{Mo-vbr}/Y</u> (No Especificado)
Atxn7	<u>Atxn7^{tm1Hzo}/Atxn7⁺</u> (implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6)
Axl Mertk Tyro3	<u>Axl^{tm1Gr1}/Axl^{tm1Gr1}</u> <u>Mertk^{tm1Gr1}/Mertk^{tm1Gr1}</u> <u>Tyro3^{tm1Gr1}/Tyro3^{tm1Gr1}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J)
B4galnt1	<u>B4galnt1^{tm1Rlp}/B4galnt1^{tm1Rlp}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * C57BL/6)
B4galnt1	<u>B4galnt1^{tm1Rlp}/B4galnt1^{tm1Rlp}</u> <u>St8sia1^{tm1Rlp}/St8sia1^{tm1Rlp}</u> (implica: 129S6/SvEvTac)
Bax Bcl2l1	<u>Bax^{tm1Sjk}/Bax⁺</u> <u>Bcl2l1^{tm1Mam}/Bcl2l1^{tm1Mam}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * 129X1/SvJ * C57BL/6)
Bax	<u>Bax^{tm1Sjk}/Bax^{tm1Sjk}</u> (implica: 129X1/SvJ)
Bax	<u>Bax^{tm1Sjk}/Bax^{tm1Sjk}</u> (B6.129X1-Bax ^{tm1Sjk} /J)
Bax Bcl2l1	<u>Bax^{tm1Sjk}/Bax^{tm1Sjk}</u> <u>Bcl2l1^{tm1Mam}/Bcl2l1^{tm1Mam}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * 129X1/SvJ * C57BL/6)
Bax Bcl2l1	<u>Bax^{tm1Sjk}/Bax^{tm1Sjk}</u> <u>Bcl2l1^{tm1.1Ast}/Bcl2l1^{tm1.1Ast}</u> (B6.129-Bcl2l1 ^{tm1.1Ast} Bax ^{tm1Sjk})
Bbs1	<u>Bbs1^{tm1Vcs}/Bbs1^{tm1Vcs}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ)
Bbs2	<u>Bbs2^{tm1Vcs}/Bbs2^{tm1Vcs}</u> (bien: (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ) or (involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J))
Bbs4	<u>Bbs4^{tm1Vcs}/Bbs4^{tm1Vcs}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J)
Bcl2l1	<u>Bcl2l1^{tm1Mam}/Bcl2l1^{tm1Mam}</u> (involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6)
Bcl2l2	<u>Bcl2l2^{Gt(ROSA)41Sor}/Bcl2l2^{Gt(ROSA)41Sor}</u> (implica: 129S5/SvEvBrd)

Bcl2l1 Bik	<u>Bcl2l1^{tm1.1Ast}/Bcl2l1^{tm1.1Ast}</u> <u>Bik^{tm1Ast}/Bik^{tm1Ast}</u> (B6.Cg-Bcl2l1 ^{tm1.1Ast} Bik ^{tm1Ast})
Bgn Dcn	<u>Bgn^{tm1Mfy/Y}</u> <u>Dcn^{tm1loz}/Dcn^{tm1loz}</u> (implica: 129S1/Sv * 129S4/SvJae * 129X1/SvJ)
Bmp5	<u>Bmp5^{se}/Bmp5^{se}</u> <u>Bmp6^{tm1Rob}/Bmp6^{tm1Rob}</u> (implica: 129S/SvEv)
Bmp7 Bmp8a	<u>Bmp7^{tm1Rob}/Bmp7⁺</u> <u>Bmp8a^{tm1Blh}/Bmp8a^{tm1Blh}</u> (implica: 129S/SvEv * 129S6/SvEvTac * Black Swiss * C57BL/6)
Bmp8b	<u>Bmp8b^{tm1Blh}/Bmp8b^{tm1Blh}</u> (implica: 129/Sv * Black Swiss)
Boll	<u>Boll^{tm1Eyx}/Boll^{tm1Eyx}</u> (implica: 129 * C57BL/6)
Brca1	<u>Brca1^{tm2.1Thl}/Brca1^{tm2.1Thl}</u> (implica: 129 * C57BL/6)
Brca1	<u>Brca1^{tm2Arge}/Brca1^{tm2Arge}</u> (129-Brca1 ^{tm2Arge})
Brca1	<u>Brca1^{tm2Arge}/Brca1^{tm2Arge}</u> (implica: 129/Sv * C57BL/6J * MF1)
Brca1	<u>Brca1^{tm3.1Thl}/Brca1^{tm3.1Thl}</u> (implica: 129 * C57BL/6)
Brca2	<u>Brca2^{tm1Cam}/Brca2^{tm1Cam}</u> (implica: 129S/SvEv * MF1)
Brca2	<u>Brca2^{tm1Cbl}/Brca2^{tm1Cbl}</u> (bien: (implica: 129S2/SvPas * C57BL/10) o (implica: 129S2/SvPas * C57BL/6 * DBA/2))
Brd1	<u>Brd1^{tm1Djw}/Brd1^{tm1Djw}</u> (implica: 129S/SvEv * C57BL/6J)
Brwd1	<u>Brwd1^{repro5}/Brwd1^{repro5}</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
Bsg	<u>Bsg^{tm1Tmu}/Bsg^{tm1Tmu}</u> (implica: 129S2/SvPas * C57BL/6J)
Bsg	<u>Bsg^{tm1Tmu}/Bsg^{tm1Tmu}</u> (implica: 129/Sv * 129S2/SvPas)
Bub1b	<u>Bub1b^{tm1Jvd}/Bub1b^{tm1Jvd}</u> (implica: 129S6/SvEvTac)
Cacnb4	<u>Cacnb4^{lh-4J}/Cacnb4^{lh-4J}</u> (C3Fe(SWV)-Cacnb4 ^{lh-4J} /Grsl)
Cacng2	<u>Cacng2^{stg}/Cacng2^{stg}</u> (B6C3Fe a/a-Cacng2 ^{stg})
Cadm1	<u>Cadm1^{tm1.2Brd}/Cadm1^{tm1.2Brd}</u> (implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6)

Cadm1	<u>Cadm1^{tm1Momo}/Cadm1^{tm1Momo}</u> (implica: 129S/SvEv * C57BL/6J)
Cadm1	<u>Cadm1^{tm1Mrkm}/Cadm1^{tm1Mrkm}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * C57BL/6J)
Calr3	<u>Calr3^{tm1Osb}/Calr3^{tm1Osb}</u> (implica: 129S2/SvPas * C57BL/6)
Camk4	<u>Camk4^{tm1Arm}/Camk4^{tm1Arm}</u> (implica: 129 * C57BL/6J)
Capza3	<u>Capza3^{repro32}/Capza3^{repro32}</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
Catsper1	<u>Catsper1^{tm1Clph}/Catsper1^{tm1Clph}</u> (implica: 129S4/SvJae * C57BL/6J)
Catsper2	<u>Catsper2^{tm1Gar}/Catsper2^{tm1Gar}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * C57BL/6J)
Catsper3	<u>Catsper3^{tm1Clph}/Catsper3^{tm1Clph}</u> (implica: 129S4/SvJae)
Catsper3	<u>Catsper3^{tm1Wyan}/Catsper3^{tm1Wyan}</u> (implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J)
Catsper4	<u>Catsper4^{tm1Clph}/Catsper4^{tm1Clph}</u> (implica: 129S4/SvJae)
Catsper4	<u>Catsper4^{tm1Wyan}/Catsper4^{tm1Wyan}</u> (implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J)
Catsperd	<u>Catsperd^{tm1.1Clph}/Catsperd^{tm1.1Clph}</u> (implica: 129S4/SvJae * C57BL/6)
Cbx3	<u>Cbx3^{tm1Pbs}/Cbx3^{tm1Pbs}</u> (implica: 129)
Cby1	<u>Cby1^{tm1Ktkm}/Cby1^{tm1Ktkm}</u> (B6.129-Cby1 ^{tm1Ktkm})
Ccna1	<u>Ccna1^{tm1Coll}/Ccna1^{tm1Coll}</u> (implica: 129S/SvEv * MF1)
Ccna1	<u>Ccna1^{tm1Djw}/Ccna1^{tm1Djw}</u> (implica: 129S7/SvEvBrd)
Ccne2	<u>Ccne2^{tm1Pisc}/Ccne2^{tm1Pisc}</u> (implica: 129S2/SvPas)
Cdk2	<u>Cdk2^{tm1Kald}/Cdk2^{tm1Kald}</u> (implica: 129S1/Sv * C57BL/6)
Cdk4	<u>Cdk4^{tm1Kiyo}/Cdk4^{tm1Kiyo}</u> (implica: 129S1/Sv)
Cdk4	<u>Cdk4^{tm1Kiyo}/Cdk4^{tm1Kiyo}</u> <u>Lin9^{tm1Orc}/Lin9^{tm1Orc}</u> (implica: 129S1/Sv)
Cdk5rap2	<u>Cdk5rap2^{Gt(RRF465)Byg}/Cdk5rap2^{Gt(RRF465)Byg}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6J)
Cdk16	<u>Cdk16^{tm1.2Stge}/Cdk16^{tm1.2Stge}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * BALB/cJ * C57BL/6 * SJL)

Cdkn2a	<u>Cdkn2a^{tm3(cre)Cjs}/Cdkn2a⁺</u> (implica: 129S1/Sv * C57BL/6)
Cdkn2c Cdkn2d	<u>Cdkn2c^{tm1Bbd}/Cdkn2c^{tm1Bbd}</u> <u>Cdkn2d^{tm1Maro}/Cdkn2d^{tm1Maro}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * 129S1/Sv * C57BL/6)
Cdo1	<u>Cdo1^{tm1.1Mhst}/Cdo1^{tm1.1Mhst}</u> (implica: C57BL/6)
Celf1	<u>Celf1^{tm1Cba}/Celf1^{tm1Cba}</u> (implica: 129S2/SvPas * C57BL/6)
Cep290	<u>Cep290^{tm1.1Jgg}/Cep290^{tm1.1Jgg}</u> (B6.129-Cep290 ^{tm1.1Jgg})
Cga	<u>Cga^{tm1Sac}/Cga^{tm1Sac}</u> (implica: 129S2/SvPas * C57BL/6J)
Cib1	<u>Cib1^{tm1Prse}/Cib1^{tm1Prse}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * C57BL/6)
Cks2	<u>Cks2^{tm1Sir}/Cks2^{tm1Sir}</u> (No Especificado)
Clcn1	<u>Clcn1^{adr}/Clcn1^{adr}</u> (A2G)
Clcn2	<u>Clcn2^{tm1Tj}/Clcn2^{tm1Tj}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)
Cldn11	<u>Cldn11^{tm1Ral}/Cldn11^{tm1Ral}</u> (No Especificado)
Cldn11	<u>Cldn11^{tm1Sts}/Cldn11^{tm1Sts}</u> (implica: 129S4/SvJae * C57BL/6)
Clgn	<u>Clgn^{tm1Osb}/Clgn^{tm1Osb}</u> (bien: 129 o (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6J))
Cnot	<u>Cnot7^{tm1Jpr}/Cnot7^{tm1Jpr}</u> (implica: 129/Sv * C57BL/6)
Cnot7	<u>Cnot7^{tm1Tno}/Cnot7^{tm1Tno}</u> (implica: 129S4/SvJae * C57BL/6J)
Cnpy4	<u>Cnpy4^{Tg(Tyr)2356C-2a1Ove}/Cnpy4^{Tg(Tyr)2356C-2a1Ove}</u> (FVB/N-Cnpy4 ^{Tg(Tyr)2356C-2a1Ove})
Cplx1	<u>Cplx1^{tm1Rmnd}/Cplx1^{tm1Rmnd}</u> (No Especificado)
Crem	<u>Crem^{tm1Gsc}/Crem^{tm1Gsc}</u> (implica: 129/Sv * C57BL/6)
Crem	<u>Crem^{tm1Saco}/Crem^{tm1Saco}</u> (implica: 129/Sv * C57BL/6)
Crem	<u>Crem^{tm1Saco}/Crem^{tm1Saco}</u> (implica: C57BL/6)
Crtc1	<u>Crtc1^{Gt(XK522)Byg}/Crtc1^{Gt(XK522)Byg}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)
Csnk2a2	<u>Csnk2a2^{tm1Dcs}/Csnk2a2^{tm1Dcs}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * C57BL/6)

Cstf2t	<u>Cstf2t^{tm1Cma}/Cstf2t^{tm1Cma}</u> (implica: 129S/SvEv * C57BL/6)
Ctnnb1	<u>Ctnnb1^{tm2Kem}/Ctnnb1^{tm2Kem}</u> <u>Emx1^{tm1(crc)Yql}/Emx1⁺</u> (B6.129-Emx1 ^{tm1(crc)Yql} Ctnnb1 ^{tm2Kem})
Cul4a	<u>Cul4a^{tm1.2Pra}/Cul4a^{tm1.2Pra}</u> (No Especificado)
Cxcl16	<u>Cxcl16/Zmynd15^{tm1Ifc}/Cxcl16/Zmynd15^{tm1Ifc}</u> (implica: 129S4/SvJae * C57BL/6)
Ccl16	<u>Cxcl16/Zmynd15^{tm1Ifc}/Cxcl16/Zmynd15^{tm1Ifc}</u> (implica: 129S4/SvJae * C57BL/6)
Cyp19a1	<u>Cyp19a1^{tm1Esl}/Cyp19a1^{tm1Esl}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * C57BL/6)
Cyp19a1	<u>Cyp19a1^{tm1Sih}/Cyp19a1^{tm1Sih}</u> (implica: 129S/SvEv * C57BL/6)
D15Ert621e	<u>D15Ert621e^{Tg(Tyr)2261COve}/D15Ert621e^{Tg(Tyr)2261COve}</u> (FVB/N-D15Ert621e ^{Tg(Tyr)2261COve})
Dab1	<u>Dab1^{scm}/Dab1^{scm}</u> (implica: C3HeB/FeJ * DC/Le)
Dazap1	<u>Dazap1^{tm1Pyen}/Dazap1^{tm1Pyen}</u> (implica: 129S6/SvEvTac)
Dazl	<u>Dazl^{tm1Hjc}/Dazl^{tm1Hjc}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * MF1)
Dbf	<u>Dbf/Dbf⁺</u> (implica: 101/H * C3H/HeH)
Ddx4	<u>Ddx4^{tm1Tnc}/Ddx4^{tm1Tnc}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6NJcl)
Ddx25	<u>Ddx25^{tm1Mld}/Ddx25^{tm1Mld}</u> (implica: 129S4/SvJae)
Defb41 Dicer1	<u>Defb41^{tm1(icre)Psp}/Defb41⁺</u> <u>Dicer1^{tm1Bdh}/Dicer1^{tm1Bdh}</u> (implica: 129/Sv * C57BL/6N)
Derl2	<u>Derl2^{tm1.2Hpl}/Derl2^{tm1.2Hpl}</u> (implica: BALB/cJ)
Dgka	<u>Dgka^{TgTn(sb-cHS4,Tyr)2320A-2Ove}/Dgka^{TgTn(sb-cHS4,Tyr)2320A-2Ove}</u> (FVB/N-Dgka ^{TgTn(sb-cHS4,Tyr)2320A-2Ove})
Dhcr24	<u>Dhcr24^{tm1Lex}/Dhcr24^{tm1Lex}</u> (implica: 129S5/SvEvBrd * C57BL/6)
Dhh	<u>Dhh^{tm1Amc}/Dhh^{tm1Amc}</u> (implica: 129S1/Sv)
Dhh	<u>Dhh^{tm1Amc}/Dhh^{tm1Amc}</u> (implica: 129S1/Sv * C57BL/6J)
Dhh	<u>Dhh^{tm1Amc}/Dhh^{tm1Amc}</u> (implica: 129S1/Sv * C57BL/6J * Swiss Webster)

Dicer1 Plekha5	<u>Dicer1^{tm1Bdh}/Dicer1^{tm1Bdh}</u> <u>Plekha5^{Tg(AMH-cre)1Flor/0}</u> (implica: 129 * C57BL/6 * SJL)
Dmc1	<u>Dmc1^{Mei11}/Dmc1⁺</u> (implica: 129S4/SvJae * C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
Dmc1	<u>Dmc1^{Mei11}/Dmc1⁺</u> (implica: 129S4/SvJae * C57BL/6J)
Dmc1	<u>Dmc1^{Mei11}/Dmc1^{Mei11}</u> (implica: 129S4/SvJae * C57BL/6J)
Dmc1	<u>Dmc1^{tm1Jcs}/Dmc1^{tm1Jcs}</u> (implica: 129S4/SvJae * C57BL/6J)
Dmc1	<u>Dmc1^{tm1Tkm}/Dmc1^{tm1Tkm}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)
Dmd	<u>Dmd^{tm1.1Khan/Y}</u> (implica: C57BL/6 * CBA)
Dmrt1	<u>Dmrt1^{tm1.1Zark}/Dmrt1^{tm1.1Zark}</u> (implica: 129 * C57BL/6)
Dmrtc2	<u>Dmrtc2^{tm1.2Zark}/Dmrtc2^{tm1.2Zark}</u> (implica: 129S1/Sv * C57BL/6)
Dms	<u>Dms/Dms⁺</u> (implica: C57BL/6 * DBA/2)
Dnah1	<u>Dnah1^{tm1lhgg}/Dnah1^{tm1lhgg}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * CD-1)
Dnd1	<u>Dnd1^{Ter}/Dnd1^{Ter}</u> (129S1/Sv-Kit ^W Oca2 ^P Tyr ^{C-ch})
Dnd1	<u>Dnd1^{Ter}/Dnd1^{Ter}</u> <u>Sf1^{Gt(XD130)Byg/Sf1⁺}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * 129S1/SvImJ * 129T1/Sv)
Dnmt3l	<u>Dnmt3l^{tm1Bes}/Dnmt3l^{tm1Bes}</u> (implica: 129S6/SvEvTac)
Dpcd/Poll	<u>Dpcd/Poll^{Gt(OST280355)Lex}/Dpcd/Poll^{Gt(OST280355)Lex}</u> (implica: 129S5/SvEvBrd * C57BL/6Brd-Tyr ^{C-Brd})
Dpcd/Poll	<u>Dpcd/Poll^{tm1Nmt}/Dpcd/Poll^{tm1Nmt}</u> (implica: 129P2/OlaHsd)
Dpy19l2	<u>Dpy19l2^{tm1Lex}/Dpy19l2^{tm1Lex}</u> (B6;129S5-Dpy19l2 ^{tm1Lex} /Mmucd)
Dspd	<u>Dspd/Dspd⁺</u> (implica: C3H * C57BL/6)
Dync1h1	<u>Dync1h1^{Swf}/Dync1h1⁺</u> (implica: 101/H * C3H/HeH)
E2f1 E2f3	<u>E2f1^{tm1Meg}/E2f1^{tm1Meg}</u> <u>E2f3^{tm2.1Gle}/E2f3^{tm2.1Gle}</u> (implica: 129S4/SvJae * 129S6/SvEvTac * FVB/N * NIH Black Swiss)
Efnb2	<u>Efnb2^{tm1Henk}/Efnb2⁺</u> (bien: 129 o (implica: 129 * C57BL/6) o (implica: 129 * CD-1))

Egr1	<u>Egr1^{tm1Pch}/Egr1^{tm1Pch}</u> (implica: 129S2/SvPas * C57BL/6J)
Egr4	<u>Egr4^{tm1Jmi}/Egr4^{tm1Jmi}</u> (implica: C57BL/6)
Ehd1	<u>Ehd1^{tm1.2Haba}/Ehd1^{tm1.2Haba}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6J * FVB/N)
Ehd1	<u>Ehd1^{tm1.2Haba}/Ehd1^{tm1.2Haba}</u> (FVB.Cg-Ehd1 ^{tm1.2Haba})
Eif4h	<u>Eif4h^{Gt(Ex279)Byg}/Eif4h^{Gt(Ex279)Byg}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)
Elk1	<u>Elk1^{tm1Nor}/Y</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6N)
Elovl2	<u>Elovl2^{tm1Jaco}/Elovl2^{tm1Jaco}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J)
Emx1 Numb Numb1	<u>Emx1^{tm1(crc)Krf}/Emx1⁺</u> <u>Numb^{tm1Ynj}/Numb^{tm1Ynj}</u> <u>Numb1^{tm1Wmz}/Numb1^{tm1Wmz}</u> (implica: 129S2/SvPas * 129X1/SvJ * CD-1)
En1	<u>En1^{tm4(en)Alj}/En1^{tm4(en)Alj}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ)
Entpd5	<u>Entpd5^{tm1Rre}/Entpd5^{tm1Rre}</u> (implica: 129S5/SvEvBrd * C57BL/6J)
Epb4.112	<u>Epb4.112^{Gt(AL0682)Wtsi}/Epb4.112^{Gt(AL0682)Wtsi}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)
esgd12d	<u>esgd12d/esgd12d</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6)
Esp1 Meox2	<u>Esp1^{tm2Pzg}/Esp1⁺</u> <u>Meox2^{tm1(crc)Sor}/Meox2⁺</u> (implica: 129S4/SvJaeSor * 129S7/SvEvBrd)
Esr1	<u>Esr1^{tm1.1Gust}/Esr1^{tm1.1Gust}</u> (B6.129X1-Esr1 ^{tm1.1Gust})
Esr1 Esr2	<u>Esr1^{tm1.1Mma}/Esr1^{tm1.1Mma}</u> <u>Esr2^{tm1Mma}/Esr2^{tm1Mma}</u> (implica: 129S2/SvPas * C57BL/6 * SJL)
Esr1	<u>Esr1^{tm1Ksk}/Esr1^{tm1Ksk}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6J)
Esr1	<u>Esr1^{tm1Ksk}/Esr1^{tm1Ksk}</u> (implica: 129P2/OlaHsd)
Esr1 Esr2	<u>Esr1^{tm1Ksk}/Esr1^{tm1Ksk}</u> <u>Esr2^{tm1Unc}/Esr2^{tm1Unc}</u> (implica: 129P2/OlaHsd)
Esr2	<u>Esr2^{tm1.2Pcn}/Esr2^{tm1.2Pcn}</u> (implica: 129S2/SvPas * C57BL/6 * SJL)
Etl4 Etn2	<u>Etl4^{Gt(6LSN)6029Gos}/Etl4^{Gt(6LSN)6029Gos}</u> <u>Etn2^{Sd}/Etn2⁺</u> (implica: 129/Sv * 129S2/SvPas * C57BL/6 * NMRI)

