ΒΙΟΛΟΓΙΑ

Ομάδας Προσανατολισμού Θετικών Σπουδών & Σπουδών Υγείας

Τεύχος Β΄

Γ΄ τάξης Γενικού Λυκείου

Τόμος 6ος

l_c_biologia_thk_bm_109-144_28b.indd 1 31/3/2022 10:05:41 πμ

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΡΧΙΚΗΣ ΕΚΔΟΣΗΣ

ΟΜΑΔΑ ΣΥΓΓΡΑΦΗΣ

Δρ Βασιλική Αλεπόρου-Μαρίνου, Βιολόγος, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Δρ Αλέξανδρος Αργυροκαστρίτης, Βιολόγος, εκτ. Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης.

Δρ Αικατερίνη Κομητοπούλου, Βιολόγος, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Δρ Περικλής Πιαλόγλου, Βιολόγος, Πειραματικό Γυμνάσιο Αγίων Αναργύρων.

Βασιλική Σγουρίτσα, Βιολόγος, Λύκειο Αγίας Τριάδας Αργολίδας.

ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΓΙΑ ΤΟ ΠΑΙΔΑΓΩΓΙΚΟ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ

Δρ Βασιλική Περάκη, Βιολόγος, Σύμβουλος Π.Ι.

ΟΜΑΔΑ ΚΡΙΣΗΣ

Δρ Βασίλειος Γαλανόπουλος, Βιολόγος, Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης.

Δρ Αντώνης Καστορίνης, Βιολόγος, Διευθυντής, 1ο Γυμνάσιο Κηφισιάς.

Αναστασία Καμπούρη, Βιολόγος, Γυμνάσιο Νέας Χαλκηδόνας.

ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΑ ΕΞΩΦΥΛΛΟΥ

Αλυσίδες DNA (TSI, ΑΠΕΙΡΟΝ ΕΠΕ)

ΣΧΕΔΙΑ ΠΡΩΤΟΣΕΛΙΔΩΝ ΚΕΦΑΛΑΙΩΝ 2 (σελ. 29), 4 (σελ. 59) και ΕΝΘΕΤΟΥ (σελ. 179).

Λία Γαλάνη

ΠΗΓΕΣ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΩΝ

ΑΠΕΙΡΟΝ ΕΠΕ Diplococcus pneumoniae σελ. 15, Ιός της γρίπης σελ. 49, Καθαρισμός μονοκλωνικών αντισωμάτων σελ.119, Διαγονιδιακές αγελάδες σελ. 135 και Καθαρισμός παραλίας από πετρελαιοκηλίδα από το ναυάγιο του Exxon Valdez σελ. 157.

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ, ΜΑΙΕΥΤΗΡΙΟ ΜΗΤΕΡΑ.
Καρυότυπος ατόμου που πάσχει από σύνδρομο Klinefelter σελ. 100 και καρυότυπος ατόμου που πάσχει από σύνδρομο Turner σελ. 100.

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΠΑΝΕΚΔΟΣΗΣ

Η επανέκδοση του παρόντος βιβλίου πραγματοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Τεχνολογίας Υπολογιστών & Εκδόσεων «Διόφαντος» μέσω ψηφιακής μακέτας, η οποία δημιουργήθηκε με χρηματοδότηση από το ΕΣΠΑ / ΕΠ «Εκπαίδευση & Διά Βίου Μάθηση» / Πράξη «ΣΤΗΡΙΖΩ».



Οι διορθώσεις πραγματοποιήθηκαν κατόπιν έγκρισης του Δ.Σ. του Ινστιτούτου Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Η αξιολόγηση, η κρίση των προσαρμογών και η επιστημονική επιμέλεια του προσαρμοσμένου βιβλίου πραγματοποιείται από τη Μονάδα Ειδικής Αγωγής του Ινστιτούτου Εκπαιδευτικής Πολιτικής.

Η προσαρμογή του βιβλίου για μαθητές με μειωμένη όραση από το ΙΤΥΕ – ΔΙΟΦΑΝΤΟΣ πραγματοποιείται με βάση τις προδιαγραφές που έχουν αναπτυχθεί από ειδικούς εμπειρογνώμονες για το ΙΕΠ.

ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ ΤΟΥ ΒΙΒΛΙΟΥ ΓΙΑ ΜΑΘΗΤΕΣ ΜΕ ΜΕΙΩΜΕΝΗ ΟΡΑΣΗ

ΙΤΥΕ - ΔΙΟΦΑΝΤΟΣ

ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ,
ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ

ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗΣ ΠΟΛΙΤΙΚΗΣ

Η συγγραφή και η επιστημονική επιμέλεια του βιβλίου πραγματοποιήθηκε υπό την αιγίδα του Παιδαγωγικού Ινστιτούτου

ΒΙΟΛΟΓΙΑ

Ομάδας Προσανατολισμού
Θετικών Σπουδών
& Σπουδών Υγείας
Τεύχος Β΄

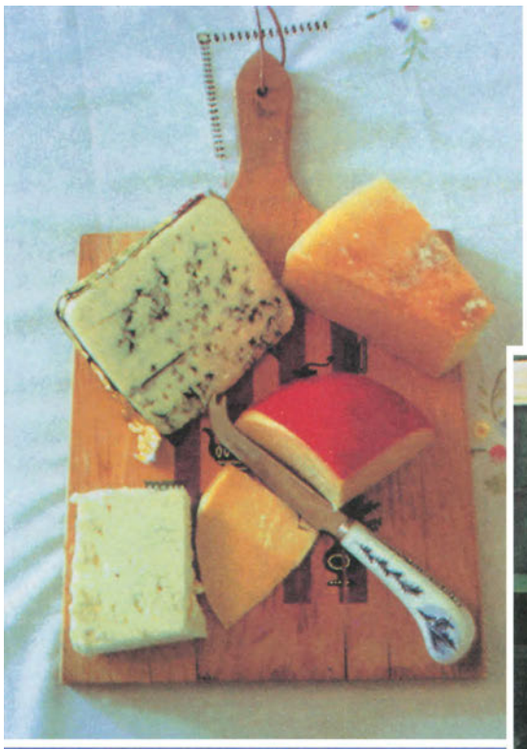
Γ΄ τάξης Γενικού Λυκείου

Τόμος 6ος

Ι.Τ.Υ.Ε. «ΔΙΟΦΑΝΤΟΣ»

l_c_biologia_thk_bm_179-206_28b.indd 7 31/3/2022 10:23:20 πμ

Αρχές και μεθοδολογία της Βιοτεχνολογίας







κεφάλαιο

7

Εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας

7. Αρχές και μεθοδολογία της Βιοτεχνολογίας

Ένα περιστατικό από το άμεσο μέλλον

Στην εντατική κλινική ενός νοσοκομείου ο γιατρός κάνει ένεση με την πρωτεΐνη ενεργοποιητή πλασμινογόνου (tPA) σε έναν ασθενή, ο οποίος μόλις έχει φτάσει με καρδιακό ισχαιμικό επεισόδιο. Μέσα σε λίγα λεπτά ο tPA διαλύει τους θρόμβους που παρεμποδίζουν την κυκλοφορία του αίματος. Στον άνθρωπο αυτή η σημαντική για την κυκλοφορία του αίματος πρωτεΐνη βρίσκεται σε ίχνη. Η πρωτεΐνη που δόθηκε ως φάρμακο στον ασθενή έχει παραχθεί από βακτήρια, έχει όμως την ίδια σύσταση με το δικό του tPA. Εάν δεν είχε αναπτυχθεί αυτή η μεθοδολογία, θα

ήταν αδύνατη η χρησιμοποίηση αυτού του φαρμάκου, καθώς οι συμβατικές μέθοδοι δεν επιτρέπουν την παραγωγή του σε μεγάλες ποσότητες. Η παρασκευή τόσο του tPA όσο και των άλλων «φαρμακευτικών» πρωτεϊνών είναι δυνατή λόγω της ανάπτυξης τεχνικών χειρισμού του γενετικού υλικού και της χρησιμοποίησης γενετικά τροποποιημένων οργανισμών.

Η Βιοτεχνολογία προσφέρει τη δυνατότητα χρησιμοποίησης των ζωντανών οργανισμών για την παραγωγή χρήσιμων προϊόντων

Οι ζωντανοί οργανισμοί χρησιμοποιούνται εδώ και χιλιάδες χρόνια για την παραγωγή χρήσιμων

προϊόντων. Παλαιότερα χρησιμοποιούνταν κυρίως για την παραγωγή ψωμιού, μπίρας και κρασιού. Σήμερα οι εξελίξεις στην Επιστήμη και στην Τεχνολογία δίνουν τη δυνατότητα χρησιμοποίησης των ζωντανών οργανισμών για την παραγωγή ευρείας κλίμακας προϊόντων όπως τροφίμων, αντιβιοτικών και εμβολίων. Ο όρος Βιοτεχνολογία χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Ούγγρο Kark Ereky το 1919, για να περιγράψει τη «διαδικασία παραγωγής προϊόντων από ακατέργαστα υλικά με τη βοήθεια ζωντανών οργανισμών».

Σήμερα η **Βιοτεχνολογία** αποτελεί συνδυασμό Επιστήμης και Τεχνολογίας, με στόχο την εφαρμογή των γνώσεων που έχουν αποκτηθεί από τη μελέτη των ζωντανών οργανισμών για την παραγωγή σε ευρεία κλίμακα

χρήσιμων προϊόντων. Τέτοια προϊόντα είναι, για παράδειγμα, η αλκοόλη, που παράγεται με ζύμωση, και η ανθρώπινη ινσουλίνη, που παράγεται από γενετικά τροποποιημένα βακτήρια. Η Βιοτεχνολογία συνεισφέρει σε διάφορους τομείς όπως είναι η Ιατρική, η γεωργία, η κτηνοτροφία, η βιομηχανία και η προστασία του περιβάλλοντος.

Βιοτεχνολογία με την ευρεία έννοια είναι η χρήση ζωντανών οργανισμών προς όφελος του ανθρώπου.

