

BIOTECHNOLOGY & OMICS TECHNOLOGIES

Biotecnología y Tecnologías Ómicas

BOT-115 Rev. Cientif. FCV-LUZ, XXXIII, SE, 279-280, 2023, <https://doi.org/10.52973/rcfcv-wbc123>

Effect of custom-designed transfection buffer on delivery of genome modification components into primary cells of buffalo, cattle, goats, and sheep

Shreya Malhotra, Priyanka Singh, Aseem Tara, Bosco Jose, Devika Gautam, Ram Prasad, Gaurav Tripathi, Sacchinandan De, Naresh L. Selokar*

Animal Biotechnology Division (ABTD), ICAR-National Dairy Research Institute, Karnal, Haryana, 132001

*Corresponding author: Naresh L. Selokar (naresh.selokar@icar.gov.in).

Efecto del tampón de transfección diseñado a medida en la administración de componentes de modificación del genoma en células primarias de búfalos, ganado vacuno, cabras y ovejas

Shreya Malhotra, Priyanka Singh, Aseem Tara, Bosco Jose, Devika Gautam, Ram Prasad, Gaurav Tripathi, Sacchinandan De, Naresh L. Selokar*

División de Biotecnología Animal (ABTD), ICAR-Instituto Nacional de Investigación Láctea, Karnal, Haryana, 132001

*Autor de correspondencia: Naresh L. Selokar (naresh.selokar@icar.gov.in).

ABSTRACT

The transfer of genome-modification components into farm animal cells is indispensable for the production of genome-modified and transgenic farm animals. Electroporation is a physical transfection method when appropriately used; this technique is safe, simple to use, affordable, and efficient in transfecting cells from several lineages. Electroporation efficiency depends on various physical parameters, of which cell type is considered a major factor for transfection efficiency. Primary cells are generally less susceptible to transfection than other cell types due to their finite lifespan and limited expansion capacity. Previously, we custom-designed a transfection buffer to deliver exogenous genetic components into mammalian cells. In the present study, we examined the effect of the developed buffer on transfection rates and cell viability of primary somatic cells from buffalo, cattle, goats, and sheep. To achieve the aims of this study, primary somatic cells from skin biopsies were established and were transfected with a Venus-expression vector (pAcGFPs-Venus). We noticed that transfection rates of pAcGFPs-Venus were 22.51%, 17.56%, 22.81%, and 16.16% for buffalo, cattle, goats, and sheep cells, respectively. We also noticed that cell viability and proliferation rates were better in the case of goats, sheep, and cattle cells; also, these cells have less vacuolation than buffalo cells. In addition, we also generated MSTN (myostatin) KO (Knockout) cell clones from these cell populations, in which the efficiency of single-cell clone generation was high for goats and sheep cells. In conclusion, our lab-made transfection buffer can be efficiently used to

RESUMEN

La transferencia de componentes de modificación del genoma a células de animales de granja es indispensable para la producción de animales de granja transgénicos y con el genoma modificado. La electroporación es un método de transfección física cuando se utiliza adecuadamente. Esta técnica es segura, sencilla de utilizar, asequible y eficaz para transfectar células de varios linajes. La eficiencia de la electroporación depende de varios parámetros físicos, de los cuales el tipo de célula se considera un factor importante para la eficiencia de la transfección. Las células primarias son generalmente menos susceptibles a la transfección que otros tipos de células debido a su vida útil finita y su capacidad de expansión limitada. Anteriormente, diseñamos un tampón de transfección personalizado para administrar componentes genéticos exógenos a células de mamíferos. En el presente estudio, examinamos el efecto del tampón desarrollado sobre las tasas de transfección y la viabilidad celular de células somáticas primarias de búfalos, bovinos, caprinos y ovinos. Para lograr los objetivos de este estudio, se establecieron células somáticas primarias de biopsias de piel y se transflectaron con un vector de expresión de Venus (pAcGFPs-Venus). Notamos que las tasas de transfección de pAcGFPs-Venus fueron 22,51%, 17,56%, 22,81% y 16,16% para células de búfalo, ganado vacuno, cabras y ovejas, respectivamente. También notamos que la viabilidad celular y las tasas de proliferación eran mejores en el caso de células de cabras, ovejas y vacunos; además, estas células tienen menos vacuolización que las células de búfalo. También

generate genome-edited or transgenic farm animals for agriculture, biomedical, and veterinary applications.

Keywords: transfection buffer, genome modification, CRISPR.

generamos clones de células MSTN (miostatina) KO (Knockout) a partir de estas poblaciones de células, en las que la eficiencia de la generación de clones unicelulares fue alta para células de cabras y ovejas. En conclusión, nuestro tampón de transfección fabricado en laboratorio se puede utilizar de manera eficiente para generar animales de granja transgénicos o editados con genoma para aplicaciones agrícolas, biomédicas y veterinarias.

Palabras clave: tampón de transfección, modificación del genoma y CRISPR.