Etv4	<u>Etv4^{tm1Hass}/Etv4^{tm1Hass}</u> (implica: 129S4/SvJae * BALB/c)
Etv5	<u>Etv5^{tm1Kmm}/Etv5^{tm1Kmm}</u> (implica: 129S6/SvEvTac)
Evx2	<u>Evx2/Hoxd13^{tm1Ddu}/Evx2/Hoxd13^{tm1Ddu}</u> (implica: 129S2/SvPas * C57BL/6)
Evx2	<u>Evx2/Hoxd13^{tm1Ddu}/Evx2/Hoxd13^{tm1Ddu}</u> (implica: 129S2/SvPas * C57BL/6)
Evx2	<u>Evx2^{tm1Ddu}/Evx2^{tm1Ddu}</u> (implica: 129S2/SvPas * C57BL/6J)
Ewsr1	<u>Ewsr1^{tm1Sblee}/Ewsr1^{tm1Sblee}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * Black Swiss)
Exo1	<u>Exo1^{tm1Wed}/Exo1^{tm1Wed}</u> (implica: 129/Sv * C57BL/6J * SJL)
Eya4	<u>Eya4^{tm1Jse}/Eya4^{tm1Jse}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * CBA/J)
Fads2	<u>Fads2^{tm1Mtna}/Fads2^{tm1Mtna}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * C57BL/6J)
Fads2	<u>Fads2^{tm1Wst}/Fads2^{tm1Wst}</u> (implica: 129P2/OlaHsd)
Fancc	<u>Fancc^{tm1Mab}/Fancc^{tm1Mab}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J)
Fanci	<u>Fanci^{gcd}/Fanci^{gcd}</u> (implica: C57BL/6J * CBA/J)
Fanci	<u>Fanci^{gcd}/Fanci^{tm1Ceb}</u> (implica: 129/Sv * C57BL/6 * FVB/N)
Fanci	<u>Fanci^{tm1Ceb}/Fanci^{tm1Ceb}</u> (bien: (implica: 129S7/SvEvBrd) o (implica: 129S7/SvEvBrd * FVB/N))
Fgfr3	<u>Fgfr3^{tm1J}/Fgfr3^{tm1J}</u> (CByJ.Cg-Fgfr3 ^{tm1J} /GrsrJ)
Fgfr3	<u>Fgfr3^{tm5.1Cxd}/Fgfr3⁺</u> (implica: 129S6/SvEvTac)
Fkbp4	<u>Fkbp4^{tm1Dvds}/Fkbp4^{tm1Dvds}</u> (implica: 129X1/SvJ * C57BL/6)
Fkbp4	<u>Fkbp4^{tm1Dvds}/Fkbp4^{tm1Dvds}</u> (bien: (implica: CD-1) o (implica: 129X1/SvJ * C57BL/6))
Fkbp6	<u>Fkbp6^{tm1Pngr}/Fkbp6^{tm1Pngr}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)
Fmn1	<u>Fmn1^{ld-3J}/Fmn1^{ld-3J}</u> (NOD.Cg Prkdc ^{scid} /J-Fmn1 ^{ld-3J} /GrsrJ)
Fndc3a	<u>Fndc3a^{Gt(RRP208)Byg}/Fndc3a^{sys}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C3H * C57BL/6 * FVB/N)
Fndc3a	<u>Fndc3a^{sys}/Fndc3a^{sys}</u> (implica: C3H * FVB/N)

Fndc3a	<u>Fndc3a^{sys}/Fndc3a^{sys}</u> (B6.Cg-Fndc3a ^{sys})
Foxi1	<u>Foxi1^{tm1Sven}/Foxi1^{tm1Sven}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ)
Foxp3	<u>Foxp3^{sf}/Y</u> (implica: STOCK MR)
Foxp3	<u>Foxp3^{tm2Flv}/Y</u> (implica: C57BL/6)
Fus	<u>Fus^{tm1(DDIT3)Dron}/Fus^{tm1(DDIT3)Dron}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * CD-1)
Fzd4	<u>Fzd4^{tm1Nat}/Fzd4^{tm1Nat}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)
Gal3st1	<u>Gal3st1^{tm1Kho}/Gal3st1^{tm1Kho}</u> (implica: 129P2/OlaHsd)
Galnt3	<u>Galnt3^{tm1Mjec}/Galnt3^{tm1Mjec}</u> (implica: 129S/SvEv * C57BL/6J)
Gamt	<u>Gamt^{tm1Isb}/Gamt^{tm1Isb}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ)
Gapdhs	<u>Gapdhs^{tm1Dao}/Gapdhs^{tm1Dao}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * C57BL/6N)
Gatm	<u>Gatm^{tm1.1Isb}/Gatm^{tm1.1Isb}</u> (B6.129-Gatm ^{tm1.1Isb})
Gdf7	<u>Gdf7^{tm1Kng}/Gdf7^{tm1Kng}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J)
Ggt1	<u>Ggt1^{tm1Zuk}/Ggt1^{tm1Zuk}</u> (implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J)
Gja1 Plekha5	<u>Gja1^{tm1Kwi}/Gja1^{tm1Kwi}</u> <u>Plekha5^{Tg(AMH-cre)1Flor/0}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6 * SJL)
Gja1	<u>Gja1^{tm2(Gjb1)Kwi}/Gja1^{tm2(Gjb1)Kwi}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)
Gja1	<u>Gja1^{tm3(Gja5)Kwi}/Gja1^{tm3(Gja5)Kwi}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)
Gja1	<u>Gja1^{tm7(Gja2)Kwi}/Gja1^{tm7(Gja2)Kwi}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6 * SJL)
Gli2 Gli3	<u>Gli2^{tm3.1(Gli1)Alj}/Gli2⁺</u> <u>Gli3^{Xt-J}/Gli3⁺</u> (bien: (implica: 129S6/SvEvTac * C3H/HeJ) o (implica: 129S6/SvEvTac * Black Swiss * C3H/HeJ))
Gira1	<u>Gira1^{spd}/Gira1^{spd}</u> (B6C3Fe a/a-Gira1 ^{spd/J})
Gnpat	<u>Gnpat^{tm1Just}/Gnpat^{tm1Just}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)
Gnrhr	<u>Gnrhr^{Gt(181A6)Cmhd}/Gnrhr^{Gt(181A6)Cmhd}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J)

Golga3	<u>Golga3^{Tg(06MGMT)T604Kccrl}/Golga3^{Tg(06MGMT)T604Kccrl}</u> (implica: C3H * C57BL/6)
Gopc	<u>Gopc^{tm1.1Tno}/Gopc^{tm1.1Tno}</u> (implica: 129S4/SvJae * C57BL/6)
Gpx4	<u>Gpx4^{tm3Marc}/Gpx4^{tm3Marc}</u> (implica: 129P2/OlaHsd)
Grid2	<u>Grid2^{ho-5J}/Grid2^{ho-5J}</u> (C57BLKS/J)
Grid2	<u>Grid2^{ho-Btlr}/Grid2^{ho-Btlr}</u> (C57BL/6J-Grid2 ^{ho-Btlr})
Grid2	<u>Grid2^{ho-cpr}/Grid2^{ho-cpr}</u> (implica: C57BL/10J * DBA/2J)
Grid2	<u>Grid2^{ho}/Grid2^{ho}</u> (C57BLKS/J)
Grm1	<u>Grm1^{crv4}/Grm1^{crv4}</u> (BALB/cPas-Grm1 ^{crv4})
Gtsf1	<u>Gtsf1^{tm1Miya}/Gtsf1^{tm1Miya}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)
Gusb	<u>Gusb^{mps}/Gusb^{mps}</u> (implica: C57BL/6By)
Gusb	<u>Gusb^{mps}/Gusb^{mps}</u> (B6.C-H2-K ^{bm1} /ByBir-Gusb ^{mps} /J)
H1fnt	<u>H1fnt^{tm1Yoni}/H1fnt^{tm1Yoni}</u> (implica: 129S1/Sv * C57BL/6)
H3f3b	<u>H3f3b^{tm1.1Psk}/H3f3b^{tm1.1Psk}</u> (implica: C57BL/6N * FVB/N)
H3f3b	<u>H3f3b^{tm1.2Hnn}/H3f3b⁺</u> (implica: 129S1/Sv * 129S1/SvImJ * 129S4/SvJaeSor)
Hdlk	<u>Hdlk/Hdlk</u> (STOCK Hdlk/GrsrJ)
hem6	<u>hem6/hem6</u> (implica: 129P2/OlaHsd * 129S6/SvEvTac * C57BL/6)
Herc2	<u>Herc2³/Herc2³</u> (BALB/cJ-Herc2 ³)
Herc2	<u>Herc2^{jdF2-1R}/Herc2^{jdF2-1R}</u> (No Especificado)
Herc2	<u>Herc2^{jdF2-2R}/Herc2^{jdF2-2R}</u> (No Especificado)
Herc2	<u>Herc2^{jdF2-3R}/Herc2^{jdF2-3R}</u> (No Especificado)
Herc2	<u>Herc2^{jdF2-8R}/Herc2^{jdF2-8R}</u> (No Especificado)
Hfe2	<u>Hfe2^{tm1Arbr}/Hfe2^{tm1Arbr}</u> (implica: 129S4 * 129X1/SvJ)

Hfm1	<u>Hfm1^{Gt(OST347241)Lex}/Hfm1^{Gt(OST347241)Lex}</u> (implica: 129S5/SvEvBrd * C57BL/6 * SJL)
Hip1	<u>Hip1^{tm2.1Tsr}/Hip1^{tm2.1Tsr}</u> (implica: 129X1/SvJ)
Hist1h1 Smcp Tnp2	<u>Hist1h1a^{tm1Drab}/Hist1h1a^{tm1Drab}</u> <u>Smcp^{tm1Wen}/Smcp^{tm1Wen}</u> <u>Tnp2^{tm1Wen}/Tnp2⁺</u> (implica: 129 * C57BL/6J)
Hist1h1 Smcp Tnp2	<u>Hist1h1a^{tm1Drab}/Hist1h1a^{tm1Drab}</u> <u>Smcp^{tm1Wen}/Smcp^{tm1Wen}</u> <u>Tnp2^{tm1Wen}/Tnp2^{tm1Wen}</u> (implica: 129 * C57BL/6J)
Hist1h1 Smcp Tnp2	<u>Hist1h1t^{tm1Drab}/Hist1h1t^{tm1Drab}</u> <u>Smcp^{tm1Wen}/Smcp^{tm1Wen}</u> <u>Tnp2^{tm1Wen}/Tnp2⁺</u> (implica: 129 * C57BL/6J)
Hist1h1 Smcp Tnp2	<u>Hist1h1t^{tm1Drab}/Hist1h1t^{tm1Drab}</u> <u>Smcp^{tm1Wen}/Smcp^{tm1Wen}</u> <u>Tnp2^{tm1Wen}/Tnp2^{tm1Wen}</u> (implica: 129 * C57BL/6J)
Hmga1	<u>Hmga1^{tm1Cha}/Hmga1⁺</u> (quimera implica: 129S1/Sv * C57BL/6J)
Hmga2	<u>Hmga2^{P9}/Hmga2^{P9}</u> (implica: A/St * C57BL * MacArthur's small stock)
Hmga2	<u>Hmga2^{tm1Cha}/Hmga2^{tm1Cha}</u> (implica: 129S7/SvEvBrd)
Hormad1	<u>Hormad1^{tm1.2Atot}/Hormad1^{tm1.2Atot}</u> (implica: 129/Sv * BALB/c * C57BL/6 * SJL)
Hormad1	<u>Hormad1^{tm1Atot}/Hormad1^{tm1Atot}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J0laHsd)
Hormad1	<u>Hormad1^{tm1Rajk}/Hormad1^{tm1Rajk}</u> (implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6)
Hormad2	<u>Hormad2^{tm1.2Atot}/Hormad2^{tm1.2Atot}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * BALB/c * C57BL/6 * SJL)
Hormad2	<u>Hormad2^{tm1Atot}/Hormad2^{tm1Atot}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J0laHsd)
Hormad2	<u>Hormad2^{tm1Kura}/Hormad2^{tm1Kura}</u> (bien: B6.Cg-Hormad2 ^{tm1Kura} o (implica: C57BL/6J * C57BL/6NCrlj * CBA/JNCrlj))
Hoxa10	<u>Hoxa10^{tm1Ipc}/Hoxa10^{tm1Ipc}</u> (bien: (implica: 129S2/SvPas) o (implica: 129S2/SvPas * C57BL/6))
Hoxa10	<u>Hoxa10^{tm1Rilm}/Hoxa10^{tm1Rilm}</u> (bien: (implica: 129S4/SvJae) o (implica: 129S4/SvJae * C57BL/6))

Hoxa11 Hoxc11 Hoxd11	<u>Hoxa11^{tm1Dmwe}/Hoxa11⁺</u> <u>Hoxc11^{tm1Mrc}/Hoxc11⁺</u> <u>Hoxd11^{tm1Mrc}/Hoxd11⁺</u> (implica: 129S1/Sv * 129S7/SvEvBrd * 129X1/SvJ * C57BL/6)
Hoxa11	<u>Hoxa11^{tm1Dmwe}/Hoxa11^{tm1Dmwe}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)
Hoxa11 Hoxc11 Hoxd11	<u>Hoxa11^{tm1Mrc}/Hoxa11⁺</u> <u>Hoxc11^{tm1Mrc}/Hoxc11⁺</u> <u>Hoxd11^{tm1Mrc}/Hoxd11⁺</u> (implica: 129S7/SvEvBrd)
Hoxa11 Hoxc11 Hoxd11	<u>Hoxa11^{tm1Mrc}/Hoxa11⁺</u> <u>Hoxc11^{tm1Mrc}/Hoxc11⁺</u> <u>Hoxd11^{tm1Mrc}/Hoxd11^{tm1Mrc}</u> (implica: 129S7/SvEvBrd)
Hoxa11 Hoxc11 Hoxd11	<u>Hoxa11^{tm1Mrc}/Hoxa11⁺</u> <u>Hoxc11^{tm1Mrc}/Hoxc11^{tm1Mrc}</u> <u>Hoxd11^{tm1Mrc}/Hoxd11⁺</u> (implica: 129S7/SvEvBrd)
Hoxa11 Hoxc11 Hoxd11	<u>Hoxa11^{tm1Mrc}/Hoxa11^{tm1Mrc}</u> <u>Hoxc11^{tm1Mrc}/Hoxc11⁺</u> <u>Hoxd11^{tm1Mrc}/Hoxd11⁺</u> (implica: 129S7/SvEvBrd)
Hoxa11 Hoxd11	<u>Hoxa11^{tm1Mrc}/Hoxa11^{tm1Mrc}</u> <u>Hoxd11^{tm2.1(Hoxd11)Mrc}/Hoxd11^{tm2.1(Hoxd11)Mrc}</u> (implica: BALB/cJ)
Hoxa11	<u>Hoxa11^{tm1Ssp}/Hoxa11^{tm1Ssp}</u> (implica: 129S2/SvPas * CF1)
Hoxa13	<u>Hoxa13^{Hd}/Hoxa13^{Hd}</u> (B6C3Fe-a/a Hoxa13 ^{Hd} Mcoln3 ^{Va-1/J})
Hoxd4 Rarg	<u>Hoxd4^{tm1Bhr}/Hoxd4^{tm1Bhr}</u> <u>Rarg^{tm1Ipc}/Rarg^{tm1Ipc}</u> (implica: 129S2/SvPas * 129S7/SvEvBrd * CD-1)
Hoxd9 Hoxd10	<u>Hoxd9^{tm1Emca}/Hoxd9^{tm1Emca}</u> <u>Hoxd10^{tm1Emca}/Hoxd10^{tm1Emca}</u> (implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6)
Hoxd11	<u>Hoxd11^{tm1Ipc}/Hoxd11^{tm1Ipc}</u> (bien: (implica: 129/Sv * 129S2/SvPas) o (implica: 129S2/SvPas * C57BL/6))
Hoxd13	<u>Hoxd13^{Dyc}/Hoxd13^{Dyc}</u> (BALB/c-Hoxd13 ^{Dyc})
Hoxd13	<u>Hoxd13^{spdh}/Hoxd13^{spdh}</u> (B6C3Fe a/a-Hoxd13 ^{spdh/J})
Hoxd13	<u>Hoxd13^{tm1Ddu}/Hoxd13^{tm1Ddu}</u> (bien: (implica: 129S2/SvPas * 129/Sv) o (implica: 129S2/SvPas * C57BL/6))
Hsd17b4	<u>Hsd17b4^{tm1Baes}/Hsd17b4^{tm1Baes}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ)

Hsf1 Hsf2	<u>Hsf1^{tm1Miv}/Hsf1^{tm1Miv}</u> <u>Hsf2^{tm1Miv}/Hsf2^{tm1Miv}</u> (implica: 129S2/SvPas * 129X1/SvJ * C57BL/6)
Hsp90aa1	<u>Hsp90aa1^{Gt(S17-2G1)Sor}/Hsp90aa1^{Gt(S17-2G1)Sor}</u> (implica: 129S4/SvJaeSor)
Hsp90aa1	<u>Hsp90aa1^{Gt(XE444)Byg}/Hsp90aa1^{Gt(XE444)Byg}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)
Hsp90aa1	<u>Hsp90aa1^{Tg(Tyr)2396BOve}/Hsp90aa1^{Tg(Tyr)2396BOve}</u> (FVB/N-Hsp90aa1 ^{Tg(Tyr)2396BOve})
Hsp90aa1	<u>Hsp90aa1^{tm1.1Udon}/Hsp90aa1^{tm1.1Udon}</u> (implica: C57BL/6 * FVB)
Hspa2	<u>Hspa2^{tm1Dix}/Hspa2^{tm1Dix}</u> (bien: 129S/SvEv c * C57BL/6)
Hspa4	<u>Hspa4^{tm1Imad}/Hspa4^{tm1Imad}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)
Hstx1	<u>Hstx1^{PWD/Ph/Y}</u> (implica: C57BL/6J * PWD/Ph)
Htt 668Hay	<u>Htt^{tm1Hay}/Htt^{tm1Hay}</u> <u>Tg(YAC46)668Hay/0</u> (implica: FVB/N)
Htt 2511Hay	<u>Htt^{tm1Hay}/Htt^{tm1Hay}</u> <u>Tg(YAC72)2511Hay/0</u> (implica: FVB/N)
Hydin	<u>Hydin^{hy3}/Hydin^{hy3}</u> (implica: CBA)
Immp2l	<u>Immp2l^{Tg(Tyr)979Ove}/Immp2l^{Tg(Tyr)979Ove}</u> (FVB/N-Immp2l ^{Tg(Tyr)979Ove})
Ing2	<u>Ing2^{tm1.1Ccha}/Ing2^{tm1.1Ccha}</u> (implica: 129/Sv * C57BL/6J * FVB/N)
Ing2 Trp53	<u>Ing2^{tm1.1Ccha}/Ing2^{tm1.1Ccha}</u> <u>Trp53^{tm1Brd}/Trp53^{tm1Brd}</u> (implica: 129/Sv * 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J * FVB/N)
Inha	<u>Inha^{tm1Bay}/Inha^{tm1Bay}</u> (implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6)
Inpp5b	<u>Inpp5b^{tm1Nbm}/Inpp5b^{tm1Nbm}</u> (bien: (implica: 129S6/SvEvTac * C57BL/6) o (implica: 129S6/SvEvTac * NIH Black Swiss))
Inpp5b	<u>Inpp5b^{tm1Nbm}/Inpp5b^{tm1Nbm}</u> (129S6/SvEvTac)
Inpp5b	<u>Inpp5b^{tm2.1Nbm}/Inpp5b^{tm2.1Nbm}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * FVB/N)
Insl3	<u>Insl3^{tm1Imad}/Insl3^{tm1Imad}</u> (implica: 129/Sv * CD-1)
Insl3	<u>Insl3^{tm1Par}/Insl3^{tm1Par}</u> (implica: 129/Sv * CD-1)

Insl5	<u>Insl5^{tm1Imad}/Insl5^{tm1Imad}</u> (129(B6)-Insl5 ^{tm1Imad})
Insl6	<u>Insl6^{tm1Imad}/Insl6^{tm1Imad}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J * CD-1)
Ip6k1	<u>Ip6k1^{tm1.1Snyd}/Ip6k1^{tm1.1Snyd}</u> (implica: 129X1/SvJ * BALB/c * C57BL/6)
Izumo1	<u>Izumo1^{tm1Osb}/Izumo1^{tm1Osb}</u> (implica: 129S2/SvPas * C57BL/6)
Jam3	<u>Jam3^{tm1.2Chav}/Jam3^{tm1.2Chav}</u> (implica: 129 * C57BL/6)
Jam3	<u>Jam3^{tm1.2Chav}/Jam3^{tm1.2Chav}</u> (B6.129-Jam3 ^{tm1.2Chav})
Jam3	<u>Jam3^{tm1Rha}/Jam3^{tm1Rha}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)
Jam3 1Maal	<u>Jam3^{tm1Rha}/Jam3^{tm1Rha}</u> <u>Tg(Tek-Jam3)1Maal/?</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6 * C57BL/6J * CBA)
Jund	<u>Jund^{tm1Mya}/Jund^{tm1Mya}</u> (bien: 129S2/SvPas o (implica: 129S2/SvPas * C57BL/6))
Katnal1	<u>Katnal1^{1H}/Katnal1^{1H}</u> (implica: C3H/HeH * C57BL/6J)
Katnb1	<u>Katnb1^{tailly}/Katnb1^{tailly}</u> (implica: C57BL/6 * CBA)
Kcnj6	<u>Kcnj6^{wv}/Kcnj6⁺</u> (implica: C57BL/6J)
Kcnj6	<u>Kcnj6^{wv}/Kcnj6^{wv}</u> (implica: C57BL/6 * CBA/CaGnLe)
Kcnu1	<u>Kcnu1^{tm1.2Cln}/Kcnu1^{tm1.2Cln}</u> (B6.Cg-Kcnu1 ^{tm1.2Cln})
Kcnu1	<u>Kcnu1^{tm1Cmsa}/Kcnu1^{tm1Cmsa}</u> (No Especificado)
Kdm3a	<u>Kdm3a^{Gt(YHA186)Byg}/Kdm3a^{Gt(YHA186)Byg}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)
Kdm3a	<u>Kdm3a^{tm1Jxu}/Kdm3a^{tm1Jxu}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * C57BL/6)
Khdrbs1	<u>Khdrbs1^{tm1Rchd}/Khdrbs1^{tm1Rchd}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)
Kiss1	<u>Kiss1^{tm1Rla}/Kiss1^{tm1Rla}</u> (implica: 129S1/SvImJ)
Kiss1r	<u>Kiss1r^{tm1.1Lex}/Kiss1r^{tm1.1Lex}</u> (implica: 129S4/SvJae)
Kiss1r	<u>Kiss1r^{tm1Gstn}/Kiss1r^{tm1Gstn}</u> (implica: 129P2/OlaHsd)
Kiss1r	<u>Kiss1r^{tm1Rla}/Kiss1r^{tm1Rla}</u> (implica: 129S1/SvImJ)