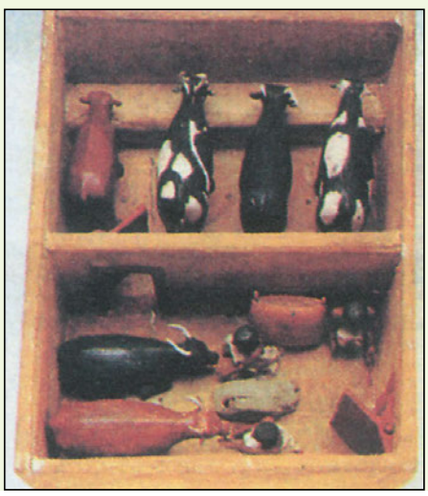
Η Βιοτεχνολογία στηρίζεται κυρίως σε τεχνικές καλλιέργειας και ανάπτυξης των μικροοργανισμών και σε τεχνικές ανασυνδυασμένου DNA. Οι τελευταίες βρίσκουν άμεση εφαρμογή στη Βιοτεχνολογία, επειδή παρέχουν τη δυνατότητα εισαγωγής νέων επιθυμητών ιδιοτήτων

στους ζωντανούς οργανισμούς σε μικρότερο χρόνο και με μεγαλύτερη ακρίβεια από ό,τι στο παρελθόν. Το νέο στη Βιοτεχνολογία είναι όχι οι ιδέες, εφόσον και στο παρελθόν είχαν γίνει προσπάθειες τροποποίησης των ιδιοτήτων των οργανισμών, αλλά οι τεχνικές για την υλοποίησή τους.

Στο κεφάλαιο αυτό θα εξετάσουμε μερικές από τις μεθόδους και εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας. Οι νέες τεχνολογίες, στις οποίες συμπεριλαμβάνεται η Βιοτεχνολογία, αλλάζουν την κοινωνία μας με μεγαλύτερη ταχύτητα από ό,τι στο παρελθόν, με ανεξέλεγκτα ίσως αποτελέσματα. Αυτό αναπόφευκτα δημιουργεί νέα κοινωνικά και ηθικά διλήμματα, μερικά από τα οποία θα συζητηθούν στο κεφάλαιο της Βιοηθικής.

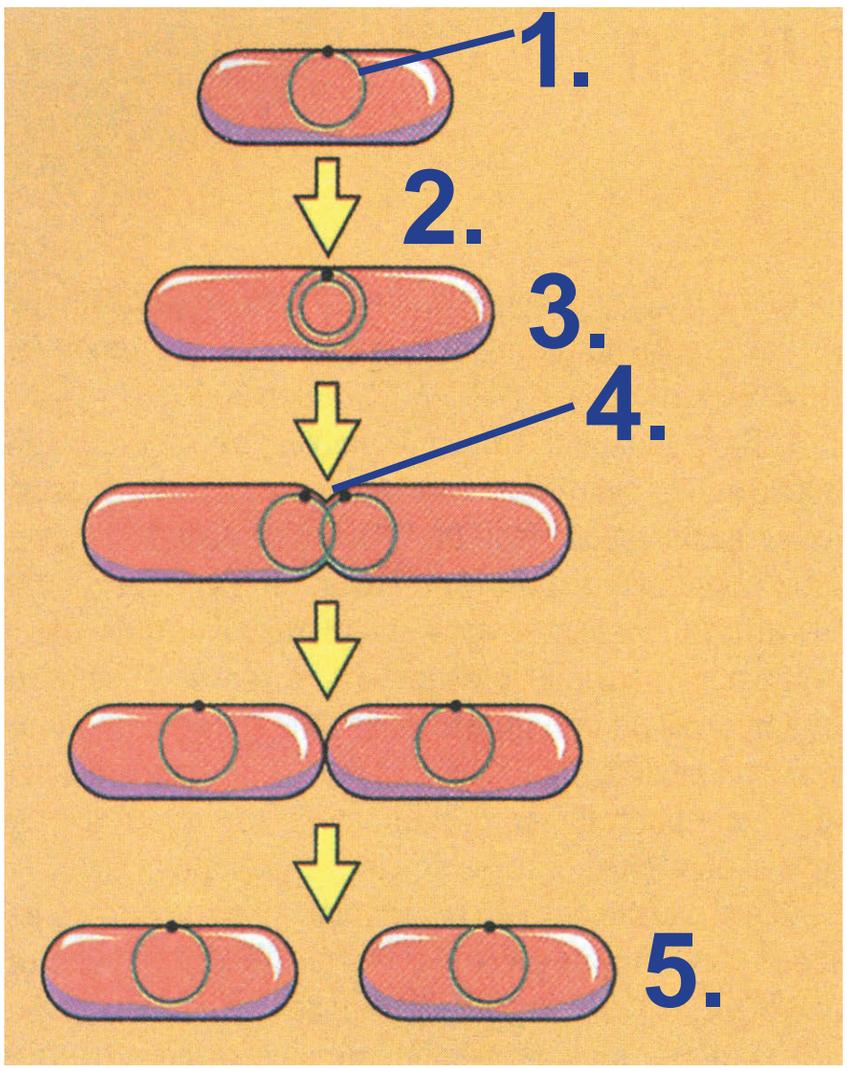
Η Βιοτεχνολογία μερικές χιλιετίες πριν

Σύμφωνα με ενδείξεις οι Αιγύπτιοι παρήγαγαν μπίρα την 7η χιλιετία π.Χ., ενώ την 4η χιλιετία π.Χ. σε περιοχές της Μεσοποταμίας γινόταν καλλιέργεια της αμπέλου (Vitis vinifera) για την παραγωγή κρασιού. Ιστορικές πληροφορίες σχετικά με την ελεγχόμενη εκτροφή ζώων από τον άνθρωπο υπάρχουν σε τοιχογραφίες αιγυπτιακών τάφων, που χρονολογούνται στο 4000 π.Χ. και παρουσιάζουν ελεγχόμενες διασταυρώσεις σκύλων.



Οι μικροβιακές καλλιέργειες αποτελούν ένα σημαντικό εργαλείο για τη Βιοτεχνολογία

Οι μικροοργανισμοί όταν βρεθούν σε κατάλληλες συνθήκες, αυξάνονται σε μέγεθος και διαιρούνται με αποτέλεσμα την αύξηση του αριθμού τους. Τα κύτταρα που προκύπτουν μετά από κάθε διαίρεση έχουν πρακτικά το ίδιο μέγεθος με το αρχικό κύτταρο (Εικόνα 7.1). Ο ρυθμός ανάπτυξης ενός πληθυσμού μικροοργανισμών, δηλαδή ο ρυθμός με τον οποίο διαιρούνται τα κύτταρά του, καθορίζεται από το **χρόνο διπλασιασμού** (Πίνακας 7.1). Κάθε είδος μικροοργανισμού έχει χαρακτηριστικό χρόνο διπλασιασμού.



1. DNA
2. Αντιγραφή DNA
3. Αύξηση κυττάρου
4. Σχηματισμός διαφράγματος
5. Διαχωρισμός κυττάρων

Εικόνα 7.1 Διαίρεση προκαρυωτικού κυττάρου.

ΠΙΝΑΚΑΣ 7.1: Χρόνος διπλασιασμού για διάφορα είδη μικροοργανισμών.

Είδος	Χρόνος διπλασιασμού σε ιδανικές συνθήκες
Escherichia coli	20 min
Mycobacterium tuberculosis	18 h
Amoeba proteus	24 h
Saccharomyces cerevisae	2 h

Οι παράγοντες που επηρεάζουν το χρόνο διπλασιασμού και κατά συνέπεια το ρυθμό ανάπτυξης των μικροοργανισμών είναι η διαθεσιμό-

τητα θρεπτικών συστατικών, το pH, το O_2 και η θερμοκρασία.

Όπως και όλοι οι υπόλοιποι οργανισμοί, για να αναπτυχθεί ένας μικροοργανισμός είναι απαραίτητο να μπορεί να προμηθεύεται από το περιβάλλον στο οποίο αναπτύσσεται μια σειρά **θρεπτικών συστατικών.** Σ' αυτά περιλαμβάνονται ο άνθρακας, το άζωτο, διάφορα μεταλλικά ιόντα και το νερό. Η πηγή άνθρακα για τους αυτότροφους μικροοργανισμούς είναι το CO_2 της ατμόσφαιρας, ενώ για τους ετερότροφους διάφορες οργανικές ενώσεις όπως οι υδατάνθρακες. Η πηγή αζώτου για τους περισσότερους μικροοργανισμούς είναι τα αμμωνιακά ή τα νιτρικά ιόντα (NO_3^-). Τέλος, τα μεταλλικά ιόντα είναι απαραίτητα για την πραγματοποίηση των χημικών

αντιδράσεων στο κύτταρο και ως συστατικά διαφόρων μορίων.