Kit	<u>Kit^{Mhdasow3}/Kit^{Mhdasow3}</u> (C3HeB/FeJ-Kit ^{Mhdasow3})
Kit	<u>Kit^{Ssm}/Kit⁺</u> (implica: C57BL/10 * No endogámico)
Kit	<u>Kit^{tm1.1Bsm}/Kit^{tm1.1Bsm}</u> (implica: 129S1/Sv * BALB/c * C57BL/6J * FVB/N)
Kit	<u>Kit^{tm1Bpr}/Kit^{tm1Bpr}</u> (bien: (implica: 129/Sv) o (implica: 129/Sv * C57BL/6))
Kit	<u>Kit^{tm1Hntr}/Kit^{tm1Hntr}</u> (bien: (implica: 129/Sv * C57BL/6 * DBA/2) o (implica: 129S1))
Kit	<u>Kit^{W-1Bao}/Kit⁺</u> (C57BL/6J-Kit ^{W-1Bao})
Kit	<u>Kit^{W-39J}/Kit^{W-44J}</u> (implica: C3H/HeJ * C57BL/6J)
Kit	<u>Kit^{W-44J}/Kit^{W-44J}</u> (B6.C3-Kit ^{W-44J})
Kit	<u>Kit^{W-55J}/Kit^{W-55J}</u> (C57BL/6J)
Kit	<u>Kit^{W-ei}/Kit^{W-ei}</u> (C57BL-Kit ^{W-ei})
Kit	<u>Kit^{W-pw}/Kit⁺</u> (implica: STOCK Prop1 ^{df} Myo5a ^d Bmp5 ^{se})
Kit	<u>Kit^{W-pw}/Kit^{W-v}</u> (implica: STOCK Prop1 ^{df} Myo5a ^d Bmp5 ^{se})
Kit	<u>Kit^{Wads}/Kit^{Wads}</u> (C57BL/6J-Kit ^{Wads})
Kit	<u>Kit^{SI-17H}/Kit^{SI-17H}</u> (C3H/HeH-Kit ^{SI-17H})
Kitl	<u>Kit^{SI-m}/Kit^{SI-m}</u> (C57BL/6)
Khl10	<u>Khl10^{tm1Zuk}/Khl10⁺</u> (quimera implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J)
Kmt2e	<u>Kmt2e^{tm1.1Hjf}/Kmt2e^{tm1.1Hjf}</u> (B6.129P2-Kmt2e ^{tm1.1Hjf})
Kmt2e	<u>Kmt2e^{tm1Apa}/Kmt2e^{tm1Apa}</u> (129S6/SvEvTac-Kmt2e ^{tm1Apa})
L1cam	<u>L1cam^{tm1Sor}/Y</u> (bien: 129S7/SvEvBrd-L1cam ^{tm1Sor} o (129S7/SvEvBrd * C57BL/6J)F1)
Large	<u>Large^{enr-Tg(MpbReg)36Pop}/Large^{enr-Tg(MpbReg)36Pop}</u> (implica: C57BL/6J * DBA/2J)
Large	<u>Large^{myd-3J}/Large^{myd-3J}</u> (STOCK Large ^{myd-3J} /GrsrJ)
Lbr	<u>Lbr^{Gt(XE569)Byg}/Lbr^{Gt(XE569)Byg}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6Cr)

Ldhc	<u>Ldhc^{tm1Erg}/Ldhc^{tm1Erg}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * C57BL/6N)
Lep	<u>Lep^{ob}/Lep^{ob}</u> (implica: 129X1/SvJ * C57BL/6)
Lep	<u>Lep^{ob}/Lep^{ob}</u> (implica: V)
Lep Npy2r	<u>Lep^{ob}/Lep^{ob}</u> <u>Npy2r^{tm1.1Hhz}/Npy2r^{tm1.1Hhz}</u> (implica: 129X1/SvJ * C57BL/6)
Lepr	<u>Lepr^{db-NCSU}/Lepr^{db-NCSU}</u> (implica: CD-1)
Lepr	<u>Lepr^{db-Pas}/Lepr^{db-Pas}</u> (DW/Pas)
Lepr	<u>Lepr^{tm1Yli}/Lepr^{tm1Yli}</u> (B6.129-Lepr ^{tm1Yli})
Lepr	<u>Lepr^{tm2Yli}/Lepr^{tm2Yli}</u> (B6.129-Lepr ^{tm2Yli})
Lfng	<u>Lfng^{tm1Rjo}/Lfng^{tm1Rjo}</u> (bien: (implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J) o (implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J * FVB/N))
Lfng	<u>Lfng^{tm1Rjo}/Lfng^{tm1Rjo}</u> <u>Tg(Lfng-LFNG)1Dihz/0</u> (implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J * CBA)
Lfng 2Dihz	<u>Lfng^{tm1Rjo}/Lfng^{tm1Rjo}</u> <u>Tg(Lfng-LFNG)2Dihz/?</u> (implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J * CBA)
Lgr4	<u>Lgr4^{Gt(pGT0TMpfs)1Wcs}/Lgr4^{Gt(pGT0TMpfs)1Wcs}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6 * CD-1)
Lgr4	<u>Lgr4^{Gt(pU-21)1Kymm}/Lgr4^{Gt(pU-21)1Kymm}</u> (CBA.Cg-Lgr4 ^{Gt(pU-21)1Kymm})
Lhb	<u>Lhb^{tm1Kmr}/Lhb^{tm1Kmr}</u> (implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J)
Lhcgr	<u>Lhcgr^{tm1Cvr}/Lhcgr^{tm1Cvr}</u> (bien: 129X1/SvJ-Lhcgr ^{tm1Cvr} o (implica: 129X1/SvJ * C57BL/6))
Lhcgr	<u>Lhcgr^{tm1Hht}/Lhcgr^{tm1Hht}</u> (implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J)
Lhx9	<u>Lhx9^{tm1Lmgd}/Lhx9^{tm1Lmgd}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)
Lipe	<u>Lipe^{tm1Gam}/Lipe^{tm1Gam}</u> (implica: 129S4/SvJae)
Lipe	<u>Lipe^{tm1Ishi}/Lipe^{tm1Ishi}</u> (implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6)
Lipe	<u>Lipe^{tm1Land}/Lipe^{tm1Land}</u> (implica: 129 * C57BL/6J)
Lmtk2	<u>Lmtk2^{tm1Tya}/Lmtk2^{tm1Tya}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)

Lmx1a	<u>Lmx1a^{dr-6J}/Lmx1a^{dr-6J}</u> (C3H/HeJ)
Lnp	<u>Lnp^{UJ}/Lnp⁺</u> (implica: 101/H * C3H/HeJ)
Lnp	<u>Lnp^{UJ}/Lnp⁺</u> (implica: 101/H * C3H/HeJ * C57BL/6J)
Lpin1	<u>Lpin1^{fld-2J}/Lpin1^{fld-2J}</u> (C3H/HeJ-Lpin1 ^{fld-2J} /J)
Lpin1	<u>Lpin1^{fld}/Lpin1^{fld}</u> (BALB/cByJ-Lpin1 ^{fld})
Lrp8	<u>Lrp8^{tm1Her}/Lrp8^{tm1Her}</u> (implica: 129S6/SvEvTac)
Lsr	<u>Lsr^{tm1Mdar}/Lsr^{tm1Mdar}</u> (bien: : (implica: 129P2/OlaHsd) o (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6) o (implica: 129P2/OlaHsd * MF1))
M1ap	<u>M1ap^{Gt(RRO290)Byg}/M1ap^{Gt(RRO290)Byg}</u> (implica: 129P2/OlaHsd)
Mab21l1	<u>Mab21l1^{tm1Nao}/Mab21l1^{tm1Nao}</u> (implica: C57BL/6)
Mad2l2	<u>Mad2l2^{tm1Ymu}/Mad2l2^{tm1Ymu}</u> (implica: 129 * C57BL/6J)
Mael	<u>Mael^{tm1Bort}/Mael^{tm1Bort}</u> (B6.129S4-Mael ^{tm1Bort})
Man2a2	<u>Man2a2^{tm1Mfu}/Man2a2^{tm1Mfu}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ)
Map3k4	<u>Map3k4^{tm1GJ}/Map3k4^{tm1GJ}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * C57BL/6)
Map7	<u>Map7^{Gt(ROSABetageo)1Sor}/Map7^{Gt(ROSABetageo)1Sor}</u> (bien: : 129S4/SvJaeSor-Map7 ^{Gt(ROSABetageo)1Sor} o (implica: 129S4/SvJaeSor * C57BL/6J))
Map7	<u>Map7^{mshi}/Map7^{mshi}</u> (BALB/cBy)
Mapk8ip2	<u>Mapk8ip2^{tm1Rjd}/Mapk8ip2^{tm1Rjd}</u> (implica: 129X1/SvJ * C57BL/6)
Mcm8	<u>Mcm8^{tm1.1Geno}/Mcm8^{tm1.1Geno}</u> (implica: 129S2/SvPas * C57BL/6J)
Mcph1	<u>Mcph1^{tm1.2Kali}/Mcph1^{tm1.2Kali}</u> (implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J)
Mdc1	<u>Mdc1^{Gt(OST441263)Lex}/Mdc1^{Gt(OST441263)Lex}</u> (implica: 129S5/SvEvBrd * C57BL/6)
Mecp2	<u>Mecp2^{tm1.1Vnar}/Mecp2^{tm1.1Vnar}</u> (B6N.129-Mecp2 ^{tm1.1Vnar})
Mecp2	<u>Mecp2^{tm1Vnar}/Y</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6NCrl)

Mei1	<u>Mei1^{tm1Jcs}/Mei1^{tm1Jcs}</u> (implica: 129S1/Sv * C57BL/6J)
Meig1	<u>Meig1^{tm1.2Zzha}/Meig1^{tm1.2Zzha}</u> (No Especificado)
Meig1	<u>Meig1^{tm1Shpi}/Meig1^{tm1Shpi}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * BALB/c)
Mgat2	<u>Mgat2^{tm1.1Jxm}/Mgat2^{tm1.1Jxm}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * ICR)
Mhstq1	<u>Mhstq1^{M. macedonius}/Mhstq1^{M. macedonius}</u> (implica: C57BL/6J * M. macedonius)
Mhstq2	<u>Mhstq2^{M. macedonius}/Mhstq2^{M. macedonius}</u> (implica: C57BL/6J * M. macedonius)
Mir9-3	<u>Mir9-3^{tm1Sla}/Mir9-3^{tm1Sla}</u> (implica: C57BL/6 * CBA)
Mitf	<u>Mitf^{fmi-Crc}/Mitf^{fmi-Crc}</u> (CBA/CaCrc)
Mitf	<u>Mitf^{fmi-enu5}/Mitf^{fmi-enu5}</u> (implica: 102 * C3H/EI)
Mitf	<u>Mitf^{fmi-Mhdabcc2}/Mitf^{fmi-Mhdabcc2}</u> (C3HeB/FeJ)
Mkks	<u>Mkks^{tm1Vcs}/Mkks^{tm1Vcs}</u> (bien: (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ) o (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J))
Mlh1	<u>Mlh1^{tm1Lisk}/Mlh1^{tm1Lisk}</u> (implica: 129S7/SvEvBrd)
Mlh1	<u>Mlh1^{tm1Rak}/Mlh1^{tm1Rak}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)
Mlh1	<u>Mlh1^{tm1Wed}/Mlh1^{tm1Wed}</u> (implica: 129/Sv * C57BL/6J * SJL)
Mlh3	<u>Mlh3^{tm1Lpkn}/Mlh3^{tm1Lpkn}</u> (implica: 129S/SvEv)
Mmel1	<u>Mmel1^{tm1Ldg}/Mmel1^{tm1Ldg}</u> (implica: 129S/SvEv * MF1)
Mns1	<u>Mns1^{tm1Jw}/Mns1^{tm1Jw}</u> (implica: 129S4/SvJae * C57BL/6)
Morc1	<u>Morc1^{Tg(Tyr)1Az}/Morc1^{Tg(Tyr)1Az}</u> (FVB/N)
Mov10l1	<u>Mov10l1^{tm1.2Eno}/Mov10l1^{tm1.2Eno}</u> (implica: 129S/SvEv * C57BL/6)
Mov10l1	<u>Mov10l1^{tm1.2Jw}/Mov10l1^{tm1.2Jw}</u> (implica: 129S4/SvJae * C57BL/6 * FVB/N)
Mpz	<u>Mpz^{ttrr}/Mpz^{ttrr}</u> (B6.Cg-Mpz ^{ttrr} /GrsrJ)
Msh4	<u>Msh4^{tm1Wed}/Msh4^{tm1Wed}</u> (implica: 129/Sv * C57BL/6 * SJL)

Msh4 Msh5	<u>Msh4^{tm1Wed}/Msh4^{tm1Wed}</u> <u>Msh5^{tm1Rak}/Msh5^{tm1Rak}</u> (implica: 129/Sv * C57BL/6 * SJL)
Msh5	<u>Msh5^{tm1Htr}/Msh5^{tm1Htr}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * FVB)
Msh5	<u>Msh5^{tm1Rak}/Msh5^{tm1Rak}</u> (implica: 129/Sv * C57BL/6J * SJL)
Mybl1	<u>Mybl1^{repro9}/Mybl1^{repro9}</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
Mybl1	<u>Mybl1^{repro9}/Mybl1^{tm1Epr}</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
Mybl1	<u>Mybl1^{tm1Epr}/Mybl1^{tm1Epr}</u> (No Especificado)
Myo7a	<u>Myo7a^{sh1-6J}/Myo7a^{sh1-6J}</u> (implica: C57BLKS/J)
Nanos2	<u>Nanos2^{tm1Ysa}/Nanos2^{tm1Ysa}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * ICR)
Nanos3	<u>Nanos3^{tm1Ysa}/Nanos3^{tm1Ysa}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * ICR)
Nek1	<u>Nek1^{kat-2J}/Nek1^{kat-2J}</u> (C57BL/6J-Nek1 ^{kat-2J} /J)
Nek1	<u>Nek1^{kat}/Nek1^{kat}</u> (implica: C3HeB/FeJLe * RBF/Dn)
Neur11a	<u>Neur11a^{tm1Lcd}/Neur11a^{tm1Lcd}</u> (implica: 129S6/SvEvTac)
Nfia	<u>Nfia^{tm1Rmg}/Nfia^{tm1Rmg}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * Black Swiss)
Nhlh2	<u>Nhlh2^{tm1Irk}/Nhlh2^{tm1Irk}</u> (implica: 129S4/SvJae * C57BL/6)
Nos1	<u>Nos1^{tm2Plh}/Nos1^{tm2Plh}</u> (No Especificado)
Notch3	<u>Notch3^{hpbk}/Notch3^{hpbk}</u> (C57BL/6J-Notch3 ^{hpbk} /GrsrJ)
Npc1	<u>Npc1^{miN}/Npc1^{miN}</u> (implica: BALB/c)
Npepps	<u>Npepps^{goku}/Npepps^{goku}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * BALB/cA)
Nphp1	<u>Nphp1^{tm1.1Hung}/Nphp1^{tm1.1Hung}</u> (B6.Cg-Nphp1 ^{tm1.1Hung})
Nphp4	<u>Nphp4^{nmf192}/Nphp4^{nmf192}</u> (implica: C57BL/6J)
Nr0b1	<u>Nr0b1^{tm1.1Lja}/Y</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ)
Nr5a1	<u>Nr5a1^{tm1.1Hain}/Nr5a1^{tm1.1Hain}</u> (No Especificado)

Nr5a1 3Sac	<u>Nr5a1^{tm2Klp}/Nr5a1^{tm2.1Klp}</u> <u>Tg(Cga-cre)3Sac/0</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6J * SJL)
Nsun2	<u>Nsun2^{Gt(D014D11)Wrt}/Nsun2^{Gt(D014D11)Wrt}</u> (implica: 129S2/SvPas * C57BL/6J * CBA)
Nsun2	<u>Nsun2^{tm1a(EUCOMM)Wtsi}/Nsun2^{tm1a(EUCOMM)Wtsi}</u> (implica: C57BL/6N)
Nup210l	<u>Nup210l^{Tg(Gt(ROSA)26Sor-EGFP)130910Eps}/Nup210l^{Tg(Gt(ROSA)26Sor-EGFP)130910Eps}</u> (FVB/NTac-Nup210l ^{Tg(Gt(ROSA)26Sor-EGFP)130910Eps} /Mmmh)
Nxf2	<u>Nxf2^{tm1.2Jw}/Y</u> (implica: 129S1/Sv * 129S4/SvJae * 129X1/SvJ * C57BL/6)
Nxf2	<u>Nxf2^{tm1.2Jw}/Y</u> (B6.Cg-Nxf2 ^{tm1.2Jw})
Nxph1	<u>Nxph1^{tm1Sud}/Nxph1^{tm1Sud}</u> (129S6/SvEvTac)
Oaz3	<u>Oaz3^{tm1Htan}/Oaz3^{tm1Htan}</u> (implica: 129S1/Sv * C57BL/6)
Oca2	<u>Oca2^{p-6H}/Oca2^{p-6H}</u> (implica: 101/H * C3H/HeH)
Oca2	<u>Oca2^{p-12DTR}/Oca2^{p-12DTR}</u> (implica: 101/RI * C3H/RI)
Oca2	<u>Oca2^{p-103G}/Oca2^{p-103G}</u> (implica: 101/RI * C3H/RI)
Oca2	<u>Oca2^{p-5}/Oca2^{p-5}</u> (No Especificado)
Ocln	<u>Ocln^{tm1Sts}/Ocln^{tm1Sts}</u> (implica: 129S4/SvJae * C57BL/6)
Ocln	<u>Ocln^{tm2Sts}/Ocln^{tm2Sts}</u> (implica: 129S4/SvJae * C57BL/6)
Odf1	<u>Odf1^{tm1Shf}/Odf1^{tm1Shf}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J)
Odf2	<u>Odf2^{Gt(XL169)Byg}/Odf2⁺</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)
Odf2	<u>Odf2^{tm1.2Sats}/Odf2⁺</u> (implica: C57BL/6 * C57BL/6J)
P2rx1	<u>P2rx1^{tm1Chn}/P2rx1^{tm1Chn}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * MF1)
Pafah1b1	<u>Pafah1b1^{Gt(IRESBetageo)1Hha}/Pafah1b1^{Gt(IRESBetageo)1Hha}</u> (implica: 129/Sv * NMRI)
Pafah1b2	<u>Pafah1b2^{Gt(Betageo)1Cla}/Pafah1b2^{Gt(Betageo)1Cla}</u> (implica: 129S6/SvEvTac)
Pafah1b2 Pafah1b3	<u>Pafah1b2^{Gt(Betageo)1Cla}/Pafah1b2^{Gt(Betageo)1Cla}</u> <u>Pafah1b3^{tm1Cla}/Pafah1b3^{tm1Cla}</u> (implica: 129S6/SvEvTac)

Pafah1b2 Pafah1b3	<u>Pafah1b2^{tm1Arai}/Pafah1b2^{tm1Arai}</u> <u>Pafah1b3^{tm1Arai}/Pafah1b3^{tm1Arai}</u> (implica: 129X1/SvJ * C57BL/6N)
Paip2	<u>Paip2^{tm1.2Nso}/Paip2^{tm1.2Nso}</u> (B6.129-Paip2 ^{tm1.2Nso})
Paip2 Paip2b	<u>Paip2^{tm1.2Nso}/Paip2^{tm1.2Nso}</u> <u>Paip2b^{tm1.2Nso}/Paip2b^{tm1.2Nso}</u> (B6.129-Paip2b ^{tm1.2Nso} Paip2 ^{tm1.2Nso})
Pank2	<u>Pank2^{tm1.1Suja}/Pank2^{tm1.1Suja}</u> (implica: 129S/SvEv * C57BL/6J * FVB/N)
Pank2	<u>Pank2^{tm1Jgt}/Pank2^{tm1Jgt}</u> (implica: 129X1/SvJ * C57BL/6J)
Pap0lb	<u>Pap0lb^{tm1Tba}/Pap0lb^{tm1Tba}</u> (implica: 129S2/SvPas * C57BL/6)
Patz1	<u>Patz1^{tm1Pchl}/Patz1^{tm1Pchl}</u> (No Especificado)
Pax8	<u>Pax8^{tm1Pgr}/Pax8^{tm1Pgr}</u> (bien: (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ) o (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6))
Pdgfra Plekha1	<u>Pdgfra^{tm1Sor}/Pdgfra⁺</u> <u>Plekha1^{Gt(ROSA)82Sor}/Plekha1^{Gt(ROSA)82Sor}</u> (bien: (implica: 129S4/SvJaeSor) o (implica: 129S4/SvJaeSor * C57BL/6))
Pdgfra Sgpl1	<u>Pdgfra^{tm1Sor}/Pdgfra⁺</u> <u>Sgpl1^{Gt(ROSA)78Sor}/Sgpl1^{Gt(ROSA)78Sor}</u> (bien: (implica: 129S4/SvJaeSor) o (implica: 129S4/SvJaeSor * C57BL/6))
Pdgfrb Plekha1	<u>Pdgfrb^{tm1Sor}/Pdgfrb⁺</u> <u>Plekha1^{Gt(ROSA)82Sor}/Plekha1^{Gt(ROSA)82Sor}</u> (bien: (implica: 129S4/SvJaeSor * 129S7/SvEvBrd) o (implica: 129S4/SvJaeSor * 129S7/SvEvBrd * C57BL/6))
Pdgfrb Sgpl1	<u>Pdgfrb^{tm1Sor}/Pdgfrb⁺</u> <u>Sgpl1^{Gt(ROSA)78Sor}/Sgpl1^{Gt(ROSA)78Sor}</u> (bien: (implica: 129S4/SvJaeSor * 129S7/SvEvBrd) o (implica: 129S4/SvJaeSor * 129S7/SvEvBrd * C57BL/6))
Pdilt	<u>Pdilt^{tm1Osb}/Pdilt^{tm1Osb}</u> (implica: 129S2/SvPas)
Pex5 Plekha5	<u>Pex5^{tm1Pec}/Pex5^{tm1Pec}</u> <u>Plekha5^{Tg(AMH-cre)1Flor}/0</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ)
Pfdn5	<u>Pfdn5^{nmf5a}/Pfdn5^{nmf5a}</u> (C57BL/6-Pfdn5 ^{nmf5a})
Pgk2	<u>Pgk2^{tm1Dao}/Pgk2^{tm1Dao}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * C57BL/6NCrl)
Pgm3	<u>Pgm3^{Gt(W037B08)Wrst}/Pgm3^{mld1}</u> (implica: 129S1/Sv * C57BL/6)
Pgm3	<u>Pgm3^{mld1}/Pgm3^{mld1}</u> (C57BL/6-Pgm3 ^{mld1})