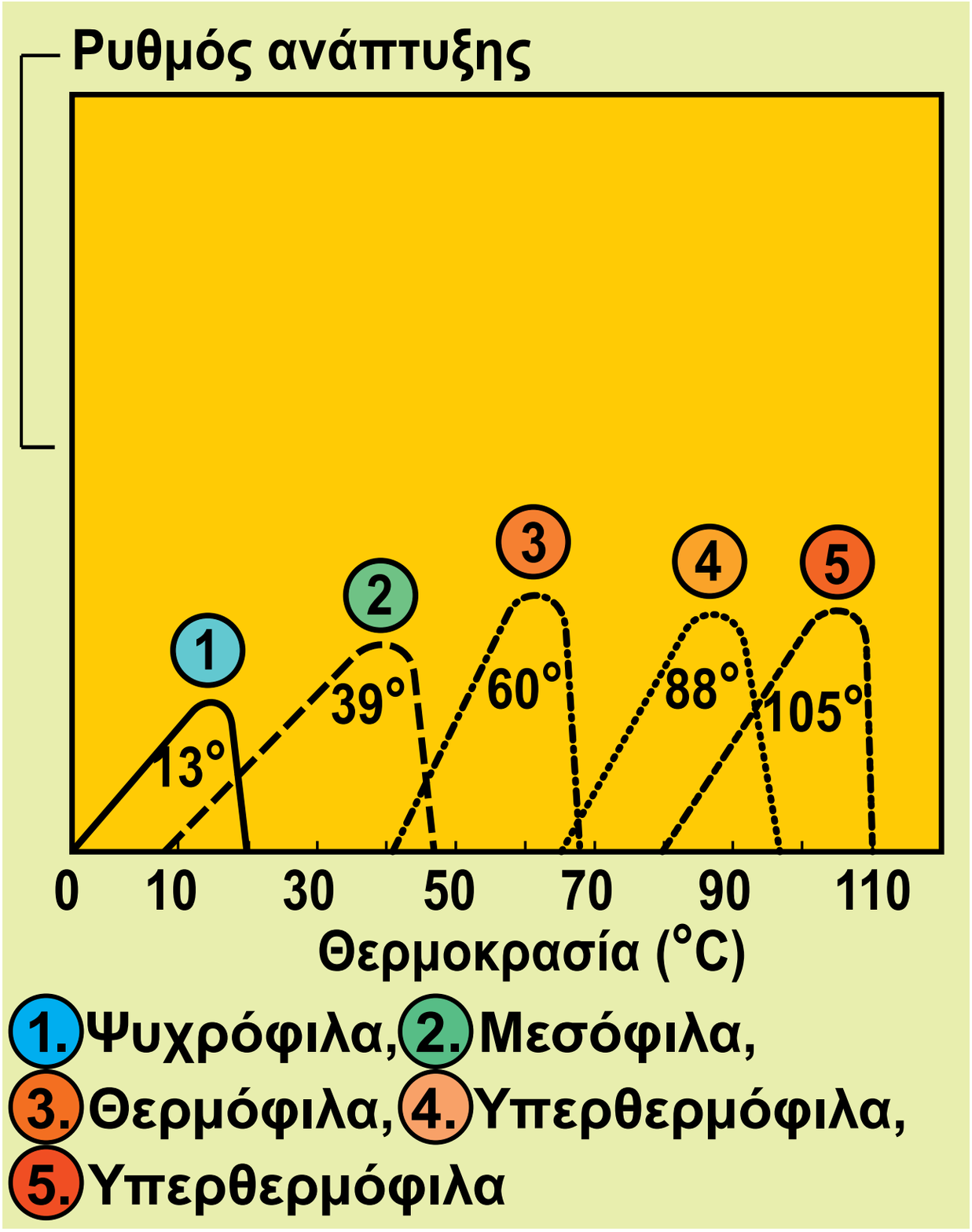
Το **pH** επηρεάζει σημαντικά την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Οι περισσότεροι αναπτύσσονται σε pH 6-9. Υπάρχουν όμως μικροοργανισμοί που αναπτύσσονται σε διαφορετικό pH, όπως είναι τα βακτήρια του γένους Lactobacillus, που αναπτύσσονται σε pH 4-5.

Η **παρουσία ή απουσία O_2** μπορεί να βοηθήσει ή να αναστείλει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Υπάρχουν μικροοργανισμοί που για την ανάπτυξή τους απαιτούν υψηλή συγκέντρωση O_2 (υποχρεωτικά αερόβιοι) όπως τα βακτήρια του γένους Mycobacterium. Άλλοι μικροοργανισμοί, όπως οι μύκητες που χρησιμοποιούνται στην αρτοβιομηχανία, ανήκουν στην κατηγορία των μικροοργανισμών

που αναπτύσσονται παρουσία O_2 με ταχύτερο ρυθμό απ' ό,τι απουσία O_2 (προαιρετικά αερόβιοι). Τέλος, υπάρχουν μικροοργανισμοί όπως βακτήρια του γένους Clostridium **για τους οποίους το O_2 είναι τοξικό (υποχρεωτικά αναερόβιοι).**

Η θερμοκρασία είναι ένας από τους πιο σημαντικούς παράγοντες που καθορίζουν το ρυθμό ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Οι περισσότεροι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται άριστα σε θερμοκρασία 20-45°C. Για παράδειγμα, η Escherichia coli, **που χρησιμοποιείται σε πειράματα Μοριακής Βιολογίας, αναπτύσσεται άριστα σε θερμοκρασία 37°C. Υπάρχουν όμως ορισμένοι που για την ανάπτυξή τους απαιτούν θερμοκρασία μεγαλύτερη από 45°C, όπως αυτοί που αναπτύσσονται κοντά σε θερμοπηγές,**

και άλλοι που αναπτύσσονται σε θερμοκρασία μικρότερη των 20°C (Εικόνα 7.2).



Εικόνα 7.2 Σχέση του ρυθμού ανάπτυξης μικροοργανισμών με τη θερμοκρασία. Αναφέρονται πέντε κατηγορίες μικροοργανισμών που αναπτύσσονται σε διαφορετικές θερμοκρασίες καθώς και η βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης για καθένα από αυτούς.

Ένα ένζυμο που του αρέσει η ζέστη

Ο Thermus aquaticus είναι ένα θερμόφιλο βακτήριο, το οποίο αναπτύσσεται κοντά σε θερμοπηγές όπου η θερμοκρασία πλησιάζει τους 80°C. Το βακτήριο αυτό χρησιμοποιείται για την παραγωγή μιας DNA πολυμεράσης (Taq πολυμεράση). Το ένζυμο αυτό είναι ενεργό μέχρι τους 95°C. Η ιδιότητά του αυτή το κάνει κατάλληλο για χρήση στην αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR), μιας από τις σύγχρονες τεχνικές της Μοριακής Βιολογίας.

Οι μικροοργανισμοί μπορούν να αναπτυχθούν στο εργαστήριο και σε βιομηχανική κλίμακα

Οι επιστήμονες είχαν ήδη αρχίσει από τα μέσα του δέκατου ένατου αιώνα τις προσπάθειες για την καλλιέργεια βακτηρίων και μυκήτων. Ο Louis Pasteur στο Παρίσι υπήρξε από τους πρωτοπόρους αυτής της προσπάθειας. Για το σκοπό αυτό ήταν απαραίτητη η απομόνωση αρχικά των διάφορων ειδών βακτηρίων ή μυκήτων, η παρασκευή κατάλληλων θρεπτικών υλικών και η διαμόρφωση κατάλληλων συνθηκών ανάπτυξης. Σήμερα οι μικροοργανισμοί οι οποίοι χρησιμοποιούνται για την παραγωγή χρήσιμων προϊόντων, όπως αντιβιοτικά ή ένζυμα, μπορούν να αναπτυχθούν στο

εργαστήριο και σε μεγάλη κλίμακα στις βιομηχανικές μονάδες κάτω από αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες καλλιέργειας. Για την ανάπτυξή τους χρησιμοποιούνται τεχνητά θρεπτικά υλικά. Αυτά πρέπει να περιέχουν πηγή άνθρακα, πηγή αζώτου και ιόντα. Στην περίπτωση αερόβιων μικροοργανισμών, είναι απαραίτητη η παρουσία οξυγόνου. **Τα θρεπτικά υλικά** που χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών στο εργαστήριο μπορεί να είναι υγρά ή στερεά. Τα υγρά θρεπτικά υλικά περιέχουν όλα τα θρεπτικά συστατικά που αναφέρθηκαν προηγουμένως διαλυμένα σε νερό. Τα στερεά θρεπτικά υλικά παρασκευάζονται με ανάμιξη του υγρού θρεπτικού υλικού με έναν πολυσακχαρίτη που προέρχεται από φύκη, το **άγαρ.** Το άγαρ είναι ρευστό σε

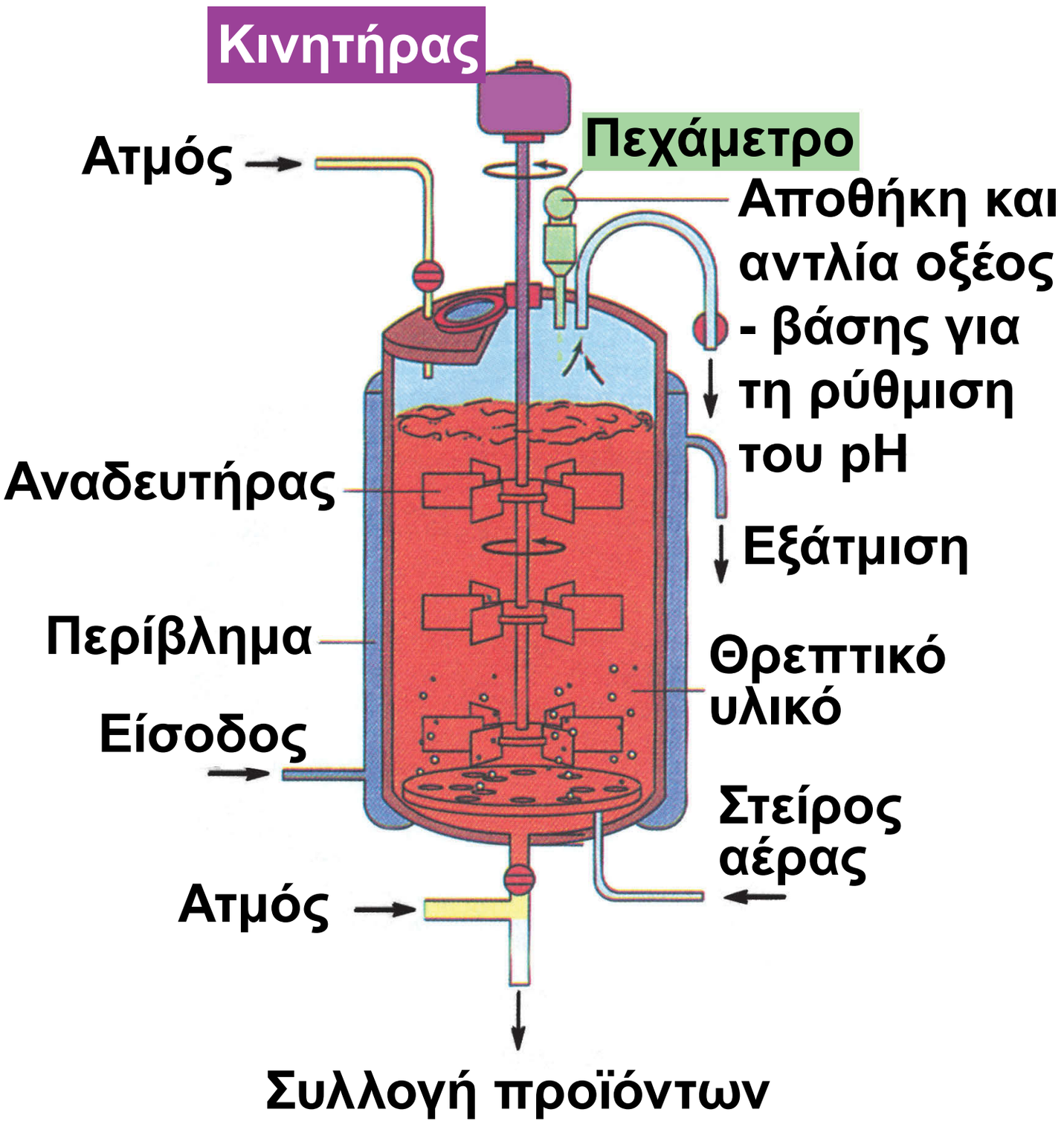
θερμοκρασίες πάνω από 45°C αλλά στερεοποιείται σε μικρότερες θερμοκρασίες. Μία καλλιέργεια ξεκινάει με την προσθήκη μικρής ποσότητας κυττάρων στο θρεπτικό υλικό, μια διαδικασία που ονομάζεται **εμβολιασμός.** Μετά τον εμβολιασμό οι μικροοργανισμοί παραμένουν σε έναν κλίβανο που εξασφαλίζει σταθερή θερμοκρασία κατάλληλη για την ανάπτυξή τους. Με αυτό τον τρόπο σε μικρό χρονικό διάστημα, 12-76 ωρών, παράγεται μεγάλος αριθμός μικροοργανισμών. Οι καλλιέργειες αυτές μπορούν να διατηρηθούν σε αδρανή μορφή στην κατάψυξη (-80°C) για αρκετά μεγάλο χρονικό διάστημα. Για την αποφυγή ανάπτυξης άλλων μικροοργανισμών, εκτός εκείνων που πρόκειται να καλλιεργηθούν, τα θρεπτικά

υλικά και οι συσκευές αποστειρώνονται πριν από την έναρξη της καλλιέργειας.

Όταν γίνεται καλλιέργεια μικροοργανισμών σε μεγάλη κλίμακα (βιομηχανική καλλιέργεια) χρησιμοποιούνται κατάλληλες συσκευές που ονομάζονται **ζυμωτήρες ή βιοαντιδραστήρες** (Εικόνα 7.3). Οι βιοαντιδραστήρες επιτρέπουν τον έλεγχο και τη ρύθμιση των συνθηκών (θερμοκρασία, pH, συγκέντρωση O_2) που αφορούν την καλλιέργεια. Στο θρεπτικό υλικό, που προστίθεται στους βιοαντιδραστήρες, χρησιμοποιούνται φθηνές πηγές άνθρακα όπως η μελάσα που αποτελεί παραπροϊόν της επεξεργασίας ζαχαροκάλαμου ή σακχαρότευτλων. Η καλλιέργεια στο βιοαντιδραστήρα ξεκινάει με τον εμβολιασμό από μια αρχική καλλιέργεια μικροοργανισμών που έχει γίνει στο εργαστήριο.

Μέσα στο βιοαντιδραστήρα οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται και πολλαπλασιάζονται χρησιμοποιώντας τα συστατικά του θρεπτικού υλικού. Όλες οι διεργασίες πρέπει να γίνονται κάτω από στείρες συνθήκες για να μην γίνει μόλυνση της καλλιέργειας. Ο ίδιος ο βιοαντιδραστήρας και το θρεπτικό υλικό αποστειρώνονται πριν από τη χρήση. Με τον όρο **ζύμωση** εννοούμε τη διαδικασία ανάπτυξης μικροοργανισμών σε υγρό θρεπτικό υλικό κάτω από οποιεσδήποτε συνθήκες. Ο όρος ζύμωση παλαιότερα χρησιμοποιείτο μόνο για αναερόβιες διεργασίες αλλά σήμερα χρησιμοποιείται με την ευρεία έννοια και περιλαμβάνει όλες τις διεργασίες, αερόβιες και αναερόβιες. Τα προϊόντα της ζύμωσης είναι είτε τα ίδια τα κύτταρα που ονομάζονται **βιομάζα** είτε προϊόντα των κυττάρων όπως πρωτεΐνες και αντιβιοτικά.

α


Κινητήρας
Πεχάμετρο
Ατμός
Αποθήκη και αντλία οξέος - βάσης για τη ρύθμιση του pH
Αναδευτήρας
Εξάτμιση
Περίβλημα
Θρεπτικό υλικό
Είσοδος
Στείρος αέρας
Ατμός
Συλλογή προϊόντων

β



Εικόνα 7.3 α. Διαγραμματική απεικόνιση βιοαντιδραστήρα, όπου φαίνονται τα διάφορα τμήματά του, καθώς και οι συσκευές ελέγχου των συνθηκών ζύμωσης β. Φωτογραφία βιοαντιδραστήρα.

Η Βιοτεχνολογία με αριθμούς

Καλλιέργεια Escherichia coli σε υγρό θρεπτικό υλικό για 12 ώρες στους 37°C παράγει περίπου 10^9 βακτήρια ανά ml καλλιέργειας.

Οι μικροοργανισμοί μπορούν να καλλιεργηθούν με διαφορετικούς τρόπους

Υπάρχουν διάφοροι τύποι ζυμώσεων, οι οποίοι μπορούν να εφαρμοστούν ανάλογα με το επιθυμητό προϊόν. Δύο ευρέως χρησιμοποιούμενοι τύποι είναι η κλειστή και η συνεχής καλλιέργεια.

Κλειστή καλλιέργεια: Σ' αυτό τον τύπο ζύμωσης τοποθετείται στο βιοαντιδραστήρα ορισμένη ποσότητα αποστειρωμένου θρεπτικού υλικού, η οποία εμβολιάζεται με αρ-

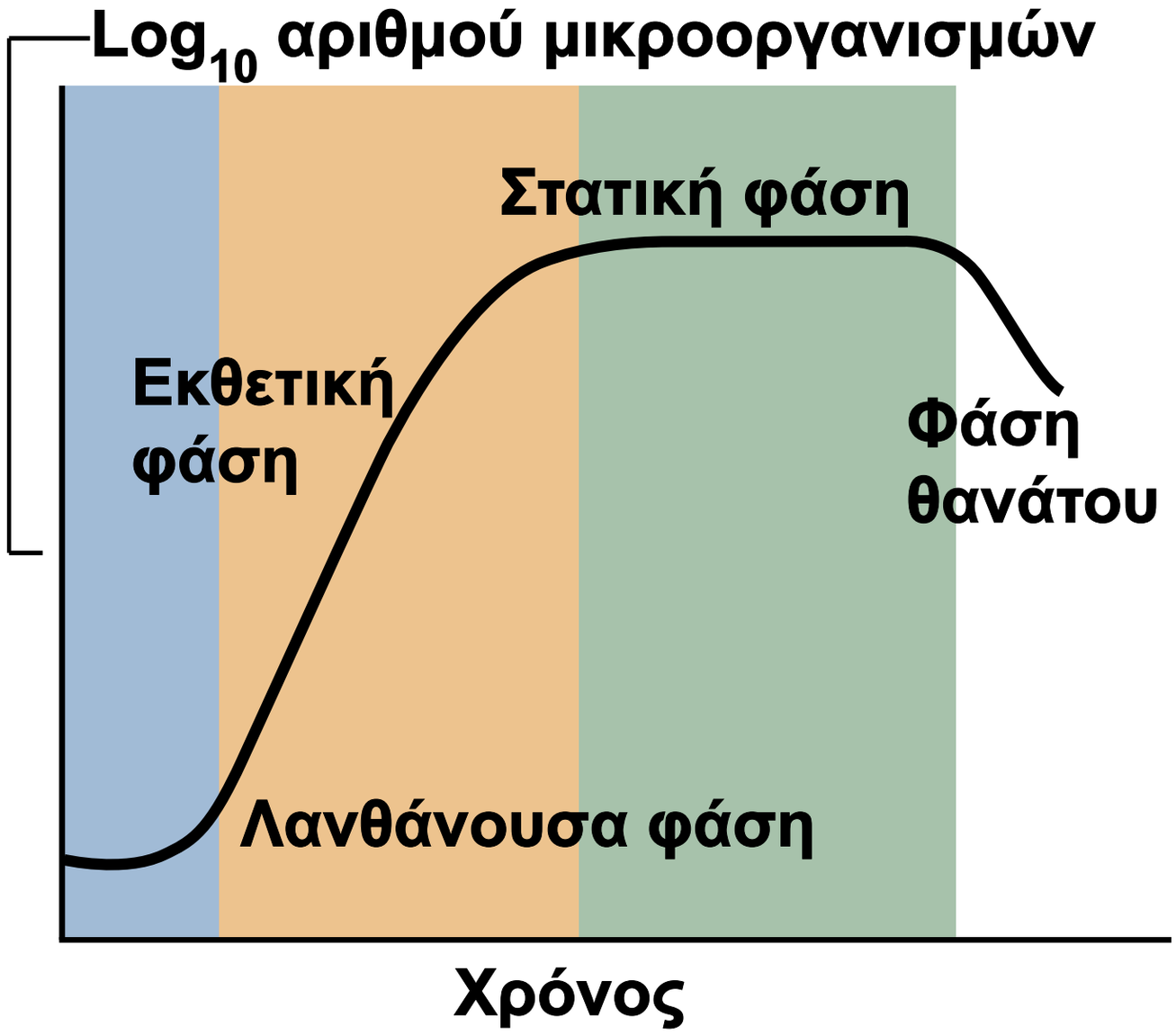
χική καλλιέργεια μικροοργανισμών. Η καλλιέργεια συνεχίζεται μέχρι την παραγωγή του επιθυμητού προϊόντος. Στην κλειστή καλλιέργεια οι φάσεις ανάπτυξης των μικροοργανισμών είναι η λανθάνουσα, η εκθετική, η στατική και η φάση θανάτου (Εικόνα 7.4).