Pi4k2a	<u>Pi4k2a^{Gt(AK0094)Wtsi}/Pi4k2a^{Gt(AK0094)Wtsi}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * BALB/c)
Pick1	<u>Pick1^{tm1Rlh}/Pick1^{tm1Rlh}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ)
Pifo	<u>Pifo^{tm1.1Heli}/Pifo⁺</u> (quimera implica: 129S6/SvEvTac * C57BL/6J)
Pip5k1a Pip5k1b	<u>Pip5k1a^{tm1.1Tba}/Pip5k1a^{tm1.1Tba}</u> <u>Pip5k1b^{tm1Tssk}/Pip5k1b^{tm1Tssk}</u> (implica: 129P2/OlaHsd)
Piwil1	<u>Piwil1^{tm1.1Embrp}/Piwil1⁺</u> (implica: 129S4/SvJaeSor * C57BL/6)
Piwil1	<u>Piwil1^{tm1.1Embrp}/Piwil1^{tm1.2Embrp}</u> (implica: 129S4/SvJaeSor * BALB/cJ * C57BL/6)
Piwil1	<u>Piwil1^{tm1.2Embrp}/Piwil1^{tm1.2Embrp}</u> (implica: 129S4/SvJaeSor * BALB/cJ * C57BL/6)
Piwil1	<u>Piwil1^{tm1Hn}/Piwil1^{tm1Hn}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J)
Piwil2	<u>Piwil2^{tm1.1Doca}/Piwil2^{tm1.1Doca}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * 129S4/SvJaeSor * C57BL/6J)
Piwil2	<u>Piwil2^{tm1Nkn}/Piwil2^{tm1Nkn}</u> (implica: 129S2/SvPas * C57BL/6)
Plcd4	<u>Plcd4^{tm1Kfu}/Plcd4^{tm1Kfu}</u> (implica: 129X1/SvJ * C57BL/6J)
Pld6	<u>Pld6^{tm1.1Hsas}/Pld6^{tm1.1Hsas}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J)
Pld6	<u>Pld6^{tm1.1Mafr}/Pld6^{tm1.1Mafr}</u> (implica: C57BL/6)
Plekha1	<u>Plekha1^{Gt(ROSA)82Sor}/Plekha1^{Gt(ROSA)82Sor}</u> (bien: (implica: 129S4/SvJaeSor) o (implica: 129S4/SvJaeSor * C57BL/6))
Plekha5	<u>Plekha5^{Tg(AMH-cre)1Flor}/0</u> <u>Wt1^{tm1Jae}/Wt1^{tm2Vih}</u> (implica: 129S4/SvJae * 129S7/SvEvBrd * C57BL/6 * SJL)
Plin2	<u>Plin2^{Gt(OST170322)Lex}/Plin2^{Gt(OST170322)Lex}</u> (implica: 129S5/SvEvBrd * C57BL/6J)
Pmis2	<u>Pmis2^{tm1Osb}/Pmis2^{tm1Osb}</u> (implica: 129 * C57BL/6)
Pms2	<u>Pms2^{tm1Lisk}/Pms2^{tm1Lisk}</u> (implica: 129S2/SvPas * C57BL/6)
Pms2	<u>Pms2^{tm1Lisk}/Pms2^{tm1Lisk}</u> (implica: 129S2/SvPas)
Pomgnt1	<u>Pomgnt1^{Gt(OST179231)Lex}/Pomgnt1^{Gt(OST179231)Lex}</u> (implica: 129S5/SvEvBrd * C57BL/6J)
Pomk	<u>Pomk^{Gt(OST243203)Lex}/Pomk^{Gt(OST243203)Lex}</u> (implica: 129S5/SvEvBrd * C57BL/6J)

Ppm1d	$\frac{Ppm1d^{tm1Lad}}{Ppm1d^{tm1Lad}}$ (implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6)
Ppp1cc	$\frac{Ppp1cc^{tm1Var}}{Ppp1cc^{tm1Var}}$ (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * CD-1)
Prdm9	$\frac{Prdm9^{repro7}}{Prdm9^{repro7}}$ (B6;C3Fe-Prdm9 ^{repro7} /J)
Prdm9	$\frac{Prdm9^{tm1Ymat}}{Prdm9^{tm1Ymat}}$ (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)
Prdm14	$\frac{Prdm14^{tm1Sait}}{Prdm14^{tm1Sait}}$ (B6.129P2-Prdm14 ^{tm1Sait})
Prkaca	$\frac{Prkaca^{tm1Gsm}}{Prkaca^{tm1Gsm}}$ (implica: 129X1/SvJ * C57BL/6)
Prkaca	$\frac{Prkaca^{tm2Gsm}}{Prkaca^{tm2Gsm}}$ (implica: 129X1/SvJ * C57BL/6)
Prkdc	$\frac{Prkdc^{scid}}{Prkdc^{scid}}$ $\frac{Tgfb1^{tm1Doe}}{Tgfb1^{tm1Doe}}$ (implica: 129 * C3H * CF-1)
Prlr	$\frac{Prlr^{tm1Cnp}}{Prlr^{tm1Cnp}}$ (bien: (implica: 129/Sv * 129P2/OlaHsd) o (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6))
Prlr	$\frac{Prlr^{tm1Cnp}}{Prlr^{tm1Cnp}}$ (implica: 129P2/OlaHsd * 129S2/SvPas)
Prnd	$\frac{Prnd^{tm1Aag}}{Prnd^{tm1Aag}}$ (implica: 129P2/OlaHsd)
Prnd	$\frac{Prnd^{tm1Dwm}}{Prnd^{tm1Dwm}}$ (129P2/OlaHsd)
Prnp	$\frac{Prnp}{Prnd^{tm1Aag}} / \frac{Prnp}{Prnd^{tm1Aag}}$ (No Especificado)
Prnp	$\frac{Prnp}{Prnd^{tm1Aag}} / \frac{Prnp}{Prnd^{tm1Aag}}$ (No Especificado)
Prnp	$\frac{Prnp}{Prnd^{tm1Dwm}} / \frac{Prnp}{Prnd^{tm1Dwm}}$ (129P2/OlaHsd)
Prnp	$\frac{Prnp}{Prnd^{tm1Dwm}} / \frac{Prnp}{Prnd^{tm1Dwm}}$ (129P2/OlaHsd)
Prop1	$\frac{Prop1^{df}}{Prop1^{df}}$ (STOCK Prop1 ^{df})
Ptch1	$\frac{Ptch1^{mes}}{Ptch1^{mes}}$ (B6C3Fe a/a-Ptch1 ^{mes})
Ptdss2	$\frac{Ptdss2^{Gt(KST314)Byg}}{Ptdss2^{Gt(KST314)Byg}}$ (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)
Pth2	$\frac{Pth2^{tm1Vlcg}}{Pth2^{tm1Vlcg}}$ (implica: 129 * C57BL/6)
Pvrl2	$\frac{Pvrl2^{tm1Smu}}{Pvrl2^{tm1Smu}}$ (implica: 129X1/SvJ * C57BL/6 * DBA/2)

Pvr12	<u>Pvr12^{tm1Vrr}/Pvr12^{tm1Vrr}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)
Pvr13	<u>Pvr13^{tm1Ytk}/Pvr13^{tm1Ytk}</u> (bien: (implica: 129X1/SvJ * C57BL * DBA) o (implica: 129X1/SvJ * BALB/cA * C57BL * DBA))
Rabl2	<u>Rabl2^{mot}/Rabl2^{mot}</u> (implica: C57BL/6 * CBA)
Rabl2	<u>Rabl2^{mot}/Rabl2^{mot}</u> (C57BL/6(CBA)-Rabl2 ^{mot})
Rad21l	<u>Rad21l^{tm1Amp}/Rad21l^{tm1Amp}</u> (implica: 129 * C57BL/6)
Rad23b	<u>Rad23b^{tm1Gvh}/Rad23b^{tm1Gvh}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)
Rad51c	<u>Rad51c^{tm1Sks}/Rad51c^{tm1.1Sks}</u> (implica: 129/Sv * C57BL/6J * FVB/N)
Ranbp1	<u>Ranbp1^{tm1Yyo}/Ranbp1^{tm1Yyo}</u> (implica: 129S2/SvPas * C57BL/6)
Ranbp9	<u>Ranbp9^{Gt(RHA056)Byg}/Ranbp9^{Gt(RHA056)Byg}</u> (B6.129P2-Ranbp9 ^{Gt(RHA056)Byg})
Rara	<u>Rara^{tm1Ipc}/Rara^{tm1Ipc}</u> (implica: 129S2/SvPas)
Rara	<u>Rara^{tm1Ipc}/Rara^{tm1Ipc}</u> (implica: 129S2/SvPas * C57BL/6)
Rara	<u>Rara^{tm3.1Ipc}/Rara^{tm3.1Ipc}</u> (implica: 129/Sv * C57BL/6 * SJL)
Rarg	<u>Rarg^{tm1Ipc}/Rarg^{tm1Ipc}</u> (implica: 129S2/SvPas)
Rarg	<u>Rarg^{tm3.1Ipc}/Rarg^{tm3.1Ipc}</u> (implica: C57BL/6 * SJL)
Rec8	<u>Rec8^{tm1Mjm}/Rec8^{tm1Mjm}</u> (bien: (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ) o (implica: 129S1/Sv * C57BL/6))
ReIn	<u>ReIn^{rl}/ReIn^{rl}</u> (No Especificado)
repro2	<u>repro2/repro2</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
repro3	<u>repro3/repro3</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
repro4	<u>repro4/repro4</u> (B6;C3Fe-repro4/J)
repro10	<u>repro10/repro10</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
repro12	<u>repro12/repro12</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)

repro13	<u>repro13/repro13</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
repro14	<u>repro14/repro14</u> (B6;C3Fe-repro14/J)
repro15	<u>repro15/repro15</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
repro16	<u>repro16/repro16</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
repro17	<u>repro17/repro17</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
repro20	<u>repro20/repro20</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
repro21	<u>repro21/repro21</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
repro22	<u>repro22/repro22</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
repro23	<u>repro23/repro23</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
repro24	<u>repro24/repro24</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
repro26	<u>repro26/repro26</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
repro27	<u>repro27/repro27</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
repro28	<u>repro28/repro28</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
repro29	<u>repro29/repro29</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
repro30	<u>repro30/repro30</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
repro31	<u>repro31/repro31</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
repro33	<u>repro33/repro33</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
repro36	<u>repro36/repro36</u> (B6;C3Fe-repro36/J)
repro46	<u>repro46/repro46</u> (B6;C3Fe-repro46/J)
repro47	<u>repro47/repro47</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
repro48	<u>repro48/repro48</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
repro49	<u>repro49/repro49</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)

repro50	<u>repro50/repro50</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
repro51	<u>repro51/repro51</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
repro52	<u>repro52/repro52</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
repro53	<u>repro53/repro53</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
repro54	<u>repro54/repro54</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
repro57	<u>repro57/repro57</u> (B6;C3Fe-repro57/J)
Ret	<u>Ret^{tm2.1Cos}/Ret^{tm2.1Cos}</u> (implica: 129S1/Sv * C57BL/6J * FVB/N)
Rimbp3	<u>Rimbp3^{tm1Gxu}/Rimbp3^{tm1Gxu}</u> (implica: 129/Sv * ICR)
Rnf8	<u>Rnf8^{Gt(RRR260)Byg}/Rnf8^{Gt(RRR260)Byg}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)
Rnf17	<u>Rnf17^{tm1Jw}/Rnf17^{tm1Jw}</u> (implica: 129 * C57BL/6)
Rnf41	<u>Rnf41^{TgTn(sb-rtTA,Tyr)2435COve}/Rnf41^{TgTn(sb-rtTA,Tyr)2435COve}</u> (implica: C57BL/6 * FVB/N)
Rorb	<u>Rorb^{tm1Btr}/Rorb^{tm1Btr}</u> (C57BL/6J-Rorb ^{tm1Btr})
Ros1	<u>Ros1^{tm1Cbm}/Ros1^{tm1Cbm}</u> (implica: 129P2/OlaHsd)
Ros1	<u>Ros1^{tm1Cbm}/Ros1^{tm1Cbm}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)
Ros1	<u>Ros1^{tm2Cbm}/Ros1^{tm2Cbm}</u> (implica: 129P2/OlaHsd)
Rsph1	<u>Rsph1^{tm1Htan}/Rsph1^{tm1Htan}</u> (implica: 129S1/Sv * C57BL/6J)
Runx1t1	<u>Runx1t1^{tm1Fc}/Runx1t1^{tm1Fc}</u> (implica: 129S/SvEv * C57BL/6)
Rxfp2	<u>Rxfp2^{tm1Aia}/crsp</u> (implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J * FVB/N)
Rxfp2	<u>Rxfp2^{tm1Aia}/Rxfp2^{tm1Aia}</u> (implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J)
Rxrb	<u>Rxrb^{tm1Ipc}/Rxrb^{tm1Ipc}</u> (implica: 129S2/SvPas)
Safb	<u>Safb^{tm1So}/Safb^{tm1So}</u> (implica: 129 * C57BL/6J)
Sbf1	<u>Sbf1^{tm1Mlc}/Sbf1^{tm1Mlc}</u> (implica: C57BL/6)

Scmh1	<u>Scmh1^{tm1Hko}/Scmh1^{tm1Hko}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)
Sept4	<u>Sept4^{tm1Hs}/Sept4^{tm1Hs}</u> (implica: 129/Sv * 129P2/OlaHsd * C57BL/6J)
Sept4	<u>Sept4^{tm1Ksh}/Sept4^{tm1Ksh}</u> (implica: 129X1/SvJ * C57BL/6J)
Sept12	<u>Sept12^{tm1.1Plk}/Sept12⁺</u> (quimera implica: 129/Sv * C57BL/6)
Serpina5	<u>Serpina5^{tm1Gel}/Serpina5^{tm1Gel}</u> (implica: 129/Sv * Swiss)
Serpine2	<u>Serpine2^{tm1Dmn}/Serpine2^{tm1Dmn}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)
Sgol2	<u>Sgol2^{Gt(D025B05)Wrst}/Sgol2^{Gt(D025B05)Wrst}</u> (implica: 129S2/SvPas * C57BL/6)
Sgpl1	<u>Sgpl1^{Gt(ROSA)78Sor}/Sgpl1^{Gt(ROSA)78Sor}</u> (bien: (implica: 129S4/SvJaeSor) o (implica: 129S4/SvJaeSor * C57BL/6))
Sh3pxd2b	<u>Sh3pxd2b^{nee}/Sh3pxd2b^{nee}</u> (B10.Cg-H2 ^{h4} Sh3pxd2b ^{nee} /GrsrJ)
Siah1a	<u>Siah1a^{tm1Ddlb}/Siah1a^{tm1Ddlb}</u> (implica: 129S1/Sv * C57BL/6J)
Sit1	<u>Sirt1^{tm1Mcb}/Sirt1^{tm1Mcb}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * CD-1)
Sit1	<u>Sirt1^{tm1Mcb}/Sirt1^{tm1Mcb}</u> (129/Sv-Sirt1 ^{tm1Mcb})
Sit1	<u>Sirt1^{tm1Mcb}/Sirt1^{tm1Mcb}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ)
Sit1	<u>Sirt1^{tm2.1Mcb}/Sirt1^{tm2.1Mcb}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * CD-1)
Sit6	<u>Sirt6^{tm2.1Cxd}/Sirt6^{tm2.1Cxd}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * NIH Black Swiss)
Sit6	<u>Sirt6^{tm2.2Cxd}/Sirt6^{tm2.2Cxd}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * FVB/N * NIH Black Swiss)
Six5	<u>Six5^{tm1Rdd}/Six5^{tm1Rdd}</u> (129S4/SvJae-Six5 ^{tm1Rdd})
Slc4a2	<u>Slc4a2^{tm1Jmed}/Slc4a2^{tm1Jmed}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * FVB)
Slc9a3	<u>Slc9a3^{tm1Ges}/Slc9a3^{tm1Ges}</u> (No Especificado)
Slc9a8	<u>Slc9a8^{Gt(YH6273)Byg}/Slc9a8^{Gt(YH6273)Byg}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * Black Swiss)
Slc9c1	<u>Slc9c1^{tm1Gar}/Slc9c1^{tm1Gar}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * C57BL/6J)
Slc12a2	<u>Slc12a2^{tm1Bhk}/Slc12a2^{tm1Bhk}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6J * DBA/2J)

Slc12a2	<u>Slc12a2^{tm2Bhk}/Slc12a2^{tm2Bhk}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6J * DBA/2J)
Slc19a2	<u>Slc19a2^{tm1Ejn}/Slc19a2^{tm1Ejn}</u> (implica: 129S4/SvJae * 129S6/SvEvTac)
Slc19a2	<u>Slc19a2^{tm1Gelb}/Slc19a2^{tm1Gelb}</u> (implica: 129X1/SvJ)
Slc25a31	<u>Slc25a31^{tm1Nte}/Slc25a31^{tm1Nte}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)
Slc26a8	<u>Slc26a8^{tm1Ggac}/Slc26a8^{tm1Ggac}</u> (implica: 129S/SvEvBrd)
Smc1b	<u>Smc1b^{tm1Ham}/Smc1b^{tm1Ham}</u> (implica: C57BL/6Jcl * DBA/2Jcl * ICR)
Smc1b	<u>Smc1b^{tm1Jess}/Smc1b^{tm2.2Jess}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * C57BL/6 * SJL)
Smcp	<u>Smcp^{tm1Wen}/Smcp^{tm1Wen}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ)
Snai2	<u>Snai2^{tm2Grid}/Snai2^{tm2Grid}</u> (implica: 129S1/Sv)
Sohlh2	<u>Sohlh2^{tm1Miya}/Sohlh2^{tm1Miya}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)
Sox3	<u>Sox3^{tm1Ptho}/Y</u> (quimera implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6 * DBA/2)
Sp4	<u>Sp4^{tm1Ssp}/Sp4^{tm1Ssp}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * CF-1)
Sp4	<u>Sp4^{tm1Sus}/Sp4^{tm1Sus}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)
Spaca1	<u>Spaca1^{tm1.1Osb}/Spaca1^{tm1.1Osb}</u> (implica: 129S2/SvPas * C57BL * C57BL/6N * DBA)
Spag6	<u>Spag6^{tm1Jfs}/Spag6^{tm1Jfs}</u> (implica: 129X1/SvJ * C57BL/6J)
Spag16	<u>Spag16^{tm1Jfs}/Spag16⁺</u> (quimera implica: 129/Sv * C57BL/6J)
Spag16	<u>Spag16^{tm2Jfs}/Spag16^{tm2Jfs}</u> (implica: 129S6/SvEvTac)
Spata22	<u>Spata22^{repro42}/Spata22^{repro42}</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
Spef2	<u>Spef2^{bgh}/Spef2^{bgh}</u> (implica: C57BL/6J * C57BL/10J)
Spef2	<u>Spef2^{bgh}/Spef2^{bgh}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * C57BL/6J * C57BL/10J)
Spem1	<u>Spem1^{tm1Wyan}/Spem1^{tm1Wyan}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J)
Spo11	<u>Spo11^{tm1Mjn}/Spo11^{tm1Mjn}</u> (implica: 129X1/SvJ * C57BL/6)