Κατά τη **λανθάνουσα φάση** ο πληθυσμός των μικροοργανισμών που προέρχεται από την αρχική καλλιέργεια παραμένει σχεδόν σταθερός. Αυτό οφείλεται στο ότι οι μικροοργανισμοί χρειάζονται κάποιο χρονικό διάστημα για να προσαρμοστούν στις καινούργιες συνθήκες και να αρχίσουν να αναπτύσσονται. Στη συνέχεια, οι μικροοργανισμοί διαιρούνται με ταχύ ρυθμό, επειδή η καλλιέργεια πραγματοποιείται κάτω από άριστες συνθήκες θερμοκρασίας,

pH, συγκέντρωσης O_2 και στο υλικό καλλιέργειας υπάρχουν άφθονα θρεπτικά συστατικά. Αυτή η φάση ανάπτυξης ονομάζεται **εκθετική**, επειδή ο αριθμός των μικροοργανισμών αυξάνεται εκθετικά. Ακολουθεί η **στατική φάση**, κατά την οποία ο πληθυσμός των βακτηρίων δεν αυξάνεται, λόγω εξάντλησης κάποιου θρεπτικού συστατικού ή λόγω συσσώρευσης τοξικών προϊόντων από το μεταβολισμό των μικροοργανισμών. Τέλος κατά τη **φάση θανάτου** ο αριθμός των μικροοργανισμών μειώνεται. Παρ' ότι η διαδοχή των φάσεων ανάπτυξης σε κάθε κλειστή καλλιέργεια είναι συγκεκριμένη, η διάρκεια κάθε φάσης διαφέρει ανάλογα με το είδος των μικροοργανισμών. Οι μικροοργανισμοί παράγουν χρήσιμα προϊόντα συνήθως κατά

τη διάρκεια της εκθετικής και της στατικής φάσης ανάπτυξής τους.

Συνεχής καλλιέργεια: Σ' αυτό τον τύπο καλλιέργειας οι μικροοργανισμοί τροφοδοτούνται συνεχώς με θρεπτικά συστατικά. Ταυτόχρονα, απομακρύνονται από την καλλιέργεια κύτταρα και άχρηστα προϊόντα.



Εικόνα 7.4 Καμπύλη ανάπτυξης μικροοργανισμού σε κλειστή καλλιέργεια.

Η παραλαβή των προϊόντων ζύμωσης απαιτεί τη χρησιμοποίηση σειράς τεχνικών καθαρισμού

Τελική κατεργασία είναι η διεργασία καθαρισμού του προϊόντος που παραλαμβάνεται από το βιοαντιδραστήρα. Αρχικά, γίνεται διαχωρισμός των υγρών από τα στερεά συστατικά, στα οποία συμπεριλαμβάνονται και τα κύτταρα. Αυτό γίνεται συνήθως με διήθηση ή με φυγοκέντρηση. Το επιθυμητό προϊόν μπορεί να περιλαμβάνεται στα στερεά ή υγρά συστατικά, από όπου παραλαμβάνεται με τη χρήση κατάλληλων μεθόδων.

Τα προϊόντα της ζύμωσης μπορούν να αξιοποιηθούν μόνο όταν είναι απόλυτα καθαρά, δηλαδή όταν δεν έχουν προσμείξεις (Εικόνα 7.5).

Επιλογή μικροοργανισμού

Έλεγχος

Επιλογή κατάλληλου μικροοργανισμού

⇩

Τροποποίηση μικροοργανισμού

με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής

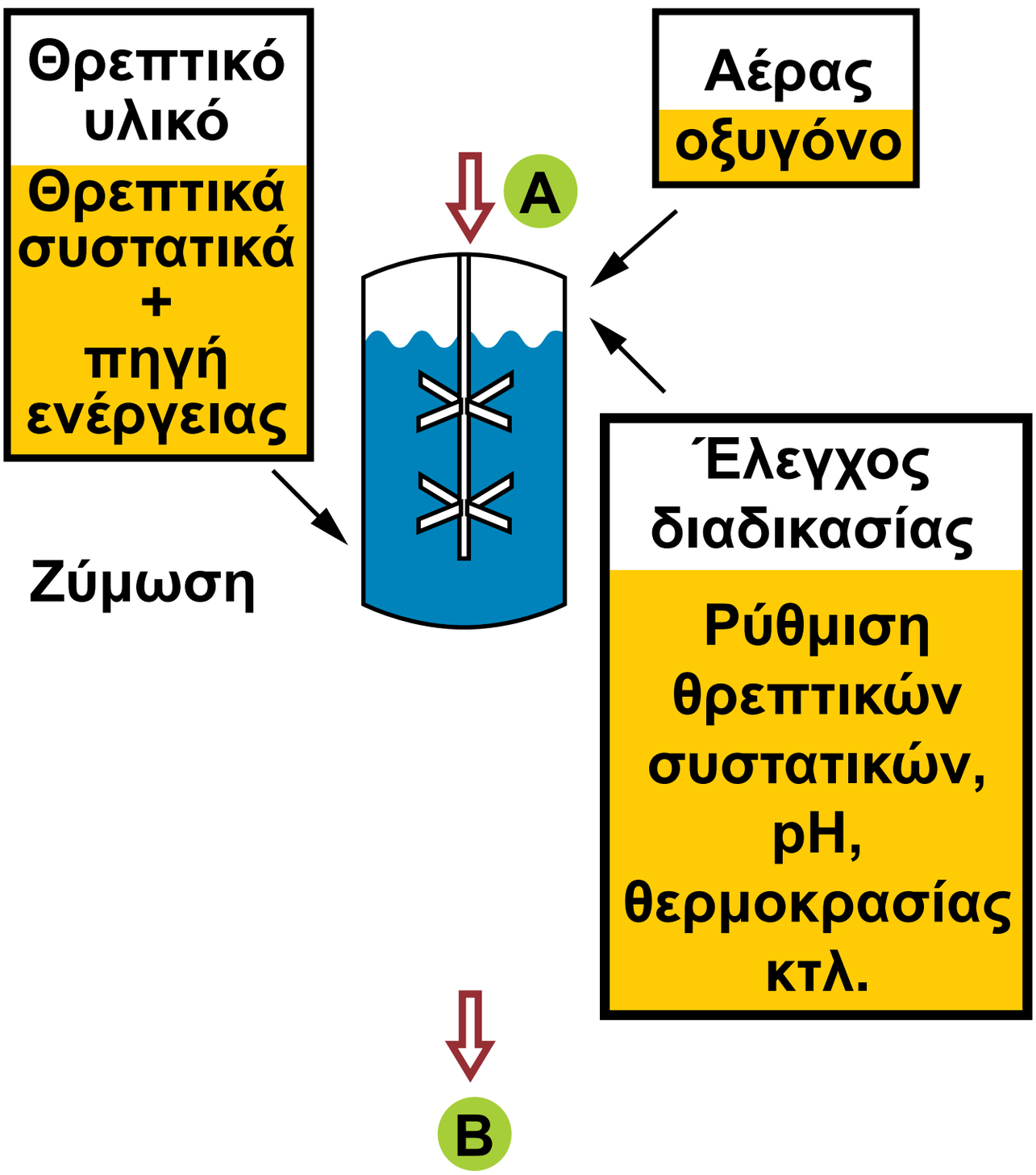
⇩

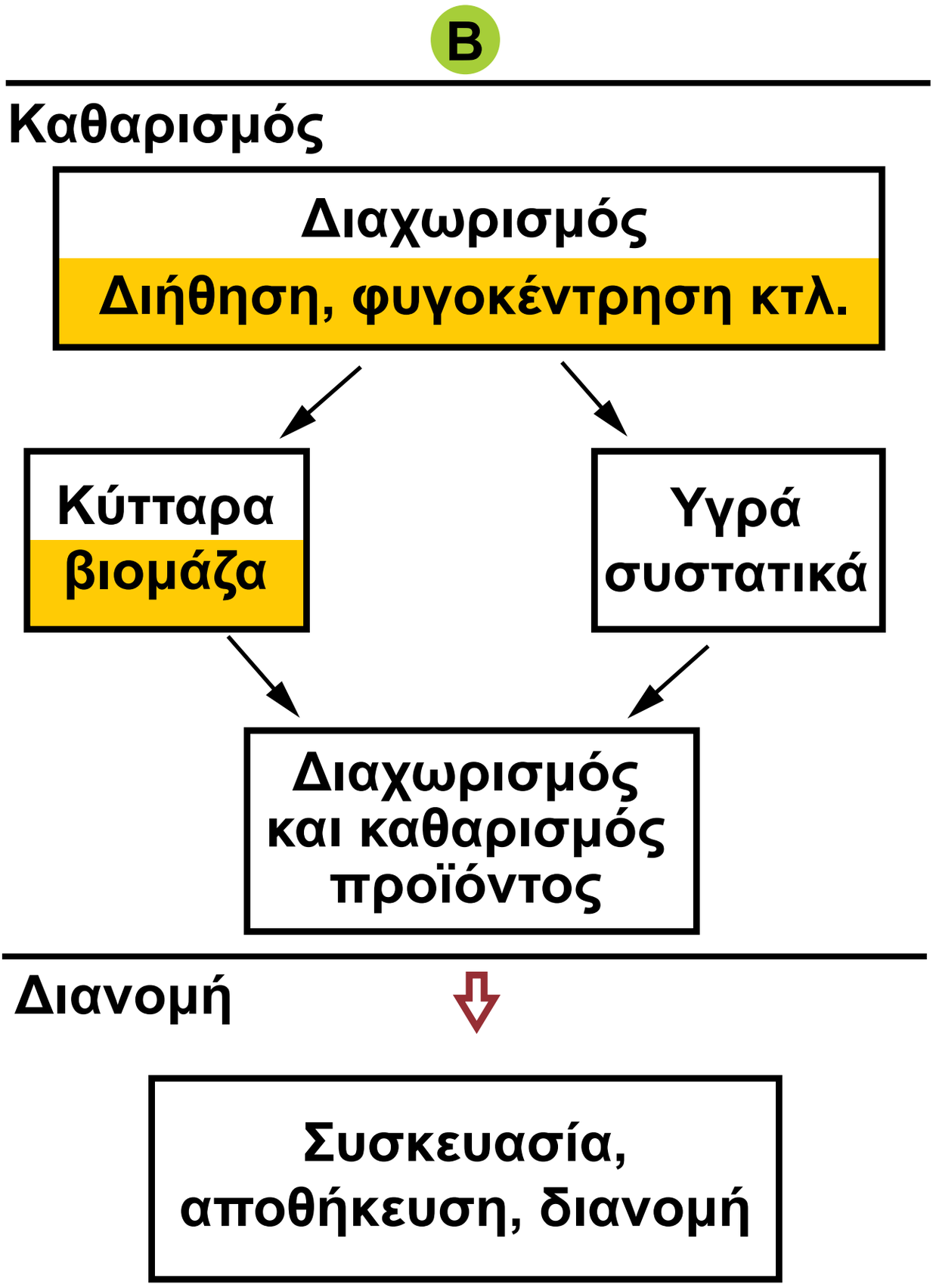
Καλλιέργεια στο εργαστήριο

⇩

Δοκιμαστική καλλιέργεια μεσαίας κλίμακας

⇩ A


Θρεπτικό υλικό
Θρεπτικά συστατικά + πηγή ενέργειας
Αέρας
οξυγόνο
A
Ζύμωση
Έλεγχος διαδικασίας
Ρύθμιση θρεπτικών συστατικών, pH, θερμοκρασίας κτλ.
B



Εικόνα 7.5 Στάδια παραγωγής προϊόντων με τη χρήση μικροοργανισμών.