Sp011	<u>Sp011^{tm1Nki}/Sp011^{tm1Nki}</u> (implica: 129P2/OlaHsd)
Sp011	<u>Sp011^{tm1Rdco}/Sp011^{tm1Rdco}</u> (implica: 129S6/SvEvTac)
Sptbn4	<u>Sptbn4^{qv-10J}/Sptbn4^{qv-10J}</u> (implica: BALB/cJ * C57BL/6J)
Sptbn4	<u>Sptbn4^{qv-11J}/Sptbn4^{qv-11J}</u> (C57BL/6J-Sptbn4 ^{qv-11J} /J)
Sptbn4	<u>Sptbn4^{qv-Ind}/Sptbn4^{qv-Ind}</u> (B6.B10-Sptbn4 ^{qv-Ind})
Stam	<u>Stam^{tm1Sug}/Stam^{tm1Sug}</u> (implica: 129S4/SvJae * C57BL/6)
Stk11	<u>Stk11^{tm1Keis}/Stk11^{tm1Keis}</u> (No Especificado)
Stk36	<u>Stk36^{tm1Fjs}/Stk36^{tm1Fjs}</u> (implica: 129S1/Sv * C57BL/6)
Stx2	<u>Stx2^{repro34}/Stx2^{repro34}</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
Stx2	<u>Stx2^{tm1Dcru}/Stx2^{tm1Dcru}</u> (implica: 129X1/SvJ * C57BL/6J)
Styx	<u>Styx^{tm1.1Jedi}/Styx^{tm1.1Jedi}</u> (bien: (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6) o (implica: C57BL/6))
Styx	<u>Styx^{tm1Jedi}/Styx^{tm1Jedi}</u> (bien: (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6) o (implica: C57BL/6))
Sun1	<u>Sun1^{tm1.1Ktj}/Sun1^{tm1.1Ktj}</u> (implica: C57BL/6J * FVB/N)
Sun1	<u>Sun1^{tm1Mhan}/Sun1^{tm1Mhan}</u> (implica: 129S6/SvEvTac)
Swm2	<u>swm2/swm2</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)
Swm6	<u>swm6/swm6</u> (implica: C3HeB/FeJ * C57BL/6)
Syce1	<u>Syce1^{tm1Hgu}/Syce1^{tm1Hgu}</u> (implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6)
Syce2	<u>Syce2^{Gt(FHCRC-GT-S8-7E1)Sor}/Syce2^{Gt(FHCRC-GT-S8-7E1)Sor}</u> (implica: C57BL/6)
Syce3	<u>Syce3^{tm1Rben}/Syce3^{tm1Rben}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)
Sycp1	<u>Sycp1^{tm1Aps}/Sycp1^{tm1Aps}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)
Sycp2	<u>Sycp2^{tm1Jw}/Sycp2^{tm1Jw}</u> (implica: 129S4/SvJae * C57BL/6)

Sycp3	<u>Sycp3^{tm1Hoog}/Sycp3^{tm1Hoog}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)
Taldo1	<u>Taldo1^{tm1Perl}/Taldo1^{tm1Perl}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * C57BL/6)
Tarbp2	<u>Tarbp2^{tm1Reb}/Tarbp2^{tm1Reb}</u> (No Especificado)
Tbpl1	<u>Tbpl1^{tm1Rgr}/Tbpl1^{tm1Rgr}</u> (implica: C57BL/6)
Tbpl1	<u>Tbpl1^{tm1Saco}/Tbpl1^{tm1Saco}</u> (implica: 129S2/SvPas * C57BL/6)
Tcte3	<u>Tcte3^{tm1Jue}/Tcte3^{tm1Jue}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J)
Tdrd1	<u>Tdrd1^{tm1Chum}/Tdrd1^{tm1Chum}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)
Tdrd5	<u>Tdrd5^{tm1Sait}/Tdrd5^{tm1Sait}</u> (implica: C57BL/6 * CBA)
Tdrd6	<u>Tdrd6^{tm1Chum}/Tdrd6^{tm1Chum}</u> (implica: 129S4/SvJae * C57BL/6)
Tdrd6 Tdrd7	<u>Tdrd6^{tm1Chum}/Tdrd6^{tm1Chum}</u> <u>Tdrd7^{tm1.1Chum}/Tdrd7^{tm1.1Chum}</u> (implica: 129S4/SvJae * 129S6/SvEvTac * C57BL/6)
Tdrd6	<u>Tdrd6^{tm1Jess}/Tdrd6^{tm1Jess}</u> (bien: (implica: 129S6/SvEvTac * C57BL/6) o (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6))
Tdrd7	<u>Tdrd7^{nmf166}/Tdrd7^{nmf166}</u> (implica: C3H * C57BL/6J)
Tdrd7	<u>Tdrd7^{tm1.1Chum}/Tdrd7^{tm1.1Chum}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * C57BL/6)
Tdrd9	<u>Tdrd9^{tm1.1Chum}/Tdrd9^{tm1.1Chum}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6 * SJL)
Tekt2	<u>Tekt2^{Gt(OST12401)Lex}/Tekt2^{Gt(OST12401)Lex}</u> (implica: 129S5/SvEvBrd * C57BL/6)
Tex11 2Mrt	<u>Tex11^{tm1Jw/Y}</u> <u>Tg(ACTB-cre)2Mrt/0</u> (implica: 129S4/SvJae * C57BL/6 * FVB/N)
Tex12	<u>Tex12^{tm1Hoog}/Tex12^{tm1Hoog}</u> (implica: 129S2/SvPas)
Tex14	<u>Tex14^{tm1Zuk}/Tex14^{tm1Zuk}</u> (129S6/SvEvTac)
Tex14	<u>Tex14^{tm1Zuk}/Tex14^{tm1Zuk}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * C57BL/6J)
Tex15	<u>Tex15^{tm1Jw}/Tex15^{tm1Jw}</u> (implica: 129S4/SvJae * C57BL/6)
Tex1011Anak	<u>Tex101^{tm1Osb}/Tex101^{tm1Osb}</u> (implica: C57BL/6NCr)

Theg	<u>Theg^{Tg(PDE5A)1Ynk}/Theg^{Tg(PDE5A)1Ynk}</u> (implica: C3H)
Tial1	<u>Tial1^{tm1Mst}/Tial1^{tm1Mst}</u> (implica: 129S2/SvPas * C57BL/6)
Tim	<u>Tim^{T(4;17)3Lws}/Tim⁺</u> (implica: C57BL/6J * DBA/2J)
Tlr6	<u>Tlr6^{m4Bdr}/Tlr6^{m4Bdr}</u> (C57BL/6J-Tlr6 ^{m4Bdr})
Tmf1	<u>Tmf1^{tm1Unir}/Tmf1^{tm1Unir}</u> (implica: 129/Sv * ICR)
Tnp1	<u>Tnp1^{tm1Mim}/Tnp1^{tm1Mim}</u> (implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J)
Tnp2	<u>Tnp2^{tm1Wen}/Tnp2^{tm1Wen}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ)
Tpgs1	<u>Tpgs1^{Gt(ROSA22)Sor}/Tpgs1^{Gt(ROSA22)Sor}</u> (implica: 129S/SvEv * C57BL/6)
Tpst2	<u>Tpst2^{tm1Klm}/Tpst2^{tm1Klm}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * 129S7/SvEvBrd)
Trp73	<u>Trp73^{tm1Mak}/Trp73^{tm1Mak}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6J)
Tsc22d3	<u>Tsc22d3^{tm1.1Ric/Y}</u> (implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6)
Tshr	<u>Tshr^{hyt}/Tshr^{hyt}</u> (implica: BALB/cByJ * RF/J)
Tssk1/Tssk2	<u>Tssk1/Tssk2^{tm1.1Agr}/Tssk1/Tssk2^{tm1.1Agr}</u> (B6.129S5-Tssk1/Tssk2 ^{tm1.1Agr})
Tssk1/Tssk2	<u>Tssk1/Tssk2^{tm1.1Agr}/Tssk1/Tssk2^{tm1.1Agr}</u> (B6.129S5-Tssk1/Tssk2 ^{tm1.1Agr})
Tssk1/Tssk2	<u>Tssk1/Tssk2^{tm1Joch}/Tssk1⁺</u> (quimera implica: 129X1/SvJ)
Tssk1/Tssk2	<u>Tssk1/Tssk2^{tm1Joch}/Tssk2⁺</u> (quimera implica: 129X1/SvJ)
Tssk6	<u>Tssk6^{tm1Grj}/Tssk6^{tm1Grj}</u> (implica: 129 * C57BL/6)
Ttll1	<u>Ttll1^{Gt(OST372941)Lex}/Ttll1^{Gt(OST372941)Lex}</u> (implica: 129S5/SvEvBrd * C57BL/6)
Tyr	<u>Tyr^{c-47H}/Tyr^{c-47H}</u> (implica: 101/H * C3H/HeH)
Tyrp1	<u>Tyrp1^{b-1FCHLc}/Tyrp1^{b-1FCHLc}</u> (implica: 101/RI * C3H/RI)
Ubb	<u>Ubb^{tm1Rrk}/Ubb^{tm1Rrk}</u> (implica: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)
Ube2b	<u>Ube2b^{tm1Jjh}/Ube2b^{tm1Jjh}</u> (bien: (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6) o (implica: 129P2/OlaHsd * FVB/N))

Ube2b	<u>Ube2b^{tm1Jhj}/Ube2b^{tm1Jhj}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * FVB/NJ)
Ubr2	<u>Ubr2^{tm1Ytkw}/Ubr2^{tm1Ytkw}</u> (implica: 129S1/Sv * C57BL/6)
Unc5c	<u>Unc5c^{rcm}/Unc5c^{rcm}</u> (C57BL/6J-Unc5c ^{rcm})
Usp1	<u>Usp1^{tm1.1Ada}/Usp1^{tm1.1Ada}</u> (C57BL/6-Usp1 ^{tm1.1Ada})
Usp14	<u>Usp14^{ax-J}/Usp14^{ax-J}</u> (implica: STOCK Mafb ^{kr})
Utp14b	<u>Utp14b^{jsd}/Utp14b^{jsd}</u> (implica: C3H/HeJ * C57BL/6J)
Vangl2	<u>Vangl2^{Lp}/Vangl2^{Lp}</u> (B6.A(Cg)-Vangl2 ^{Lp})
Vangl2	<u>Vangl2^{ska17}/Vangl2^{ska17}</u> (implica: 129S6/SvEvTac * C57BL/6J)
Vdac3	<u>Vdac3^{tm1Wjc}/Vdac3^{tm1Wjc}</u> (No Especificado)
Vdr	<u>Vdr^{tm1Ska}/Vdr^{tm1Ska}</u> (implica: C57BL/6 * CBA)
Vrk1	<u>Vrk1^{Gt(RRR178)Byg}/Vrk1^{Gt(RRR178)Byg}</u> (implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)
Vsx2	<u>Vsx2^{or-2J}/Vsx2^{or-2J}</u> (NOR2/LtDn-Vsx2 ^{or-2J} /J)
Wnt7a	<u>Wnt7a^{px-2J}/Wnt7a^{px-2J}</u> (B6;C3Fe-Wnt7a ^{px-2J} /GrsrJ)
Wnt7a	<u>Wnt7a^{px-J}/Wnt7a^{px-J}</u> (C57BL/6J-Wnt7a ^{px-J} /GrsrJ)
Wnt7a	<u>Wnt7a^{px}/Wnt7a^{px}</u> (implica: STOCK Sox18 ^{Ra})
Wnt7a	<u>Wnt7a^{tm1Amc}/Wnt7a^{tm1Amc}</u> (implica: 129S1/Sv)
Wt1	<u>Wt1^{tm2Hst}/Wt1⁺</u> (quimera implica: 129P2/OlaHsd * C57BL/6JLac * CBA/CaLac)
Ybx2	<u>Ybx2^{tm1Nbh}/Ybx2^{tm1Nbh}</u> (implica: 129S7/SvEvBrd)
Ybx3	<u>Ybx3^{tm1Ley}/Ybx3^{tm1Ley}</u> (implica: 129X1/SvJ * C57BL/6)
Zbtb16	<u>Zbtb16^{lu-Sfd}/Zbtb16^{lu-Sfd}</u> (implica: C57BL/6 * Swiss)
Zbtb16	<u>Zbtb16^{lu-Sfd}/Zbtb16^{lu-Sfd}</u> (implica: C57BL/6)
Zbtb16	<u>Zbtb16^{lu}/Zbtb16^{lu}</u> (No Especificado)

Zc3hc1	<u>Zc3hc1^{tm1.2Jduy}/Zc3hc1^{tm1.2Jduy}</u> (B6.129S6(Cg)-Zc3hc1 ^{tm1.2Jduy})
Zfp148	<u>Zfp148^{tm1Kii}/Zfp148⁺</u> (No Especificado)
Zfp384	<u>Zfp384^{tm1Tnk}/Zfp384^{tm1Tnk}</u> (implica: C57BL/6 * CBA)
Zglp1	<u>Zglp1^{tm1Eem}/Zglp1^{tm1Eem}</u> ((129X1/SvJ x 129S1/Sv)F1-Kitl ⁺)
Zpbp	<u>Zpbp^{tm1Zuk}/Zpbp^{tm1Zuk}</u> (implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J)
Zpbp2	<u>Zpbp^{tm1Zuk}/Zpbp^{tm1Zuk}</u> <u>Zpbp2^{tm1Zuk}/Zpbp2^{tm1Zuk}</u> (implica: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J)

En otras realizaciones, el gen de fertilidad se selecciona de genes de la espermatogénesis, ejemplos ilustrativos de los cuales se describen en la Pub. de Solic. de Pat. de EE. UU. 2005/0176943. Los genes representativos incluyen aquellos que comprenden transcritos con secuencias de ácido nucleico mostradas en las SEQ ID NO: 1 - 89 de esta publicación. Los ejemplos no limitativos de estos genes incluyen *AKAP110*, *Rbcc728*, *Trim36*, *Nopp140*, *ATR*, *HSpb*, *Spergen-1*, *arilsulfatasa A*, *Drctnnbla*, *CDC14B*, proteína espermatogénica epidimal relacionada con cistatina, inhibidor del crecimiento inducido por el embarazo, coenzima A ligasa de ácidos grasos, de cadena larga, *Fern*, componente de la vaina fibroso principal de 80.000 Mr, Glicerol fosfato deshidrogenasa 1, mitocondrial, dominios *Lim* que contienen 1, *oaz-t*, *pctp-1*, fosfoglicerato quinasa específica de testículos, fosfolipasa C delta 4, protamina 1, protamina 2, *scot-t1*, *scot-t2*, selenoproteína de la cápsula mitocondrial, *Esprizina*, *oppo 1*, *Gal beta-1*, *GalNAc alfa-2*, 6-sialiltransferasa específica de 3-GalNAc, supresor de homólogo fusionado, *t-actina 1*, *t-actina 2*, *t-complejo Tcpi-10a*, *tektina-t*, *teek 1*, *TP-2*, *tsec-1*, sustrato *tssk 1.2*, serina/treonina quinasa 22B (asociada a espermiogénesis), *tsga2*, *Gapd-S*, meicroacidina, *halap-X*, *Ssecks*, *gsg1*, *haspina*, *gsg3*, *hils1*, *shippo1*, y ácido lisofosfatídico aciltransferasa putativa.

En realizaciones ventajosas, el gen de fertilidad es un gen localizado en un cromosoma sexual. En ejemplos ilustrativos de este tipo, el gen de fertilidad está localizado en el cromosoma X (es decir, un gen de fertilidad ligado a X) tal como, pero no limitado a, *GILZ* (TSC22d3).

El gen de fertilidad puede disrumpirse usando cualquier técnica adecuada. En algunas realizaciones, la disrupción se lleva a cabo usando una construcción de direccionamiento en la que una parte del gen de fertilidad está posicionado operativamente entre dos posiciones flanqueantes de un casete de direccionamiento, que son lo suficientemente homólogos con las regiones de un sitio diana en el genoma celular como para permitir la recombinación homóloga entre el casete de direccionamiento y el sitio diana. Por ejemplo, el sitio diana puede comprender una secuencia exónica o codificadora, o una secuencia de control (p. ej., un promotor), del gen de fertilidad y, en determinadas realizaciones, una secuencia disruptora (p. ej., gen marcador) está posicionada por las partes flanqueantes del casete de direccionamiento para disrumpir o reemplazar al menos una parte del gen de fertilidad, haciendo de esta manera que el gen de fertilidad sea inactivo y, por tanto, no funcional. En ejemplos ilustrativos de este tipo, una de las partes flanqueantes es sustancialmente homóloga a una parte de la secuencia del gen de fertilidad no traducida en 5', y la otra sustancialmente homóloga al menos a una parte de la secuencia del gen endógeno no traducida en 3'. En otros ejemplos ilustrativos, las partes flanqueantes del casete de direccionamiento son sustancialmente homólogas a regiones del gen de fertilidad que limitan una secuencia codificadora interviniente que codifica un dominio de un polipéptido codificado por el gen de fertilidad, que se requiere para la fertilidad. En estas realizaciones, la recombinación homóloga específica de sitio entre la construcción de direccionamiento y el sitio diana da lugar posteriormente al reemplazo de al menos una parte del gen de fertilidad con el gen marcador y a la disrupción del gen de fertilidad.

En realizaciones específicas, se proporciona un gen de fertilidad con sitios de reconocimiento de recombinasa (también conocidos como secuencias aceptoras) que están localizados en o adyacentes a ese gen, y que son reconocidos por una proteína recombinasa específica de sitio que actúa como una molécula disruptora del gen de fertilidad mediante la unión a y la catálisis de recombinación específica de sitio entre los sitios de reconocimiento de recombinasa dando lugar a la disrupción de ese gen. La recombinasa puede catalizar la recombinación intra o intermolecular entre los sitios. Por ejemplo, en el caso de recombinación intramolecular, cuando existen dos sitios de recombinación que tienen una orientación idéntica en la misma molécula, la recombinación específica de sitio entre los sitios escindiría una secuencia de ADN flanqueada por los sitios (una reacción de escisión), mientras que, en la recombinación intermolecular, la recombinación específica de sitio entre dos sitios de reconocimiento de recombinación en diferentes moléculas dará lugar a la cointegración (una reacción de inserción). En ejemplos ilustrativos de estas realizaciones, se usa un transgén que comprende una secuencia codificadora de recombinasa específica de sitio que está unida operativamente a un promotor para disrumpir condicionalmente el gen de fertilidad. Las recombinases ilustrativas, que son específicas de sitio, incluyen Cre, Cre modificada, Dre, Hp, FLP de tipo salvaje

(wt), FLP-L, FLPe, Flpo o phiC31. Los ejemplos no limitativos de sitios de reconocimiento de recombinasa incluyen loxP, FRT, rax y attP/B. La recombinación puede efectuarse por cualquier método conocido en la técnica, p. ej., el método de Doetschman *et al.* (1987, *Nature* 330:576-578); el método de Thomas *et al.* (1986, *Cell* 44:419-428); el sistema de recombinación Cre-loxP (Sternberg y Hamilton, 1981, *J. Mol. Biol.* 150:467-486; Lakso *et al.*, 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:6232-6236); el sistema de la recombinasa FLP de *Saccharomyces cerevisiae* (O'Gorman *et al.*, 1991, *Science* 251: 1351- 1355; Lyznik *et al.*, 1996, *Nucleic Acids Res.* 24(19): 3784-3789); el intercambio de control de tetraciclina Cre-loxP (Gossen y Bujard, 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 5547-51); y el sistema de recombinasa regulado por ligando (Kellendonk *et al.*, 1999, *J. Mol. Biol.* 285: 175-82). De forma deseable, la recombinasa es altamente activa, p. ej., el sistema Cre-loxP o FLPe, y tiene una termoestabilidad aumentada (Rodríguez *et al.*, 2000, *Nature Genetics* 25: 139-40). En realizaciones específicas, al menos una parte del gen de fertilidad (incluyendo sus secuencias reguladoras, si es apropiado) está flanqueada bien por sitios diana loxP, que son reconocidos específicamente por una recombinasa Cre, o sitios diana FRT, que son reconocidos específicamente por una recombinasa FLP. Un ejemplo ilustrativo de una secuencia de sitio diana loxP es 5'-ATAACTTCGTATAGCATACATTATACGAAGTTAT-3' [SEQ ID NO: 1]. Un ejemplo ilustrativo de una secuencia de sitio diana FRT es 5'-GAAGTTCCTATTCCGAAGTTCCTATTCTCTAGTAAGTATAGGAAGTTC-3' [SEQ ID NO: 2].

En otras realizaciones, la molécula disruptora del gen de fertilidad es un producto de expresión que inhibe la expresión del gen de fertilidad por interferencia de ARN (ARNi) o por silenciamiento génico posterior a la transcripción (PTGS). En ejemplos ilustrativos de este tipo, el producto de expresión es una molécula de ARN (p. ej., ARNsi, ARNsh, miARN, ARNs etc.) que comprende una región de direccionamiento correspondiente a una secuencia de nucleótidos del gen de fertilidad y que atenúa o disrumpe de otra forma la expresión del gen de fertilidad. Los ejemplos no limitativos de dichos genes de fertilidad se enumeran en la Tabla 2 y en otro lugar de la presente memoria.

En ejemplos ilustrativos, la secuencia de direccionamiento presenta al menos un 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 % de identidad con una secuencia de nucleótidos del gen de fertilidad. En otros ejemplos ilustrativos, la secuencia de direccionamiento hibrida con una secuencia de nucleótidos del gen diana bajo al menos condiciones de astringencia baja, de forma más adecuada bajo al menos condiciones de astringencia media e incluso de forma más adecuada bajo condiciones de astringencia alta. La referencia en la presente memoria a condiciones de astringencia baja incluye y engloba de al menos aproximadamente formamida al 1 % v/v a al menos aproximadamente el 15 % v/v y sal de al menos aproximadamente 1 M a al menos aproximadamente 2 M para la hibridación a 42 °C, y sal al menos aproximadamente 1 M a al menos aproximadamente 2 M para el lavado a 42 °C. Las condiciones de astringencia baja también pueden incluir Albúmina de Suero Bovino (BSA) al 1 %, EDTA 1 mM, NaHPO₄ 0,5 M (pH 7,2), SDS al 7 % para la hibridación a 65 °C, y (i) 2xSSC, SDS al 0,1 %; o (ii) BSA al 0,5 %, EDTA 1 mM, NaHPO₄ 40 mM (pH 7,2), SDS al 5 % para el lavado a temperatura ambiente. Las condiciones de astringencia media incluyen y engloban formamida de al menos aproximadamente el 16 % v/v a al menos aproximadamente el 30 % v/v y sal de al menos aproximadamente 0,5 M a al menos aproximadamente 0,9 M para la hibridación a 42 °C, y sal al menos aproximadamente 0,5 M a al menos aproximadamente 0,9 M para el lavado a 42 °C. Las condiciones de astringencia media también pueden incluir Albúmina de Suero Bovino (BSA) al 1 %, EDTA 1 mM, NaHPO₄ 0,5 M (pH 7,2), SDS al 7 % para la hibridación a 65 °C, y (i) 2xSSC, SDS al 0,1 %; o (ii) BSA al 0,5 %, EDTA 1 mM, NaHPO₄ 40 mM (pH 7,2), SDS al 5 % para el lavado a 42 °C. Las condiciones de astringencia alta incluyen y engloban formamida de al menos aproximadamente el 31 % v/v a al menos aproximadamente el 50 % v/v y sal de al menos aproximadamente 0,01 M a al menos aproximadamente 0,15 M para la hibridación a 42 °C, y sal al menos aproximadamente 0,01 M a al menos aproximadamente 0,15 M para el lavado a 42 °C. Las condiciones de astringencia alta también pueden incluir BSA al 1 %, EDTA 1 mM, NaHPO₄ 0,5 M (pH 7,2), SDS al 7 % SDS para la hibridación a 65 °C, y (i) 0,2 x SSC, SDS al 0,1 %; o (ii) BSA al 0,5 %, EDTA 1 mM, NaHPO₄ 40 mM (pH 7,2), SDS al 1 % para el lavado a una temperatura superior a 65 °C. De forma deseable, la secuencia de direccionamiento hibrida con una secuencia de nucleótidos del gen de fertilidad en condiciones fisiológicas.