Η παραγωγή της πενικιλίνης αποτελεί σημαντικό σταθμό στην πορεία της Βιοτεχνολογίας

Η ανακάλυψη της πενικιλίνης το 1928 από το Fleming είναι το σημείο αφετηρίας για την αντιμετώπιση μιας σειράς ασθενειών με τη χρήση αντιβιοτικών. Η πενικιλίνη, που άρχισε να χρησιμοποιείται σε ευρεία κλίμακα κατά τη διάρκεια του 2ου Παγκόσμιου Πολέμου, έχει σώσει εκατομμύρια ζωές προσφέροντας προστασία από σοβαρές ασθένειες όπως οι πνευμονικές λοιμώξεις, η βλεννόρροια και η σύφιλη. Η παραγωγή της πενικιλίνης αποτελεί την πρώτη εφαρμογή μεθόδων Βιοτεχνολογίας με χρησιμοποίηση των μικροοργανισμών για παραγωγή και άλλων προϊόντων εκτός από τρόφιμα και ποτά.

Η πενικιλίνη είναι προϊόν μυκήτων του γένους Penicillium. **Η παραγωγή της εξαρτάται από το στέλεχος του μύκητα που χρησιμοποιείται, από το θρεπτικό υλικό στο οποίο αναπτύσσεται και από τις συνθήκες καλλιέργειας. Στελέχη τα οποία έχουν επιλεγεί για την υψηλή απόδοσή τους καλλιεργούνται αρχικά στο εργαστήριο σε στερεό θρεπτικό υλικό. Στη συνέχεια, τα στελέχη αυτά χρησιμοποιούνται ως αρχική καλλιέργεια για ανάπτυξη σε βιοαντιδραστήρες. Το θρεπτικό υλικό περιέχει, εκτός των άλλων, και γλυκόζη ως πηγή άνθρακα. Στα αρχικά στάδια της καλλιέργειας (λανθάνουσα και εκθετική φάση), που διαρκούν 30-40 ώρες αυξάνεται η βιομάζα του μύκητα. Στη συνέχεια, προστίθεται γλυκόζη σε χαμηλή συγκέντρωση, σταματάει η ανάπτυξη**

του μύκητα (στατική φάση) και αρχίζει η παραγωγή της πενικιλίνης. Η καλλιέργεια διαρκεί έως και 15 ημέρες. Για την παραλαβή πενικιλίνης σε καθαρή μορφή χρησιμοποιούνται φυσικές και χημικές μέθοδοι.

Περίληψη

Η Βιοτεχνολογία αποτελεί συνδυασμό επιστήμης και τεχνολογίας με στόχο τη χρησιμοποίηση των ζωντανών οργανισμών για την παραγωγή σε ευρεία κλίμακα χρήσιμων προϊόντων. Στηρίζεται κυρίως σε τεχνικές ανασυνδυασμένου DNA και καλλιέργειας μικροοργανισμών. Οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες κατά τις οποίες υπάρχει μια σειρά κατάλληλων

θρεπτικών συστατικών. Σε μια καλλιέργεια μεγάλης κλίμακας (βιομηχανική καλλιέργεια) χρησιμοποιούνται κατάλληλες συσκευές, που ονομάζονται βιοαντιδραστήρες.

Ζύμωση είναι η διαδικασία ανάπτυξης μικροοργανισμών σε υγρό θρεπτικό υλικό κάτω από κατάλληλες συνθήκες. Τα προϊόντα της ζύμωσης είναι τα ίδια τα κύτταρα (βιομάζα) ή μερικά χρήσιμα προϊόντα τους όπως πρωτεΐνες και αντιβιοτικά. Τα προϊόντα λαμβάνονται ύστερα από τελική κατεργασία, δηλαδή από μια διεργασία καθαρισμού τους με βιοχημικές, κυρίως, τεχνικές.

Ταξίδι στο χρόνο

1957 Κατά τη διάρκεια μιας επιδημίας δυσεντερίας στην Ιαπωνία ανακαλύπτονται βακτήρια τα οποία παρουσιάζουν ανθεκτικότητα σε μια σειρά αντιβιοτικών. Λίγο αργότερα αποκαλύπτεται ότι η ανθεκτικότητα αυτή οφείλεται σε γονίδια που υπάρχουν στα πλασμίδια.

1970 Απομονώνεται η περιοριστική ένδονουκλεάση του DNA, EcoRI, δηλαδή ένα ένζυμο που υδρολύει (κόβει) το DNA σε συγκεκριμένα σημεία της νουκλεοτιδικής του αλληλουχίας.

1975 Η τεχνολογία των μονοκλωνικών αντισωμάτων κάνει

την εμφάνισή της.

1976 Δημιουργείται στο San Fransisco της California η πρώτη ιδιωτική εταιρεία παραγωγής προϊόντων με χρήση τεχνικών ανασυνδυασμένου DNA.

1978 Επιτυγχάνεται η παραγωγή από βακτήρια ανασυνδυασμένης ανθρώπινης σωματοστατίνης, μιας πρωτεΐνης που ρυθμίζει τη δράση των αυξητικών ορμονών.

1980 Ψηφίζεται στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής νόμος ο οποίος επιτρέπει τη μεταφορά τεχνογνωσίας και τεχνολογίας από πανεπιστημιακά και ερευνητικά ιδρύματα σε εμπορικές εταιρείες.

1982 Δίνεται άδεια χρήσης ανασυνδυασμένης ανθρώπινης ινσουλίνης ως φάρμακου για διαβητικούς. Τον ίδιο χρόνο, το πρώτο γενετικά τροποποιημένο φυτό (μια ποικιλία καπνού) απελευθερώνεται στο φυσικό περιβάλλον.

1989 Ξεκινά το Πρόγραμμα Χαρτογράφησης του Ανθρώπινου Γονιδιώματος (HUGO, Human Genome Organization).

1990 Εφαρμόζεται πειραματικά η γονιδιακή θεραπεία σε ένα τετράχρονο κοριτσάκι το οποίο πάσχει από έλλειψη του γονιδίου της απαμινάσης της αδενοσίνης (ADA).

1995 Ολοκληρώνεται η αποκρυπτογράφηση της αλληλουχίας γονιδιώματος ενός βακτηρίου (Haemophilus influenzae).

1996 Ολοκληρώνεται η αποκρυπτογράφηση της αλληλουχίας του πρώτου ευκαρυωτικού γονιδιώματος (Saccharomyces cerevisae).

1997 Το Ινστιτούτο Roselin της Σκωτίας ανακοινώνει την κλωνοποίηση της προβατίνας Dolly.

1998 Ολοκληρώνεται η αποκρυπτογράφηση της αλληλουχίας του πρώτου γονιδιώματος πολυκύτταρου οργανισμού (Caenorhabditis elegans).

Ερωτήσεις

1. Συμπληρώστε με τις κατάλληλες λέξεις τα κενά:

   Οι παράγοντες που επηρεάζουν το χρόνο διπλασιασμού είναι η διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών, το ....., το ..... και η .... Σε μια μεγάλης κλίμακας καλλιέργεια μικροοργανισμών χρησιμοποιούνται κατάλληλες συσκευές, οι .... Προϊόντα της ζύμωσης είναι η ..... ή τα .... Κατά τη λανθάνουσα φάση ο πληθυσμός των μικροοργανισμών παραμένει ..... Η φάση κατά την οποία ο αριθμός των μικροοργανισμών αυξάνεται

με ταχύ ρυθμό ονομάζεται .....

2. Για την παραλαβή ενός προϊόντος που εκκρίνεται από κύτταρα στρεπτομύκητα ακολουθούνται τα παρακάτω στάδια.

   Διαγράψτε εκείνα που δεν ισχύουν:

   α. Διαχωρισμός και παραλαβή των κυττάρων του μύκητα,

   β. Διαχωρισμός των υγρών από τα στερεά συστατικά,

   γ. Παραλαβή των υγρών συστατικών,

   δ. Παραλαβή των στερεών συστατικών,

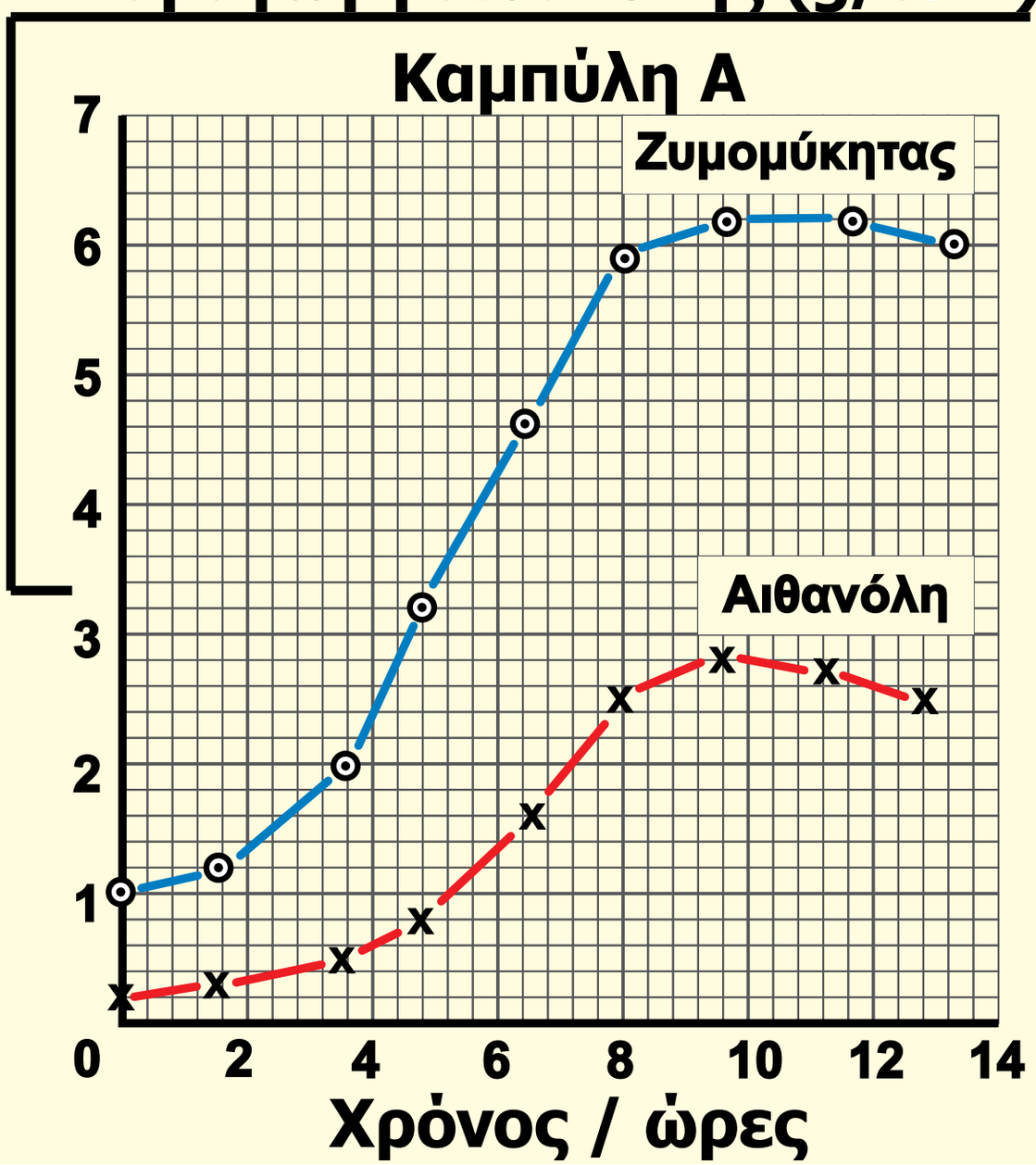
   ε. Καθαρισμός του επιθυμητού προϊόντος.

3. Στις παρακάτω γραφικές παραστάσεις απεικονίζεται η ανάπτυξη δύο μικροοργανισμών, του **Saccharomyces** και του **Penicillium**, και η παραγωγή προϊόντων τους, όταν αυτοί καλλιεργηθούν σε βιοαντιδραστήρες. Η καμπύλη Α αφορά την ανάπτυξη του ζυμομύκητα **Saccharomyces** και την παραγωγή αιθανόλης, ενώ η καμπύλη Β την ανάπτυξη του μύκητα **Penicillium** και την παραγωγή πενικιλίνης,

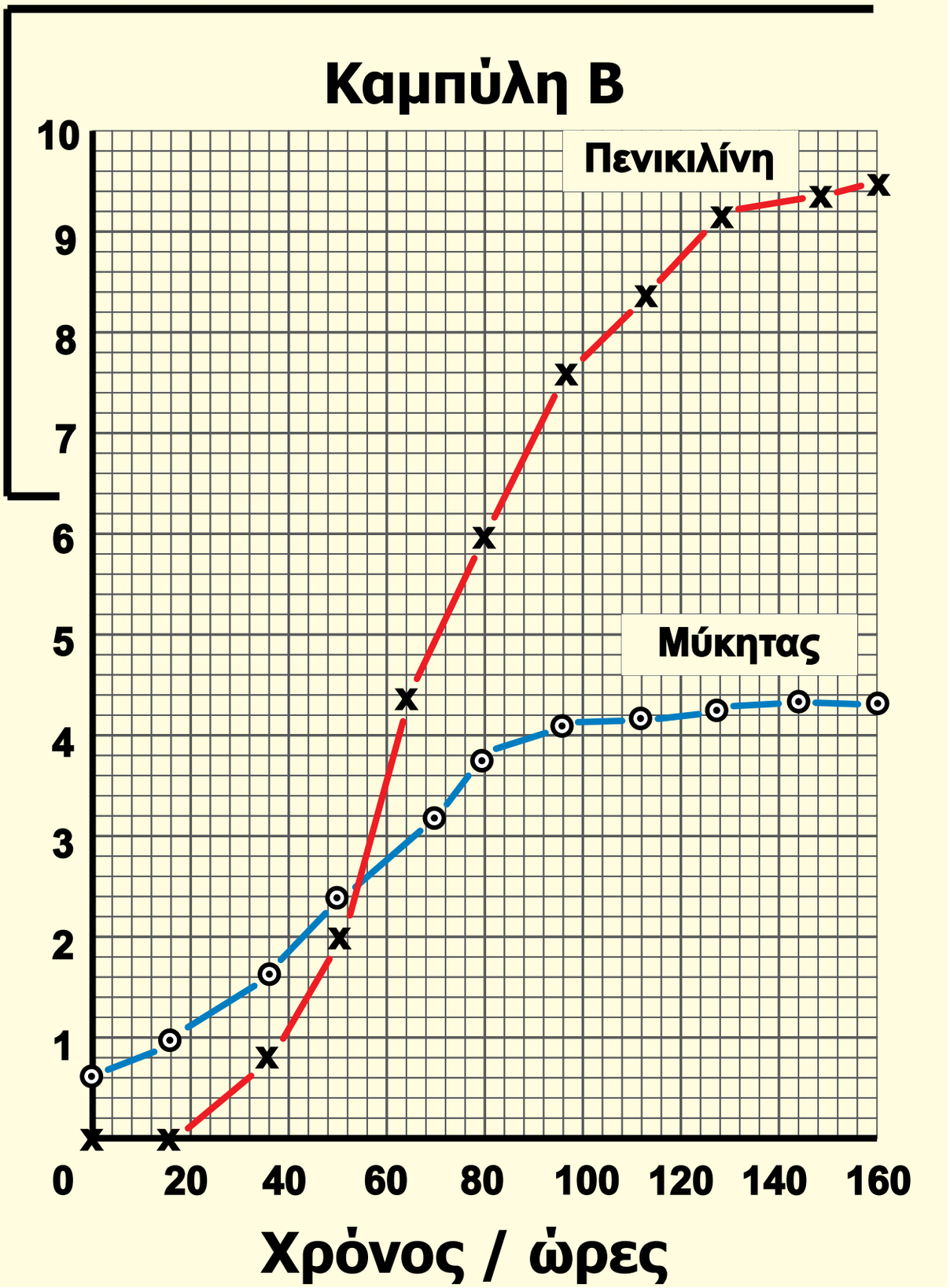
α. Εξηγήστε τις αλλαγές στην ανάπτυξη του **Saccharomyces** για τα διαστήματα 0-2, 2-6, 8-10 και 12-14 ώρες.

β. Εντοπίστε τις φάσεις ανάπτυξης του μύκητα **Saccharomyces** σε σχέση με την παραγωγή αιθανόλης.

γ. Εντοπίστε τις φάσεις ανάπτυξης του μύκητα **Penicillium** σε σχέση με την παραγωγή πενικιλίνης.



Βιομάζα μύκητα (g/kg θρεπτικού υλικού)
Παραγωγή αιθανόλης (I.U./ml)



4. Ποιες είναι οι συνθήκες που πρέπει να ελέγχονται για την ανάπτυξη μικροοργανισμών σε βιοαντιδραστήρες; Για ποιο λόγο είναι απαραίτητη η διασφάλιση συνθηκών ασηψίας;

5. Στον πίνακα Α υπάρχουν τα αποτελέσματα μετρήσεων του αριθμού βακτηρίων από καλλιέργεια μικροοργανισμών σε υγρό θρεπτικό υλικό στους 30°C. Χρησιμοποιώντας τα δεδομένα αυτά κατασκευάστε την καμπύλη μεταβολής του αριθμού των βακτηρίων σε συνάρτηση με το χρόνο. Εξηγήστε τους παράγοντες που επηρεάζουν το σχήμα της καμπύλης.

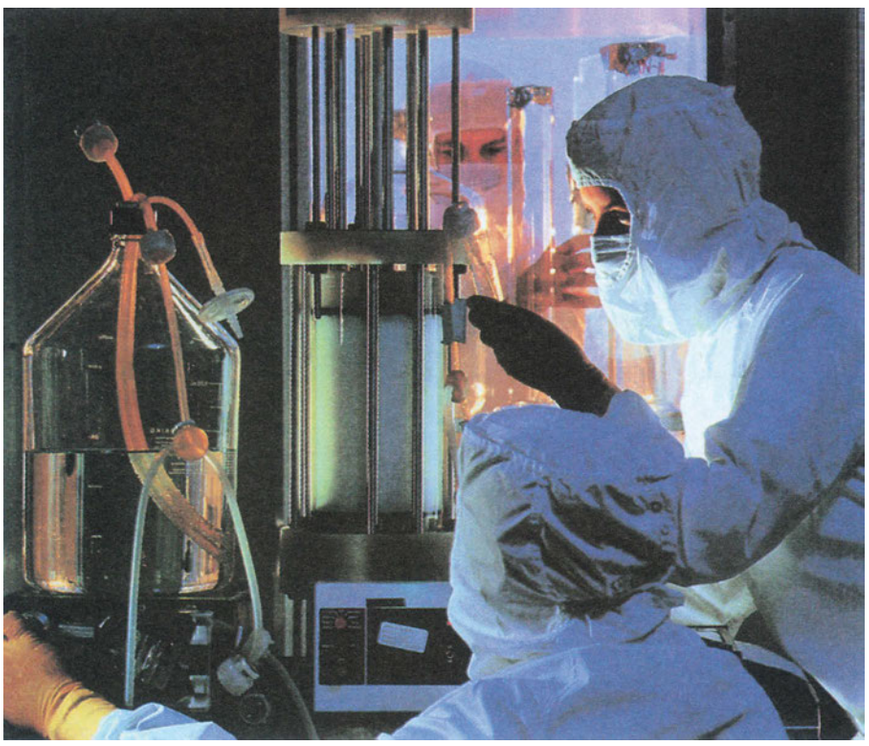
Πίνακας Α

Χρόνος (ώρες)	Αριθμός βακτηρίων σε εκατομμύρια
0	9
1	10
2	11
5	18
10	400
12	550
15	550
20	550
30	550
35	225
40	30

Εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας στην Ιατρική

κεφάλαιο

8



Καθαρισμός μονοκλωνικών αντισωμάτων

8. Εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας στην Ιατρική

Η Βιοτεχνολογία έχει συμβάλει αποτελεσματικά σε τρεις βασικούς στόχους της Ιατρικής, που είναι η έγκαιρη διάγνωση μιας ασθένειας, η πρόληψη και η αποτελεσματική θεραπεία της.