Otras condiciones astringentes son muy conocidas en la técnica. Un experto en la técnica reconocerá que diversos factores pueden manipularse para optimizar la especificidad de la hibridación. La optimización de la astringencia de los lavados finales puede servir para asegurar un alto grado de hibridación. Para ejemplos detallados, véase Ausubel *et al.*, *supra* en las páginas 2.10.1 a 2.10.16 y Sambrook *et al.*, *supra* en las secciones 1.101 a 1.104.

De forma adecuada, la región de direccionamiento tiene identidad de secuencia con la cadena con sentido o cadena antisentido del gen de fertilidad. En determinadas realizaciones, la molécula de ARN no está poliadenilada, lo que puede dar lugar a una reducción eficiente de la expresión del gen de fertilidad, como describe, por ejemplo, Waterhouse *et al.* en la Patente de EE. UU. No. 6.423.885.

Típicamente, la longitud de la región de direccionamiento puede variar de aproximadamente 10 nucleótidos (nt) hasta una longitud igual a la longitud (en nucleótidos) del gen de fertilidad. Generalmente, la longitud de la región de direccionamiento es de al menos 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 nt, habitualmente al menos aproximadamente 50 nt, más habitualmente al menos aproximadamente 100 nt, especialmente al menos aproximadamente 150 nt, más especialmente al menos aproximadamente 200 nt, incluso más especialmente al menos aproximadamente 500 nt. Se espera que no haya límite superior para la longitud total de la región de direccionamiento, distinto de la longitud total del gen de fertilidad. Sin embargo, por razones prácticas (tales como, p. ej., la estabilidad de las construcciones de direccionamiento) se espera que la longitud de la región de direccionamiento no supere los

5.000 nt, particularmente no supere los 2.500 nt y podría estar limitada a aproximadamente 1.000 nt.

La molécula de ARN puede comprender además una o más regiones de direccionamiento adicionales (p. ej., de aproximadamente 1 a aproximadamente 10, o de aproximadamente 1 a aproximadamente 4, o de aproximadamente 1 a aproximadamente 2 regiones de direccionamiento adicionales) cada una de las cuales tiene identidad de secuencia con una secuencia de nucleótidos del gen diana. Generalmente, las regiones de direccionamiento son idénticas o comparten al menos un 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 % de identidad de secuencia entre sí.

La molécula de ARN puede comprender además un complemento inverso de la región de direccionamiento. Típicamente, en estas realizaciones, la molécula de ARN comprende además una secuencia espaciadora que espacia la región de direccionamiento del complemento inverso. La secuencia espaciadora puede comprender una secuencia de nucleótidos de al menos aproximadamente 100-500 nucleótidos de longitud, o alternativamente al menos aproximadamente

50-100 nucleótidos de longitud y, en una alternativa adicional, al menos aproximadamente 10-50 nucleótidos de longitud. Típicamente, la secuencia espaciadora es una secuencia no codificadora, que, en algunos casos, es un intrón. En las realizaciones en las que la secuencia espaciadora es una secuencia espaciadora distinta de un intrón, la transcripción de la secuencia de ácido nucleico producirá una molécula de ARN que forma una estructura de horquilla o tallo-bucle en la que el tallo se forma por la hibridación de la región de direccionamiento con el complemento inverso y el bucle se forma por la secuencia espaciadora distinta de un intrón que conecta estas "repeticiones invertidas". Alternativamente, en las realizaciones en las que la secuencia espaciadora es una secuencia espaciadora que es un intrón, la presencia de secuencias de unión de corte y empalme intrón/exón en cualquier lado de la secuencia intrónica facilita la eliminación de lo que de otra manera formaría una estructura de bucle y el ARN resultante formará una molécula de ARN bicatenaria (ARNds), con secuencias en 3' protuberantes opcionales en uno o ambos extremos. Dicho transcrito de ARNds se refiere en la presente memoria como una "horquilla perfecta". Las moléculas de ARN pueden comprender una única horquilla o múltiples horquillas incluyendo "bultos" de ARN monocatenario que aparecen adyacentes a regiones de secuencias de ARN bicatenarias.

Alternativamente, una molécula de ARNds como se ha descrito anteriormente puede obtenerse convenientemente usando un polinucleótido adicional del que se puede producir una molécula de ARN adicional, que comprende el complemento inverso de la región de direccionamiento. En esta realización, el complemento inverso de la región de direccionamiento hibrida con la región de direccionamiento de la molécula de ARN transcrita a partir del segundo polinucleótido.

En otro ejemplo, una molécula de ARNds como se ha descrito anteriormente se prepara usando un segundo polinucleótido que comprende un dúplex, en donde una cadena del dúplex comparte identidad de secuencia con una secuencia de nucleótidos del gen diana y la otra comparte identidad de secuencia con el complemento de esa secuencia de nucleótidos. En esta realización, el dúplex está flanqueado por dos promotores, uno que controla la transcripción de una de las cadenas, y el otro que controla la transcripción de la cadena complementaria. La transcripción de ambas cadenas produce una pareja de moléculas de ARN, comprendiendo cada una una región que es complementaria a una región de la otra, produciendo de esta manera una molécula de ARNds que inhibe la expresión del gen de fertilidad.

En otro ejemplo, el PTGS del gen de fertilidad se consigue usando la estrategia de Glassman *et al.* descrita en la Publicación de Solicitud de Patente de EE. UU. No 2003/0036197. En esta estrategia, las secuencias de ácido nucleico adecuadas y su complemento inverso pueden usarse para alterar la expresión de cualquier ARN diana endógeno homólogo (es decir, que comprende un transcrito del gen de fertilidad) que está próximo a la secuencia de ácido nucleico adecuada y su complemento inverso. La secuencia de ácido nucleico adecuada y su complemento inverso, pueden bien no estar relacionadas a ningún ARN endógeno en el huésped o pueden estar codificadas por cualquier secuencia de ácido nucleico en el genoma del huésped, siempre que la secuencia de ácido nucleico no codifique ningún ARNm diana o ninguna secuencia que sea sustancialmente similar al ARN diana. Por tanto, en algunas realizaciones de la presente invención, la molécula de ARN comprende además dos regiones de ARN complementarias que no están relacionadas con ningún ARN endógeno de la célula huésped y que están próximas a la región de direccionamiento. En otras realizaciones, la molécula de ARN comprende además dos regiones de ARN complementarias que están codificadas por cualquier secuencia de ácido nucleico en el genoma del huésped, siempre que la secuencia no tenga identidad de secuencia con la secuencia de nucleótidos del gen de fertilidad, en donde las regiones están próximas a la región de direccionamiento. En las realizaciones anteriores, una de las regiones de ARN complementarias puede estar localizada aguas arriba de la región de direccionamiento y la otra, aguas abajo de la región de direccionamiento. Alternativamente, ambas regiones complementarias pueden estar localizadas bien aguas arriba o aguas abajo de la región de direccionamiento o pueden estar localizadas en la región de direccionamiento en sí misma.

En algunas realizaciones, la molécula de ARN es una molécula antisentido que está dirigida a una región específica de ARN codificada por el gen de fertilidad, que es crítica para la traducción. El uso de moléculas antisentido para disminuir los niveles de expresión de un gen predeterminado es conocido en la técnica. Las moléculas antisentido pueden diseñarse para que correspondan al ARN de longitud completa transcrito a partir del gen de fertilidad, o a un fragmento o parte del mismo. Este efecto de silenciamiento génico puede aumentarse por la sobreproducción transgénica tanto de ARN con sentido como antisentido de la secuencia codificadora del gen de fertilidad, de manera

que se produce una alta cantidad de ARNs como se ha descrito, por ejemplo, anteriormente (véase, por ejemplo, Waterhouse *et al.* (1998) *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 13959-13964).

En otras realizaciones más, la molécula disruptora del gen de fertilidad es un anticuerpo que es inmuno-interactivo con un producto polipeptídico del gen de fertilidad. En ejemplos no limitativos de este tipo, el producto polipeptídico es uno que está codificado por un gen de fertilidad enumerado en la Tabla 2 y en otro lugar de la presente memoria. Los anticuerpos ejemplares para su uso en la práctica de la presente invención incluyen anticuerpos monoclonales, fragmentos de inmunoglobulina Fv, Fab, Fab' y F(ab')₂, así como anticuerpos sintéticos, tales como, pero no limitados a, anticuerpos de dominio único (DAB), fragmentos Fv sintéticos estabilizados, p. ej., fragmentos Fv de cadena única (scFv), fragmentos Fv estabilizados por disulfuro (dsFv), minicuerpos con dominios de región variable única (dAb), combicuerpos y anticuerpos multivalentes tales como diacuerpos y multi-scFv o equivalentes humanos preparados por ingeniería. Las técnicas para preparar y usar diversas construcciones basadas en anticuerpos y fragmentos son muy conocidas en la técnica. Los medios para preparar y caracterizar anticuerpos también son muy conocidos en la técnica. En ejemplos ilustrativos, los anticuerpos pueden prepararse por inmunización convencional (p. ej., sueros policlonales e hibridomas) con péptidos o proteínas aislados, purificados o recombinantes correspondientes a al menos una parte de un producto polipeptídico de un gen de fertilidad, o como fragmentos recombinantes correspondientes a al menos una parte de un producto polipeptídico de un gen de fertilidad, expresados habitualmente en *Escherichia coli*, después de la selección a partir de bibliotecas de presentación en fagos o presentación en ribosomas (p. ej., disponible en Cambridge Antibody Technology, BioInvent, Affitech y Biosite). El conocimiento de las regiones de unión a antígeno (p. ej., regiones determinantes de la complementariedad) de dichos anticuerpos puede usarse para preparar anticuerpos sintéticos como se ha descrito, por ejemplo, anteriormente.

3.2 Sistemas para generar embriones de roedor con un gen de fertilidad disruptivo

Como se describe en la presente memoria, se usan sistemas para generar un embrión huésped de roedor con genes de fertilidad disruptivos. Por ejemplo, pueden crearse embriones de roedor que comprenden un gen de fertilidad disruptivo cruzando: 1) una primera cepa de animal que porta un gen de fertilidad que se puede disruptir ("cepa de infertilidad condicional"); con 2) una segunda cepa de animal que porta un transgén activador de la infertilidad que comprende una secuencia de nucleótidos disruptora que codifica una molécula disruptora del gen de fertilidad que disrupte el gen de fertilidad que se puede disruptir ("cepa activadora de la infertilidad"), generando de esta manera embriones huésped de roedor transgénicos que comprenden células germinales que tienen un gen de fertilidad disruptivo. En algunas realizaciones, los miembros femeninos de la primera cepa de animal se cruzan con los miembros masculinos de la segunda cepa de animal. Tal y como se usa en la presente memoria, los miembros respectivos de la primera y segunda cepa de animales son compañeros de reproducción de una pareja de reproducción de animales roedores.

En algunas realizaciones, el gen de fertilidad de la cepa de infertilidad condicional está en la forma de un transgén ("transgén de infertilidad condicional") en el que está unido operativamente a un promotor y a sitios de reconocimiento de recombinasa que permiten la disrupción del gen de fertilidad en presencia de una recombinasa. En estas realizaciones, el transgén activador de la infertilidad comprende una secuencia codificadora para la recombinasa unida operativamente a un promotor y los sitios de reconocimiento de recombinasa están localizados habitualmente en o adyacentes al gen de fertilidad y median la disrupción del gen de fertilidad. En los ejemplos no limitativos de este tipo, la recombinasa codificada por el transgén activador de la infertilidad de la cepa activadora de la infertilidad es Cre y los sitios de reconocimiento de recombinasa incluidos en el transgén de infertilidad condicional de la cepa de infertilidad condicional son secuencias de loxP. En ejemplos ilustrativos, el cruce de un miembro femenino de la cepa de infertilidad condicional que es homocigoto para el transgén de infertilidad condicional con un miembro masculino de la cepa activadora de la infertilidad que es homocigoto para el transgén activador de la infertilidad produce embriones de animal roedor con al menos algunas células germinales que tienen una disrupción heteróloga del gen de fertilidad. En ejemplos ventajosos, el gen de fertilidad de la cepa de infertilidad condicional está localizado en el cromosoma X (es decir un gen de fertilidad ligado a X) y el cruce de un miembro femenino de la cepa de infertilidad condicional que es homocigoto para el transgén de infertilidad condicional con un miembro masculino de la cepa activadora de la infertilidad que es homocigoto para el transgén activador de la infertilidad produce embriones de animal roedor que incluyen embriones masculinos con al menos algunas células germinales que tienen una disrupción homocigota del gen de fertilidad.

Como se describe en la presente memoria, los embriones huésped de roedor que comprenden un gen de fertilidad disruptivo se crean cruzando: (1) una primera cepa de animal que porta (a) un primer transgén de infertilidad condicional que comprende un primer gen de fertilidad que se puede disruptir y (b) un primer transgén activador de la infertilidad que comprende un gen que disrupte un segundo gen de fertilidad que se puede disruptir ("primera cepa activadora de la infertilidad condicional"); con (2) una segunda cepa de animal que porta (a) un segundo transgén de infertilidad condicional que comprende el segundo gen de fertilidad que se puede disruptir y (b) un segundo transgén activador de la infertilidad que comprende un gen que disrupte el primer gen de fertilidad que se puede disruptir ("segunda cepa activadora de la infertilidad condicional"), en donde el primer transgén activador de la infertilidad disrupte específicamente el segundo gen de fertilidad que se puede disruptir y en donde el segundo transgén activador de la infertilidad disrupte específicamente el primer gen de fertilidad que se puede disruptir, generando de esta manera embriones huésped de roedor transgénicos que comprenden células germinales que tienen un gen de fertilidad disruptivo. Excepto para los elementos del primer y segundo transgenes de infertilidad condicional que median la disrupción del primer y segundo genes de fertilidad que se pueden disruptir en presencia de los transgenes activadores de la infertilidad, los genes de fertilidad de los transgenes de infertilidad condicional son, de

forma adecuada, los mismos o los correspondientes genes. En estos ejemplos, el cruce de un compañero de reproducción de la primera cepa activadora de la infertilidad condicional que es homocigota para el primer transgén de infertilidad condicional y el primer transgén activador de la infertilidad con un compañero de reproducción de la segunda cepa activadora de la infertilidad condicional que es homocigota para el segundo transgén de infertilidad condicional y el segundo transgén activador de la infertilidad produce embriones de animal roedor con al menos algunas células germinales que tienen una disrupción homocigota del gen de fertilidad. Los miembros femeninos de la primera cepa de animal se cruzan con los miembros masculinos de la segunda cepa de animal. Los miembros masculinos de la primera cepa de animal se cruzan con los miembros femeninos de la segunda cepa de animal.

En algunas realizaciones, el primer transgén de infertilidad condicional comprende el primer gen de fertilidad que se puede disrumpir conectado operativamente a un promotor y a los primeros sitios de reconocimiento de recombinasa, que median la disrupción del primer gen de fertilidad que se puede disrumpir en presencia de una primera recombinasa, y el primer transgén activador de la infertilidad comprende una secuencia codificadora para una segunda recombinasa unida operativamente a un promotor, en donde la segunda recombinasa reconoce específicamente los segundos sitios de reconocimiento de recombinasa. El segundo transgén de infertilidad condicional comprende, de forma adecuada, el segundo gen de fertilidad que se puede disrumpir conectado operativamente a un promotor y a los segundos sitios de reconocimiento de recombinasa, que median la disrupción del segundo gen de fertilidad que se puede disrumpir en presencia de la segunda recombinasa, y el segundo transgén activador de la infertilidad comprende una secuencia codificadora para la primera recombinasa unida operativamente a un promotor, en donde la primera recombinasa reconoce específicamente los primeros sitios de reconocimiento de recombinasa. En ejemplos ilustrativos de este tipo, la segunda recombinasa codificada por el primer transgén activador de la infertilidad es FLP, los sitios de reconocimiento de recombinasa incluidos en el primer transgén de infertilidad condicional son secuencias loxP, la primera recombinasa codificada por el segundo transgén activador de la infertilidad es Cre, y los sitios de reconocimiento de recombinasa incluidos en el segundo transgén de infertilidad condicional son secuencias Frt. En otros ejemplos ilustrativos, la segunda recombinasa codificada por el primer transgén activador de la infertilidad es Cre, los sitios de reconocimiento de recombinasa incluidos en el primer transgén de infertilidad condicional son secuencias Frt, la primera recombinasa codificada por el segundo transgén activador de la infertilidad es FLP, y los sitios de reconocimiento de recombinasa incluidos en el segundo transgén de infertilidad condicional son secuencias loxP.

En algunas realizaciones, la segunda recombinasa codificada por el primer transgén activador de la infertilidad es FLP, los sitios diana incluidos en el primer transgén de infertilidad condicional son secuencias loxP, la primera recombinasa codificada por el segundo transgén activador de la infertilidad es Cre, y los sitios diana incluidos en el segundo transgén de infertilidad condicional son secuencias Frt. En algunos ejemplos, el cruce de un miembro femenino de la primera cepa activadora de la infertilidad condicional que es homocigota para el primer transgén de infertilidad condicional y el primer transgén activador de la infertilidad con un miembro masculino de la segunda cepa activadora de la infertilidad condicional que es homocigota para el segundo transgén de infertilidad condicional y el segundo transgén activador de la infertilidad produce embriones de animal roedor con al menos algunas células germinales que tienen una disrupción homocigota del gen de fertilidad.

Como se describe en la presente memoria, pueden crearse embriones de roedores que comprenden un gen de fertilidad disrumpido cruzando: 1) una primera cepa de animal que porta un gen de fertilidad que se puede disrumpir ("cepa de infertilidad condicional"); con 2) una segunda cepa de animal que porta un transgén activador de la infertilidad que comprende una secuencia de nucleótidos disruptora que codifica una molécula disruptora del gen de fertilidad que disrumpe el gen de fertilidad que se puede disrumpir ("cepa activadora de la infertilidad"), en donde el disruptor del gen de fertilidad se selecciona de ácidos nucleicos inhibidores (p. ej., ARN inhibidores tales como ARN con sentido o antisentido, moléculas que median la interferencia de ARN tales como ARNsi, ARNsh, miARN; etc.), polipéptidos inhibidores (p. ej., anticuerpos, compañeros de unión a polipéptidos, polipéptidos negativos dominantes, enzimas, etc.) o cualquier otra molécula que inhibe la actividad del gen de fertilidad o el nivel o actividad funcional de un producto de expresión del gen de fertilidad. En estas realizaciones, el transgén activador de la infertilidad comprende, de forma adecuada, un elemento modulador de la expresión unido operativamente a la secuencia de nucleótidos disruptora, en donde el elemento inhibe condicionalmente la expresión de la secuencia de nucleótidos disruptora y la cepa de infertilidad condicional porta un transgén activador que inhibe la actividad del elemento modulador de la expresión, dando lugar a la expresión de la secuencia de nucleótidos disruptora.

Por tanto, cuando un compañero de reproducción de la cepa de infertilidad condicional se cruza con un compañero de reproducción de la cepa activadora de la infertilidad, se formarán embriones en los que se expresa el transgén activador dando lugar a la inhibición del elemento modulador de la expresión y a la desinhibición de la expresión de la secuencia de nucleótidos disruptora con la producción de la molécula disruptora del gen de fertilidad, dando lugar, de esta manera, a la disrupción del gen de fertilidad. En estas realizaciones, el cruce de un compañero de reproducción de la cepa de infertilidad condicional que es homocigoto para el transgén activador con un compañero de reproducción de la cepa activadora de la infertilidad que es homocigoto para el transgén activador de la infertilidad produce embriones de animales roedores con al menos algunas células germinales que tienen una disrupción homocigota del gen de fertilidad.

En algunas realizaciones, el elemento modulador de la expresión inhibe la transcripción de la secuencia de nucleótidos disruptora bajo una primera condición y la disrupción del elemento modulador de la expresión puede permitir o aumentar la transcripción de la secuencia de nucleótidos disruptora bajo una segunda condición. En algunas realizaciones, el elemento modulador de la expresión comprende una secuencia de nucleótidos inhibidora (p. ej., un

terminador de la transcripción) que inhibe la expresión de la secuencia de nucleótidos disruptora y que está unida operativamente a sitios de reconocimiento de recombinasa, en donde los sitios de reconocimiento de recombinasa median la disrupción de la secuencia de nucleótidos inhibidora en presencia de una recombinasa. En ejemplos ilustrativos de este tipo, el segundo compañero de reproducción comprende un transgén activador que comprende una secuencia codificadora para la recombinasa, conectada operativamente a un promotor. El gen de fertilidad del segundo compañero de reproducción es, de forma adecuada, un gen de tipo salvaje. En algunas realizaciones, el primer compañero de reproducción es macho y el segundo compañero de reproducción es hembra.

En ejemplos ilustrativos de este tipo, la secuencia de nucleótidos disruptora se expresa condicionalmente mediante la unión operativa de la secuencia de nucleótidos disruptora a un sistema de regulación transcripcional inducible. Los transactivadores producidos a partir del transgén activador interaccionan específicamente con secuencias preparadas por ingeniería en elementos reguladores conectados operativamente a la secuencia de nucleótidos disruptora para inducir la transcripción de esa secuencia de nucleótidos en presencia de un producto de expresión del transgén activador. Por tanto, en estas realizaciones, el transgén activador comprende típicamente una secuencia de ácido nucleico que codifica un inductor transcripcional y el elemento modulador de la expresión comprende un sitio de unión para el inductor transcripcional que está conectado operativamente al promotor de la secuencia de nucleótidos disruptora, mediante lo cual la producción del inductor transcripcional causa un incremento o elevación de la expresión de la secuencia de nucleótidos disruptora y del nivel o actividad funcional de la molécula disruptora del gen de fertilidad. En ejemplos representativos de este tipo, el inductor transcripcional comprende (a) al menos un dominio de activación transcripcional, y (b) al menos un dominio de unión a ADN que se une a, o interacciona de otra forma con, el promotor que está conectado operativamente a la secuencia de nucleótidos disruptora y con el que interacciona el dominio o dominios de unión a ADN para activar la transcripción de la secuencia de nucleótidos disruptora. En operación, la transcripción del transgén activador da lugar a la producción del inductor transcripcional que, a su vez, interacciona a través de su dominio o dominios de unión a ADN con el promotor de la secuencia de nucleótidos disruptora y mediante su dominio de activación transcripcional con la maquinaria transcripcional para activar la transcripción de la secuencia de nucleótidos disruptora, lo que da lugar a un incremento o elevación del nivel o actividad funcional de la molécula disruptora del gen de fertilidad.

Los ejemplos no limitativos de dominios de activación transcripcional incluyen el dominio de transactivación ácido (TAD) de HSV1-VP16 (p. ej., aminoácidos 406 a 488, Triezenberg *et al.*, 1988, *Genes & Development* 2:718-729; Triezenberg, 1995, *Current Opinions in Genetics and Development* 5: 190-196; o aminoácidos 413 a 490, Regier *et al.*, 1993, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 90(3):883-887; o aminoácidos 411 a 487; o aminoácidos 453-499; o aminoácidos 413 a 454; o aminoácidos 410 a 452, Walker *et al.*, 1993, *Mol Cell Biol.* 13(9): 5233-5244; aminoácidos 411 a 455, Nettelbeck *et al.*, 1998, *Gene Ther.* 5(12): 1656-1664), el dominio de activación de Oct-2 (p. ej., aminoácidos 438 a 479, Tanaka *et al.*, 1994, *Mol Cell Biol.* 14(9): 6046-6055; o aminoácidos 3 a 154, Das *et al.*, 1995, *Nature.* 374(6523):657-660), el dominio de activación de SP1 (p. ej., aminoácidos 340 a 485, Courey y Tijan, 1988, *Cell.* 55(5):887-898), el dominio de activación de NFY (p. ej., aminoácidos 1 a 233, Li *et al.*, 1992, *J Biol Chem.* 267(13):8984-8990; van Huijsduijnen *et al.*, 1990, *EMBO J.* 9(10):3119-3127; Sinha *et al.*, 1995, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 92(5): 1624-1628; Coustry *et al.*, 1995, *J Biol Chem.* 270(1):468-475), el dominio de activación de ITF2 (p. ej., aminoácidos 2 a 452, Seipel *et al.*, 1992, *EMBO J.* 11(13):4961-4968), el dominio de activación de c-Myc (p. ej., aminoácidos 1 a 262, Eilers *et al.*, 1991, *EMBO J.* 10(1): 133-141), el dominio de activación de CTF (p. ej., aminoácidos 399 a 499, Mermod *et al.*, 1989, *Cell* 58(4): 741-753; Das y Herr, 1993, *J Biol Chem* 268(33):25026-25032) o el dominio de activación de P65 (p. ej., aminoácidos 286-550). En algunas realizaciones, el dominio de unión a ADN se selecciona del dominio de unión a ADN de la proteína Gal4 (p. ej., aminoácidos 1 a 147, Chasman y Komberg, 1990, *Mol Cell Biol.* 10(6): 2916-2923), el dominio de unión a ADN de la proteína LexA (p. ej., aminoácidos 1 a 81, Kim *et al.*, 1992, *Science* 10;255(5041): 203-206; o aminoácidos 2-202; o la proteína LexA completa, p. ej., aminoácidos 1 a 202, Brent y Ptashne, 1985, *Cell* 43(3 Pt 2): 729-736), el dominio de unión a ADN de la proteína represora de lac (LacI) (p. ej., Brown *et al.*, 1987, *Cell* 49(5):603-612; Fuerst *et al.*, 1989, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 86(8): 2549-2553), el dominio de unión a ADN de la proteína represora de tetraciclina (TetR) (p. ej., Gossen *et al.*, 1992, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 89(12): 5547-5551; Dingermann *et al.*, 1992, *EMBO J.* 11(4): 1487-1492) o el dominio de unión a ADN de la proteína ZFHD1 (p. ej., Pomerantz *et al.*, 1995, *Science* 267(5194):93-96). Generalmente, es ventajoso añadir una señal de localización nuclear (NLS) al extremo 3' del dominio de unión a ADN.

El promotor que está conectado operativamente a la secuencia de nucleótidos disruptora de forma adecuada comprende una secuencia que actúa en *cis* con la que interacciona el inductor transcripcional. La secuencia que actúa en *cis* comprende una secuencia de unión para el inductor transcripcional y particularmente para su dominio de unión a ADN. La secuencia de unión, por lo tanto, depende de la elección del dominio de unión a ADN del factor de transcripción usado para el sistema de expresión, e incluye, pero no está limitada a: (A) una secuencia de unión para la proteína Gal4 tal como, pero no limitada a: la secuencia de nucleótidos: 5'-CGGACAACGTGTGACCG-3' [SEQ ID NO: 3] como se describe, por ejemplo, por Chasman y Kornberg (1990, *supra*); o la secuencia de nucleótidos: 5'-CGGAGGACTGTCCTCCG-3' [SEQ ID NO: 4]; o la secuencia de nucleótidos: 5'-CGGAGTACTGTCTCCG-3' [SEQ ID NO: 5] como se describe, por ejemplo, por Giniger *et al.* (1988, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 85(2): 382-386); (B) una secuencia de unión para la proteína Gal4 tal como, pero no limitada a: la secuencia de nucleótidos: 5'-TACTGTATGTACATACAGTA-3' [SEQ ID NO: 6]; o el operador LexA como se describe, por ejemplo, por Brent y Ptashne (1984, *Nature* 312(5995): 612-615); (C) un operador *lac* tal como, pero no limitado a, la secuencia de nucleótidos: 5'-GAATTGTGAGGCTACAATTC-3' [SEQ ID NO: 7], al que se une la proteína represora LacI, como se describe, por ejemplo, por Fuerst *et al.* (1989, *supra*) y Simons *et al.* (1984, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 81(6): 1624-

1628); (D) un operador de tetraciclina (tet 0) tal como, pero no limitado a, la secuencia de nucleótidos: 5'-TCGAGTTTACCACTCCCTATCAGTGATAGAGAAAAGTGAAAAG-3' [SEQ ID NO: 8] al que se une la proteína represora de tetraciclina (TetR); (E) una secuencia de unión para la proteína ZFHD-1 tal como, pero no limitada a: la secuencia de nucleótidos: 5'-TAATGATGGGCG-3' [SEQ ID NO: 9] como se describe, por ejemplo, por Pomeranz *et al.* (1995, *supra*); (F) una secuencia de unión para la proteína c-Myc tal como, pero no limitada a: 5'-GGAAGCAGACCAGCTGGTCTGCTTCC-3' [SEQ ID NO: 10].

En otras realizaciones, la expresión condicional de la secuencia de nucleótidos disruptora está regulada por un sistema de recombinasa que se usa para activar la expresión de esa secuencia. En ejemplos no limitativos de este tipo, el sistema de recombinasa comprende una secuencia interviniente interpuesta entre un promotor y la secuencia de nucleótidos disruptora, que suprime o disrumpe de otra forma la transcripción de la secuencia de nucleótidos disruptora a partir del promotor. De forma adecuada, la secuencia interviniente comprende un terminador transcripcional que inhibe o suprime de otra forma la transcripción de secuencias aguas abajo. De forma deseable, la secuencia interviniente comprende sitios de reconocimiento de recombinasa que son reconocidos específicamente por una recombinasa específica de sitio codificada por el transgén activador, para disrumpir la secuencia interviniente en presencia de la recombinasa y para hacer, de esta manera, que la secuencia de nucleótidos disruptora esté unida operativamente con el promotor y para permitir la transcripción de esa secuencia. Alternativamente, el sistema de recombinasa comprende un transgén partido o dividido que incluye una parte aguas arriba y una parte aguas abajo de la secuencia de nucleótidos disruptora y una secuencia interviniente escindible, que está interpuesta entre las partes aguas arriba y aguas abajo. La parte aguas arriba está conectada operativamente a un promotor, pero la secuencia interviniente inhibe o suprime de otra forma la transcripción de la parte aguas abajo, evitando de esta manera la expresión de una molécula disruptora funcional del gen de fertilidad. La producción de una recombinasa específica de sitio por la expresión de la secuencia de nucleótidos disruptora escinde la secuencia interviniente escindible para dar lugar, de esta manera, a una secuencia de nucleótidos disruptora de longitud completa que se puede transcribir que permite la producción de una molécula disruptora funcional del gen de fertilidad.

Por tanto, en algunos ejemplos como se ha indicado anteriormente, los cruces darán lugar a la generación de embriones de roedor, que comprenden en su línea germinal una disrupción del gen de fertilidad, en los que, de forma adecuada, ambos alelos del gen de fertilidad están disrumpidos y en los que está inhibida la fertilidad (p. ej., espermatogénesis o función del espermatozoide).

La presente invención también abarca parejas de reproducción de animales roedores como se ha descrito anteriormente y en otro lugar de la presente memoria.

3.3 Células pluripotentes de roedor donantes

Las células pluripotentes de roedor donantes generalmente son capaces de diferenciarse en células germinales, tales como células ES, células germinales epi, células EG y células iPS. En realizaciones específicas, la célula pluripotente de roedor es una célula ES. Las células pluripotentes de roedor donantes pueden modificarse genéticamente y en ejemplos ilustrativos de este tipo comprenden un transgén. El transgén puede introducirse en una célula pluripotente usando vectores que facilitan la introducción del transgén en el genoma de la célula pluripotente (p. ej., por integración aleatoria o recombinación homóloga), métodos ilustrativos de lo cual se describen en Transgenic Mouse: Methods and Protocols (Hofker, MH., 2003. *Methods Mol Biol.* 209: 1-8), Advanced Protocols for Animal Transgenesis (2011, editado por S. Pease y T. L. Saunders, Springer Protocols Handbooks) y Transgenic Animals, Generation and Use (1997, editado por L. M. Houdebine, Hardwood Academic Publishers).

Una célula pluripotente de roedor donante puede ser una célula pluripotente masculina (XY) o una célula pluripotente femenina (XX), o una célula pluripotente XO. En realizaciones específicas, la célula pluripotente de roedor donante es una célula pluripotente masculina. Las células pluripotentes masculinas (XY), femeninas (XX) y XO pueden introducirse en embriones huésped preimplantación usando cualquier técnica adecuada.

En algunas realizaciones, las células pluripotentes de roedor donante son células iPS.

3.4 Embriones huésped de roedor

Los embriones huésped que pueden usarse para introducir células pluripotentes son embriones de roedor. Según algunas realizaciones de la presente invención, el embrión huésped es un embrión de roedor, particularmente un embrión de ratón o rata. Generalmente, el embrión huésped de roedor es de la misma especie que la célula pluripotente. Sin embargo, en algunos ejemplos, el embrión huésped de roedor es de una especie animal diferente (p. ej., especie de mamífero diferente) que la célula pluripotente. El embrión huésped de roedor en el que se introduce la célula pluripotente es generalmente un embrión huésped de roedor preimplantación, incluyendo un embrión que está en un estadio de 2 células, un estadio de 4 células, un estadio de 8 células, un estadio de 16 células, un estadio de 32 células, un estadio de 64 células, una mórula o un blastocisto. En algunas realizaciones, el embrión huésped de roedor preimplantación se selecciona de un embrión en estadio de pre-mórula, estadio de mórula, un estadio de mórula no compactado, un estadio de mórula compactado y un estadio de blastocisto. En algunas realizaciones, el embrión huésped de roedor preimplantación se selecciona de los estadios de edad embrionaria E1, E1.5, E2, E2.5, E3 y E3.5 para embriones de ratón. De forma adecuada el embrión huésped de roedor preimplantación se selecciona de

embriones huésped que tienen un estadio de desarrollo seleccionado de un Estadio de Theiler 2 (TS2), un TS3, un TS4, un TS5 y un TS6, con referencia a los estadios de Theiler como se describe en Theiler (1989) *The House Mouse: Atlas of Mouse Development*, por Theiler Springer- Verlag, NY. En realizaciones específicas, el embrión huésped de roedor preimplantación se selecciona de los estadios de Theiler TS3, TS4 y TS5. En otras realizaciones específicas, el embrión huésped de roedor preimplantación es una mórula. En otras realizaciones específicas más, el embrión huésped de roedor preimplantación es un blastocisto.

Generalmente, se introducen una o más (p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16) células pluripotentes de roedor donantes en un embrión huésped de roedor preimplantación (p. ej., de ratón o rata) que, de forma adecuada, es un embrión en estadio de 2 células, estadio de 4 células, estadio de 8 células, estadio de 16 células, estadio de 32 células, estadio de 64 células, una mórula o un blastocisto. En algunas realizaciones, el embrión huésped preimplantación es un blastocisto y el número de células pluripotentes donantes introducido es 6 a 12 células. En ejemplos ilustrativos de este tipo, el embrión huésped es un embrión en estadio de 8 células y el número de células pluripotentes donantes es 2 a 10 células.

3.5 Introducción de la célula pluripotente en el embrión huésped

Puede usarse cualquier método adecuado para introducir una célula pluripotente de roedor donante en un embrión huésped de roedor preimplantación. Por ejemplo, se seleccionan grupos de células pluripotentes donantes simples usando una aguja de vidrio finamente prolongada (20-25 micrómetros de diámetro interno) y se introducen a través de la zona pelúcida del embrión para embriones en estadio temprano y en la cavidad de los blastocistos (blastocèle) usando un microscopio invertido equipado con micro-manipuladores para los blastocistos. Se inyectan aproximadamente 9-10 células madre (células madre ES o iPS o epi) por blastocistos, o embrión en estadio de 8 células, 6-9 células madre por embrión en estadio de 4 células, y aproximadamente 6 células madre por embrión en estadio de 2 células. La inyección de las células madre puede estar asistida por un láser o pulsos piezoeléctricos con apertura por perforación de la zona pelúcida. (véase, Kraus *et al.*, 2010, *Genesis* 48: 394- 399). Alternativamente, las células madre pueden agregarse con la mórula o inyectarse en embriones en estadio temprano (p. ej., de 2 células, 4 células, 8 células, premórula o mórula) con o sin la zona pelúcida.

3.6 Gestación de embriones, animales quiméricos y descendencia

La gestación de los embriones en condiciones adecuadas para el desarrollo de los embriones se realiza según la metodología estándar. Los embriones de roedor que incluyen las células pluripotentes de roedor donantes se implantan en hembras pseudopreñadas como se conoce en la técnica (véase, *Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual*, 3ª edición (A. Nagy *et al.* 2002, CSHL Press, ISBN-10: 0879695919; Nagy *et al.*, 1990, *Development* 110, 815-821; Pat. de EE. UU. No. 7.576.259, Pat. de EE. UU. No. 7.659.442, Pat. de EE. UU. No. 7.294.754, Kraus *et al.* 2010, *Genesis* 48, 394-399). Brevemente, en realizaciones de roedores específicas, los roedores hembra fértiles entre 6-8 semanas de edad se cruzan con machos roedores vasectomizados o estériles para inducir un estado hormonal receptivo para soportar a los embriones de roedor introducidos artificialmente. Dichas hembras se denominan pseudopreñadas. En 2,5 dpc, se introducen (implantan) hasta 15 de los blastocistos que contienen células madre en el cuerno uterino. Para embriones en estadio temprano y mórula, dichos embriones se cultivan *in vitro* en blastocistos o se implantan en 0,5 dpc o 1,5 dpc en hembras pseudopreñadas según el estadio del embrión en el oviducto.

Los animales roedores quiméricos se desarrollaron a partir de embriones de roedor implantados desarrollados a término después de la transferencia, dependiendo el nacimiento de la edad del embrión en la implantación y de la especie. Se producen dos tipos de animales no humanos quiméricos por este proceso: aquellos que comprenden células germinales o gametos endógenos con un gen de fertilidad disrumpido, que derivan generalmente del embrión huésped de roedor, y aquellos que comprenden células germinales o gametos con un gen de fertilidad funcional, que derivan generalmente de la célula pluripotente de roedor donante.

Cuando estos animales roedores quiméricos se cruzan para generar descendencia con animales roedores cognados que comprenden un gen de fertilidad funcional, los animales roedores quiméricos que comprenden células germinales o gametos endógenos que tienen un gen de fertilidad disrumpido tendrán una fertilidad alterada o inhibida, y, por tanto, no producirán descendencia o producirán muy poca descendencia. Sin embargo, los animales roedores quiméricos que comprenden células germinales o gametos derivados de la célula pluripotente de roedor donante tendrán una fertilidad normal o no alterada, aumentando de esta manera la producción de la primera camada de crías que comprende células germinales o gametos derivados de la célula pluripotente de roedor donante.

Pueden aplicarse herramientas analíticas estándar para ensayar la identidad del esperma o la descendencia. Los métodos incluyen, pero no están limitados a, secuenciación, análisis por transferencia Southern, análisis de SNP, tecnologías de PCR, así como marcadores proteicos, marcadores del color del pelaje, análisis de isozimas (p. ej., GPI, análisis de isozimas de la glucosa fosfato isomerasa) y detección de cualesquiera genes informadores o transgenes presentes en las células madre usando métodos estándar muy establecidos en la técnica.

Los gametos de la primera camada de crías pueden recogerse y usarse para fertilización *in vitro* (IVF) o inseminación artificial (AI). Los gametos aislados de la primera camada de crías también pueden criopreservarse y almacenarse usando métodos conocidos en la técnica. Alternativamente, las células germinales de la primera camada de crías

pueden recogerse, madurarse *in vitro* o *in vivo* y usarse para fertilización *in vitro* o inseminación artificial.

La metodología de IVF está bien establecida. Véase, por ejemplo, Nagy *et al.* (2002, *Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual*, 3ª edición, CSHL Press). La IVF comprende generalmente recoger ovocitos y esperma de una hembra y un macho respectivamente, fertilizar los ovocitos de la hembra con esperma del macho y mantener los ovocitos fertilizados resultantes en condiciones adecuadas para el desarrollo de los ovocitos fertilizados en embriones. Los embriones pueden recogerse en diferentes estadios. La hembra puede someterse a superovulación antes de recoger los ovocitos para IVF. La fertilización puede conseguirse por IVF, inyección intracitoplásmica de esperma o perforación de la zona pelúcida. Véase, por ejemplo, Nagy *et al.* (2002, *supra*); Byers *et al.* (2006, *Theriogenology* 65: 1716-26); Ostermeier *et al.* (2008, *PLOS One* 3(7):e2792). La IVF puede ser una herramienta útil para incrementar los números de embriones obtenidos a partir de una única hembra.

La inyección intracitoplásmica de esperma (ICSI) puede usarse para mejorar las tasas de fertilización o para conseguir la fertilización. El procedimiento de ICSI implica la eliminación de las células del cúmulo que rodean a los ovocitos y la inyección del esperma o espermátidas haploides en los ovocitos, habitualmente mediante una pipeta de vidrio (véase, Kimura *et al.*, 1995, *Biol Reprod.* 53(4): 855-62). Las espermátidas, células madre espermatogoniales y células germinales masculinas pueden diferenciarse *in vitro* y usarse entonces para la ICSI (Marh *et al.*, 2003, *Biol Reprod* 69(1): 169-76; Movahedin *et al.*, 2004, *Andrologia* 36(5): 269-76; Ogura *et al.*, 1996, *J Assist Reprod Genet.* 13(5):4-31-4; Shinohara *et al.*, 2002, *Hum Reprod* 17(12):3039-45; Chuma *et al.*, 2005, *Development* 132(1): 117-22).

Como una alternativa a la recogida de ovocitos maduros para IVF de una hembra, puede obtenerse ovocitos inmaduros y dejar que maduren *in vitro*, una técnica conocida como "maduración *in vitro*". En otras realizaciones, pueden aislarse folículos, p. ej., folículo primario o células germinales de la hembra y cultivarse *in vitro* para obtener ovocitos útiles para la fertilización. En mamíferos, solo una pequeña fracción de los ovocitos inmaduros se desarrolla en ovocitos maduros; el resto degenera y muere. Mediante el aislamiento de ovocitos inmaduros de animales y dejar que maduren *in vitro*, se pueden obtener muchos más ovocitos adecuados para IVF a partir de una hembra dada en un marco de tiempo corto. Se sabe que los ovocitos de mamíferos experimentan maduración *in vitro*. En el caso de ratones, ganado y otros mamíferos, los ovocitos madurados *in vitro* se han fertilizado *in vitro* y han dado lugar a una descendencia sana normal cuando los embriones se transfirieron a un útero apropiado (Schroeder *et al.*, 1984, *Dev. Biol.* 102:493; Sirard *et al.*, 1988, *Biol. Reprod.* 39: 546). La técnica de maduración *in vitro* es muy conocida en la técnica. Véase, por ejemplo, Chiu *et al.* (2003, *Human Reprod.* 18: 408-416) y O'Brien *et al.* (2003, *Biol. Reprod.* 68: 1682-1686).

La inseminación artificial es un proceso de fertilización de animales hembra por la inyección o aplicación manual de esperma. En dicho procedimiento, los animales macho no se requieren en el momento de la inseminación; puede usarse esperma almacenado obtenido de los animales (véase, Wolfe, 1967, *Lab Anim Care* 17(4):426-32 y Sato *et al.*, 2002, *J Assist Reprod Genet.* 19(11): 523-30).

Otros métodos que pueden usarse para generar descendencia viva de la primera camada de crías incluyen la recuperación quirúrgica de ovocitos, transferencia ovárica, división ovárica, transferencia de fragmento ovárico, maduración de ovocitos *in vitro*, folículos, células madre espermatogoniales, diferenciación de células germinales *in vitro*, y diferenciación de células primordiales *in vitro*.

Se recogen los gametos de una primera camada de crías machos. Se recogen las células germinales o células pluripotentes espermatogoniales de una primera camada de crías machos. Las células germinales o células pluripotentes espermatogoniales se crioconservan. Como se describe en la presente memoria, la primera camada de crías hembras se usa para producir descendencia por reproducción. Se aíslan los gametos de la primera camada de crías hembras. En ejemplos ilustrativos de este tipo, se aíslan los ovarios de la primera camada de crías hembras. En otros ejemplos ilustrativos, se crioconservan los gametos u ovarios de la primera camada de crías hembras.

Con el fin de que la invención pueda entenderse fácilmente y ponerse en efecto práctico, se describirán ahora realizaciones preferidas particulares mediante los siguientes ejemplos no limitativos.

Ejemplos

Ejemplo 1

Generación de ratones con inactivación condicional de GILZ (Tsc22d3)

Se construyó un vector de direccionamiento para flanquear el exón 4 (ENSMUSE00000815383) del gen *Tsc22d3* de ratón (ENSMUSG00000031431) con sitios loxP mediante recombinación homóloga. La recombinación mediada por la recombinasa Cre de los sitios loxP da lugar a la delección del exón 4 (p. ej., del transcrito Tsc22d3-006 con el siguiente No. de acceso Vega OTTMUST00000045354). La CDS del exón 4 codifica la secuencia completa del dominio TSC22 (PF01166). En la Figura 1 se muestra una visión global esquemática del vector de direccionamiento.

Se insertó un casete de selección de neomicina (neo) para la selección en células ES aguas abajo del exón 4. El casete de selección estaba flanqueado por sitios FRT para permitir la eliminación por la recombinación mediada por FLP. Se insertaron sitios loxP individuales aguas arriba del exón 4 y aguas abajo del casete de selección. Los brazos de homología en 5' y 3' del vector eran aproximadamente de 8,0kb y 6,0kb, respectivamente.

El vector de direccionamiento linealizado se electroporó en células ES Bruce4. Los clones resistentes a neomicina se seleccionaron y se cribaron por análisis por transferencia Southern para identificar los clones dirigidos correctamente. Estos clones se inyectaron en blastocistos BALB/c que se transfirieron posteriormente en hembras adoptivas pseudopreñadas CBB6F1. Las quimeras resultantes se cruzaron con hembras C57BL/6. Su descendencia se seleccionó por el color del pelaje y se analizó adicionalmente por análisis por transferencia Southern. El casete de neomicina se eliminó cruzando los ratones dirigidos con una cepa de recombinasa FLPe C57BL/6.

Ejemplo 2

Generación de ratones diana usando ratones hembra con inactivación condicional de Tsc22d3 como donantes de blastocistos

- 10 Se inyectó a ratones hembra de 21 a 25 días de edad con inactivación condicional de Tsc22d3 en un fondo C57BL/6 suero de yegua preñada. Dos días después, se inyectó a los ratones gonadotropina coriónica humana y se cruzaron durante 24 h con machos con recombinasa Cre C57BL/6. Seis días después de la primera inyección, los blastocistos se extraen de las hembras con inactivación condicional de Tsc22d3. Estos blastocistos se usan como receptores para la microinyección de células ES dirigidas de BALB/c y los blastocistos microinyectados se transfieren a hembras adoptivas pseudopreñadas CBB6F1. Las quimeras resultantes se cruzan con hembras BALB/c. Se espera que las quimeras macho con testículos derivados de células de blastocistos sean estériles.

Ejemplo 3

Generación de ratones con inactivación condicional como donantes de blastocistos

- 20 La inactivación condicional de una Variante del Alelo A del gen de fertilidad ROSA26 contiene una secuencia de nucleótidos que codifica una molécula disruptora (p. ej., ARNsh que tiene un transcrito de un gen de fertilidad como diana, anticuerpo dirigido frente a una proteína que está codificada por un gen de fertilidad, etc.). Un casete de Parada flanqueado por sitios loxP inhibe la expresión de la molécula disruptora. Un vector de direccionamiento ilustrativo para preparar un Alelo A de ROSA26 dirigido se muestra en la Figura 2.

- 25 La Variante del Alelo B de ROSA26 contiene la CDS para una recombinasa Cre. Un ejemplo no limitativo de un vector de direccionamiento para preparar un Alelo B de ROSA26 dirigido se muestra en la Figura 3.

El compañero de reproducción uno es homocigoto para la Variante del Alelo A de ROSA26.

El compañero de reproducción dos es homocigoto para Variante del Alelo B de ROSA26.

El compañero de reproducción uno puede ser macho o hembra. El compañero de reproducción dos *vice versa*.

- 30 La descendencia del cruce del Compañero de reproducción uno con el Compañero de reproducción dos dará lugar a embriones con una Variante del Alelo A de ROSA26 y una Variante del Alelo B de ROSA26, como, por ejemplo, se muestra en la Figura 4. La recombinasa de la Variante del Alelo B de ROSA26 eliminará el casete de PARADA en la Variante del Alelo A de ROSA26 y, de esta manera, iniciará la expresión de la molécula disruptora. La molécula disruptora dará lugar ahora a una inactivación funcional del gen de fertilidad diana.

Ejemplo 4

- 35 Introducción de células pluripotentes en embriones con gen de fertilidad dirigido y producción de la primera camada de crías

Materiales y métodos

- 40 Se inyectó a ratones hembras C57BL/6 Tsc22d3 conKO/conKO o ratones hembras control wt (BALB/c x C57BL/6 albino, agutí en el caso de células ES Bruce4 dirigidas C57BL/6 y C57BL/6 en el caso de células ES dirigidas BALB/c) suero de yeguas preñadas (PMS) a los 21-25 días de edad. Dos días después, se aplicó una inyección posterior de gonadotropina coriónica humana (HCG). En el mismo día, los ratones hembras C57BL/6 Tsc22d3 conKO/conKO o los ratones BALB/c x C57BL/6 albinos, agutí wt (control) se cruzaron con ratones machos con un *knock-in* (KI) de la recombinasa Cre en el locus de ROSA26 (cre/cre) o ratones machos wt (control) respectivamente (el fondo de los ratones machos control era C57BL/6 en el caso de células ES dirigidas BALB/c y BALB/c en el caso de células ES Bruce4 dirigidas C57BL/6). Al día siguiente, los compañeros del cruce se separaron. Los blastocistos resultantes del cruce se recogieron 3 días después de la separación y se usaron para inyección de células ES dirigidas BALB/c y células ES Bruce4 dirigidas C57BL/6. Los blastocistos modificados se transfirieron a receptores CBB6F1. Aproximadamente 9 semanas después, la descendencia quimérica masculina se cruzó con ratones hembras BALB/c en el caso de células dirigidas BALB/c y con ratones hembras C57BL/6 en el caso de células Bruce4 dirigidas C57BL/6.
- 50 La descendencia se valoró para el color del pelaje a los 10 días de edad y se genotipó a los 21 días de edad por análisis de transferencia Southern.

Resultados

Inyección de una línea de células ES dirigida BALB/c

5 Los blastocistos Tsc22d3 KO/KO inyectados se transfirieron a tres receptores y dieron lugar a 16 quimeras de las cuales 11 fueron machos que se usaron para una reproducción adicional. Cinco quimeras de bajo porcentaje no produjeron descendencia. Las seis quimeras restantes produjeron 181 crías en total. 146 de estos animales se valoraron para el color del pelaje, 35 no se determinaron. Los 146 animales valorados (100 %) tenían un color de pelaje blanco como se esperaba para los animales que derivaron de células ES dirigidas BALB/c (véase la Figura 5).

Sesenta y tres de estos 146 animales se genotiparon con análisis de transferencia Southern (véase la Figura 6, transferencia Southern). Treinta y un (49 %) animales se determinaron como wt/dirigidos y 32 (51 %) como ratones wt/wt.

10 Como un control, también se inyectó la misma línea de células ES BALB/c en blastocistos wt BALB/c x C57BL/6 albino y se transfirieron a 14 receptores. Esto dio lugar a un total de seis quimeras de las cuales cinco fueron machos y una hembra. Las 5 quimeras macho produjeron un total de 155 crías. Ciento diecinueve de estos animales se valoraron para el color del pelaje. Sesenta (50 %) ratones tenían un color de pelaje blanco (derivados de células ES) y 59 (50 %) un color de pelaje agutí (derivados de blastocistos).

15 Inyección de una línea de células ES Bruce4 dirigida CS7BL/6

20 Los blastocistos Tsc22d3 KO/KO inyectados se transfirieron a dos receptores y dieron lugar a un total de tres quimeras de las cuales tres fueron machos. Las quimeras produjeron diez crías en total. Como el fondo de los blastocistos Tsc22d3 KO/KO (que se usaron para generar las quimeras) es C57BL/6xBALB/c F1 y las células ES inyectadas están en un fondo Bruce4 C57BL/6, no fue posible el fenotipado basado en el color del pelaje. En lugar de esto, se genotiparon ocho ratones por análisis de transferencia Southern de los cuales cuatro (50 %) se determinaron como wt/dirigidos y cuatro (50 %) como ratones wt/wt. Esto se correlaciona exactamente con la relación de ratones wt/dirigidos frente a ratones wt/wt que se espera si la descendencia de las quimeras deriva solo de la célula ES dirigida.

25 Como un control, también se inyectó la misma línea de células ES Bruce4 C57BL/6 en blastocistos wt BALB/c x C57BL/6 albino, agutí y se transfirieron a 11 receptores. Esto dio lugar a un total de 13 quimeras de las cuales ocho fueron macho y cinco hembras. Las ocho quimeras macho produjeron un total de 324 crías. Ciento cuarenta y nueve de estos animales se valoraron para el color del pelaje. Cincuenta y dos (35 %) ratones tenían un color de pelaje negro (derivados de células ES) y 97 (65 %) un color de pelaje agutí (derivados de blastocistos).

30 Por tanto, el uso de blastocistos Tsc22d3 KO/KO como huéspedes de una línea de células ES modificada genéticamente mejora significativamente la transmisión de la línea germinal de la modificación genética a los animales de la progenie. Siguiendo este experimento, se han conseguido mejorías comparables en la transmisión de la línea germinal para otras ocho líneas de células ES que portan diferentes modificaciones genéticas.

La cita de cualquier referencia en la presente memoria no debe considerarse como una admisión de que dicha referencia esté disponible como "Técnica Anterior" a la presente solicitud.

35 A lo largo de la memoria descriptiva, el objetivo ha sido describir las realizaciones preferidas de la invención sin limitar la invención a ninguna realización o colección específica de características. Los expertos en la técnica apreciarán, por lo tanto, que, a la vista de la presente descripción, pueden hacerse diversas modificaciones y cambios en las realizaciones particulares ejemplificadas sin apartarse del alcance de la presente invención. Se pretende que todas estas modificaciones y cambios estén incluidos en el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Un embrión huésped de roedor preimplantación caracterizado por una disrupción de un gen de fertilidad, comprendiendo el embrión huésped preimplantación una célula pluripotente de roedor donante que carece de la disrupción del gen de fertilidad, en donde la célula pluripotente donante comprende además opcionalmente una modificación genética en su genoma, en donde el gen de fertilidad está localizado en el cromosoma X y en donde el gen de fertilidad disrumpido inhibe la fertilidad masculina.
2. Un embrión huésped de roedor preimplantación según la reivindicación 1, en donde la célula pluripotente es una célula pluripotente masculina o una célula madre que es opcionalmente una célula madre embrionaria (ES).
3. Un embrión huésped de roedor preimplantación según la reivindicación 1 o 2, en donde el gen de fertilidad modula la espermatogénesis.
4. Un embrión huésped de roedor preimplantación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el gen de fertilidad es GILZ.
5. Un embrión huésped de roedor preimplantación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el embrión huésped de roedor es macho.
6. Un embrión huésped de roedor preimplantación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el embrión huésped de roedor es un embrión en estadio de 8 células o un blastocisto.
7. Un método para generar un roedor o un roedor quimérico, comprendiendo el método las etapas de: a) usar un embrión huésped de roedor preimplantación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6; y b) permitir que el embrión huésped de roedor de la etapa a) que ha sido transferido a un roedor pseudopreñado se desarrolle y nazca, generando de esta manera un roedor.
8. Un roedor sustitutivo o adoptivo que comprende un embrión huésped de roedor caracterizado por una disrupción de un gen de fertilidad, comprendiendo el embrión huésped una célula pluripotente de roedor donante que carece de la disrupción del gen de fertilidad, en donde la célula pluripotente donante comprende además opcionalmente una modificación genética en su genoma, en donde el gen de fertilidad está localizado en el cromosoma X y en donde el gen de fertilidad disrumpido inhibe la fertilidad masculina.
9. Un roedor sustitutivo o adoptivo según la reivindicación 8, en donde el gen de fertilidad es GILZ.
10. Un método para producir un roedor quimérico, comprendiendo el método (1) usar un embrión de roedor preimplantación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde la célula pluripotente comprende una modificación genética; y (2) permitir que el embrión huésped de roedor de (1) que ha sido transferido a un roedor pseudopreñado se desarrolle y nazca, generando de esta manera un roedor quimérico con un gen de fertilidad disrumpido y la modificación genética en su línea germinal y en donde el roedor quimérico es opcionalmente un roedor quimérico macho.
11. Un roedor quimérico que deriva de un embrión huésped de roedor preimplantación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el roedor quimérico comprende células germinales o gametos endógenos que comprenden un gen de fertilidad disrumpido o en donde el roedor quimérico comprende células germinales o gametos derivados de la célula pluripotente donante que no comprenden un gen de fertilidad disrumpido.
12. Un sistema para mejorar la transmisión de la línea germinal de una célula pluripotente de roedor donante, sistema que comprende:
una pareja de reproducción de roedores, que comprende: 1) un primer compañero de reproducción que comprende un gen de fertilidad que se puede disrumpir por una molécula disruptora del gen de fertilidad ("un gen de fertilidad que se puede disrumpir"), en donde el gen de fertilidad que se puede disrumpir está conectado operativamente a un promotor, en donde el gen de fertilidad está localizado en el cromosoma X, en donde la disrupción del gen de fertilidad inhibe la fertilidad masculina y en donde el primer compañero de reproducción es homocigoto para el gen de fertilidad que se puede disrumpir, y 2) un segundo compañero de reproducción que comprende un transgén disruptor que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica la molécula disruptora del gen de fertilidad ("una secuencia de nucleótidos disruptora"), en donde la secuencia de nucleótidos disruptora está unida operativamente a un promotor, en donde el primer compañero de reproducción es hembra y el segundo compañero de reproducción es macho; y 3) una célula pluripotente de roedor donante que comprende el gen de fertilidad que carece de una disrupción.
13. Un sistema según la reivindicación 12, en donde el disruptor del gen de fertilidad es una recombinasa y el gen de fertilidad que se puede disrumpir está conectado operativamente a sitios de reconocimiento de recombinasa que median la disrupción del gen de fertilidad en presencia de la recombinasa o el disruptor del gen de fertilidad es una molécula de ARN inhibidor que inhibe la expresión del gen de fertilidad, de forma adecuada, por la supresión antisentido o interferencia de ARN o el disruptor del gen de fertilidad es un anticuerpo que es inmuno-reactivo con un producto polipeptídico del gen de fertilidad.

14. Un sistema según la reivindicación 12 o 13, en donde la secuencia de nucleótidos disruptora se puede expresar condicionalmente.
- 5 15. Un sistema según la reivindicación 14, en donde el transgén disruptor comprende un elemento modulador de la expresión unido operativamente a la secuencia de nucleótidos disruptora, en donde el elemento inhibe condicionalmente la expresión de la secuencia de nucleótidos disruptora.
- 10 16. Un sistema según la reivindicación 15, en donde el elemento modulador de la expresión inhibe la transcripción de la secuencia de nucleótidos disruptora bajo una primera condición y la disrupción del elemento modulador de la expresión permite o aumenta la transcripción de la secuencia de nucleótidos disruptora bajo una segunda condición y/o el elemento modulador de la expresión comprende una secuencia de nucleótidos inhibidora (p. ej., un terminador de la transcripción) que inhibe la expresión de la secuencia de nucleótidos disruptora y que está unida operativamente a sitios de reconocimiento de recombinasa, en donde los sitios de reconocimiento de recombinasa median la disrupción de la secuencia de nucleótidos inhibidora en presencia de una recombinasa, y en donde el primer compañero de reproducción comprende un transgén activador que comprende una secuencia codificadora para la recombinasa, conectada operativamente a un promotor.
- 15 17. Un sistema según la reivindicación 16, en donde el primer compañero de reproducción es homocigoto para el transgén activador.
18. Un sistema según una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 17, en donde el segundo compañero de reproducción es homocigoto para el transgén disruptor.
- 20 19. Un sistema para producir un embrión huésped de roedor caracterizado por una disrupción de un gen de fertilidad, que mejora la transmisión de la línea germinal de una célula pluripotente de roedor donante, sistema que comprende:
una pareja de reproducción de roedores, que comprende: 1) un primer compañero de reproducción que comprende un gen de fertilidad que se puede disrumpir por una molécula disruptora del gen de fertilidad ("un gen de fertilidad que se puede disrumpir"), en donde el gen de fertilidad que se puede disrumpir está conectado operativamente a un promotor, en donde el gen de fertilidad está localizado en el cromosoma X, en donde la disrupción del gen de fertilidad inhibe la fertilidad masculina y en donde el primer compañero de reproducción es homocigoto para el gen de fertilidad que se puede disrumpir, y 2) un segundo compañero de reproducción que comprende un transgén disruptor que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica la molécula disruptora del gen de fertilidad ("una secuencia de nucleótidos disruptora"), en donde la secuencia de nucleótidos disruptora está unida operativamente a un promotor, en donde el primer compañero de reproducción es hembra y el segundo compañero de reproducción es macho.
- 25 20. Un sistema según la reivindicación 19, en donde el embrión huésped de roedor es un embrión en estadio de 8 células o un blastocisto.
- 30 21. Un sistema según la reivindicación 19 o reivindicación 20, en donde el embrión huésped de roedor es macho.
22. Un sistema según una cualquiera de las reivindicaciones 19 a 21, en donde el segundo compañero de reproducción es homocigoto para el transgén disruptor.

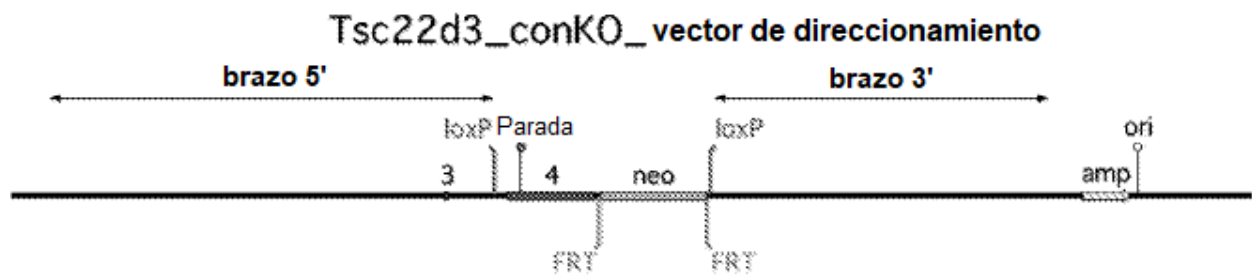


FIGURA 1

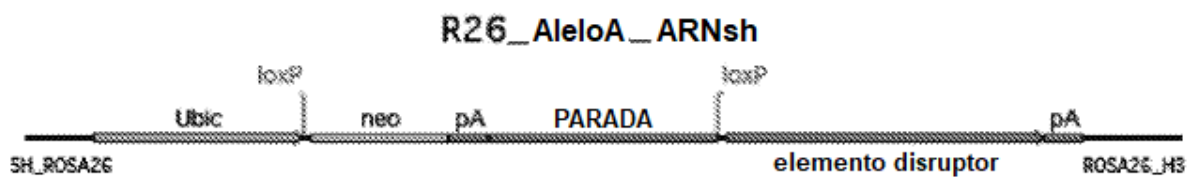


FIGURA 2



FIGURA 3

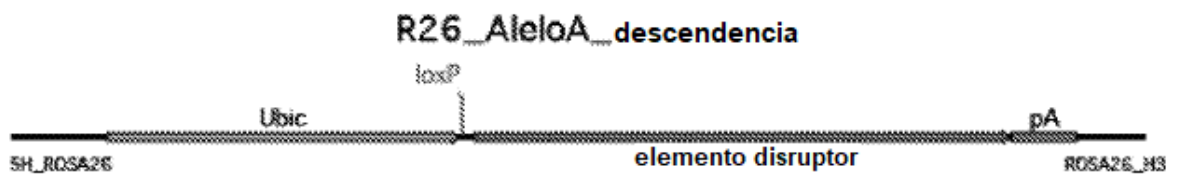


FIGURA 4



FIGURA 5

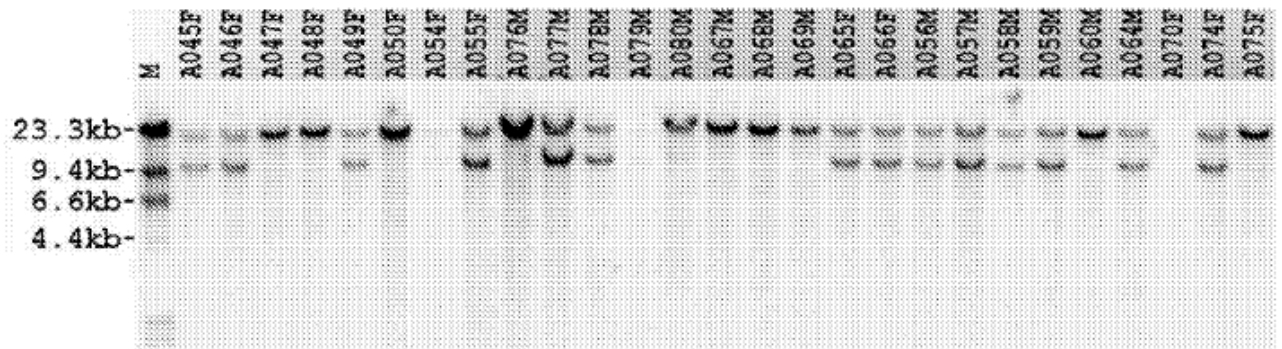


FIGURA 6