Η έγκαιρη διάγνωση μιας ασθένειας απαιτεί την ανάπτυξη ευαίσθητων τεχνικών που μπορούν να εντοπίσουν την ασθένεια στα αρχικά της στάδια, πριν να εμφανιστούν τα συμπτώματά της στον οργανισμό, να ανιχνεύσουν κάποια μόλυνση από παθογόνους οργανισμούς ή να διαπιστώσουν την ύπαρξη κάποιας κληρονομικής ασθένειας.

Η πρόληψη σοβαρών ασθενειών όπως η ηπατίτιδα Β, η πολιομυε-

λίτιδα και η φυματίωση χρειάζεται πιο εξελιγμένα, επαρκώς ασφαλή αλλά και οικονομικά προσιτά εμβόλια. Επίσης η ανάπτυξη εμβολίων για την πρόληψη ασθενειών όπως το AIDS, η μηνιγγίτιδα και ο καρκίνος είναι πλέον επιτακτική ανάγκη.

Η **αποτελεσματική θεραπεία** προϋποθέτει την κατανόηση των βιοχημικών μηχανισμών και του γενετικού υπόβαθρου της ασθένειας, για να εφαρμοστεί η κατάλληλη θεραπεία είτε με φαρμακευτική αγωγή είτε ακόμη και με «γενετική διόρθωση» της βλάβης.

Η Βιοτεχνολογία συνεισφέρει ουσιαστικά στους παραπάνω στόχους με την ανάπτυξη της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA, με τη χρήση της τεχνικής PCR, καθώς και ανιχνευτών μορίων DNA. Οι

τεχνικές αυτές βρίσκουν εφαρμογή στη βελτίωση και παραγωγή σε ευρεία κλίμακα ευαίσθητων διαγνωστικών ουσιών όπως τα μονοκλωνικά αντισώματα, αποτελεσματικών εμβολίων και φαρμακευτικών προϊόντων. Πρόσφατα, ένας νέος τομέας της Βιοτεχνολογίας αναπτύσσεται ταχύτατα, η γονιδιακή θεραπεία, που στηρίζεται στην εφαρμογή της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA στη θεραπεία πολλών σοβαρών γενετικών ασθενειών όπως η κυστική ίνωση, το σύνδρομο επίκτητης ανοσολογικής ανεπάρκειας (AIDS) και διάφοροι τύποι καρκίνου.

Η Βιοτεχνολογία με αριθμούς

Η ετήσια αγορά των ανασυνδυασμένων φαρμακευτικών προϊόντων έφτανε στα τέλη του 1997 τα 150.000.000.000 δολάρια.

Πλήθος «φαρμακευτικών» πρωτεϊνών συντίθενται από βακτήρια με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής

Πριν από την ανάπτυξη της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA, οι περισσότερες **φαρμακευτικές πρωτεΐνες,** δηλαδή πρωτεΐνες που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία διάφορων ασθενειών, ήταν διαθέσιμες σε πολύ μικρές ποσότητες, η παραγωγή τους ήταν πολύ ακριβή και συχνά η βιολογική δράση τους δεν ήταν πλήρως κατανοητή. Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA

έδωσε τη δυνατότητα παραγωγής φαρμακευτικών πρωτεϊνών σε σημαντικές ποσότητες, τόσο για τον αποτελεσματικό έλεγχο της δράσης τους όσο και για ευρεία κατανάλωση. Σήμερα έχουν κλωνοποιηθεί τα γονίδια του ανθρώπου για περισσότερες από 300 φαρμακευτικές πρωτεΐνες. Στον πίνακα 8.1 αναγράφονται ορισμένες φαρμακευτικές πρωτεΐνες που έχουν παραχθεί με την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA και η χρήση τους.

Μεταξύ των πρώτων μορίων που παρασκευάστηκαν είναι η ινσουλίνη, οι ιντερφερόνες και η αυξητική ορμόνη.

Η **ινσουλίνη** είναι μια ορμόνη που αποτελείται από 51 αμινοξέα και παράγεται από ειδικά κύτταρα του παγκρέατος. Η ορμόνη αυτή ρυθμίζει το μεταβολισμό των υδατανθράκων και

ειδικότερα το ποσοστό της γλυκόζης στο αίμα. Ο διαβήτης είναι μια ασθένεια που χαρακτηρίζεται από έλλειψη ή μείωση ινσουλίνης και υπολογίζεται ότι πάνω από 60.000.000 άτομα στον κόσμο πάσχουν από διαβήτη.

Η ινσουλίνη χρησιμοποιείται για τη θεραπεία των διαβητικών ατόμων. Πριν από το 1982 οι κύριες πηγές ινσουλίνης ήταν το πάγκρεας από χοίρους και από βοοειδή. Η ινσουλίνη παραγόταν από την εκχύλιση αυτών των ιστών με μια δαπανηρή και πολύπλοκη διαδικασία και επιπλέον, επειδή είχε μικρές διαφορές στη σύσταση των αμινοξέων της από την ανθρώπινη, προκαλούσε αλλεργικές αντιδράσεις.

ΠΙΝΑΚΑΣ 8.1: Φαρμακευτικές πρωτεΐνες που έχουν παραχθεί με την τεχνολογία του ανασυνδιασμένου DNA

Πρωτεΐνη	Χρήση
α_1-αντιθρυψίνη	Θεραπεία εμφυσήματος
Καλσιτονίνη	Θεραπεία της οστεοπόρωσης
Χοριονική γοναδοτροπίνη	Θεραπεία στειρότητας σε γυναίκες
Ενδορφίνες και εγκεφαλίνες	Αναλγητικοί παράγοντες
Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας	Θεραπεία τραυμάτων

Ερυθροποιητίνη	Θεραπεία αναιμίας
Παράγοντας VIII	Θεραπεία αιμορροφιλίας Α
Παράγοντας IX	Θεραπεία αιμορροφιλίας Β
Αυξητική ορμόνη	Θεραπεία αχονδροπλασίας
Ινσουλίνη	Θεραπεία του διαβήτη
Ιντερφερόνες (α,β,γ)	Αντιιικοί και αντικαρκινικοί παράγοντες
Ιντερλευκίνες	Θεραπεία καρκίνου και ασθενειών του ανοσοποιητικού συστήματος
Ενεργοποιητής πλασμινογόνου ιστών (tPA)	Θρομβολυτικός παράγοντας
Παράγοντας νέκρωσης όγκων	Αντικαρκινικός παράγοντας

Η ινσουλίνη αποτελείται από δύο μικρά πεπτίδια, Α και Β, που συγκρατούνται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς. Το γονίδιο της ινσουλίνης παράγει ένα πρόδρομο μόριο, την προϊνσουλίνη, το οποίο μετατρέπεται τελικά σε ινσουλίνη.

Μια από τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή της ανθρώπινης ινσουλίνης στα βακτήρια είναι η παραγωγή του πρόδρομου μορίου της σε μια βακτηριακή καλλιέργεια και η μετατροπή της σε ινσουλίνη με ενζυμική κατεργασία (Εικ. 8.1).

Η μέθοδος περιλαμβάνει την κατασκευή cDNA βιβλιοθήκης από τα κύτταρα του παγκρέατος στα οποία εκφράζεται το γονίδιο της ινσουλίνης και την επιλογή του κλώνου που περιέχει το γονίδιο. Συνοπτικά τα στάδια κλωνοποίησης και απομόνωσης του γονιδίου της ινσουλί-

νης είναι:

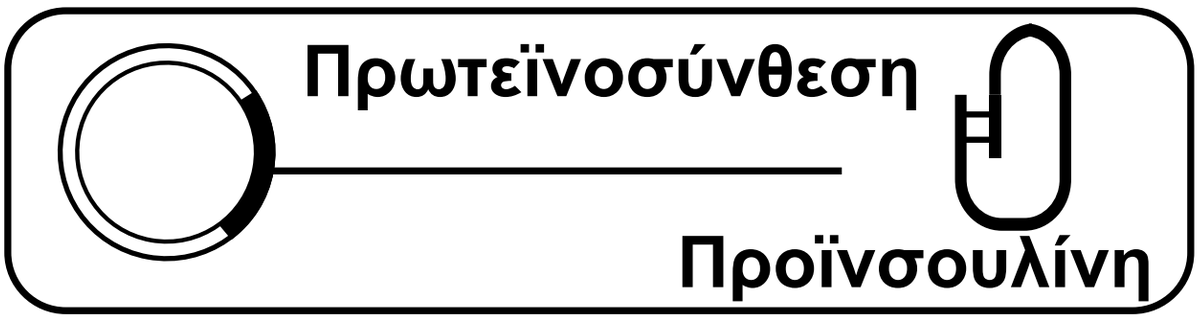
- Απομόνωση του συνολικού mRNA, από κύτταρα του ανθρώπινου παγκρέατος.
- Κατασκευή δίκλωνων μορίων DNA και ενσωμάτωσή τους σε πλασμίδια.
- Μετασχηματισμός βακτηρίων με τα ανασυνδυασμένα πλασμίδια και πολλαπλασιασμός τους σε υγρό θρεπτικό υλικό.
- Επιλογή των βακτηρίων που περιέχουν το γονίδιο το οποίο κωδικοποιεί το πρόδρομο μόριο της ινσουλίνης.
- Ανάπτυξη των βακτηρίων αυτών σε βιοαντιδραστήρα για παραγωγή του πρόδρομου μορίου της ινσουλίνης. Η προϊνσουλίνη συλλέγεται και με κατάλληλο ένζυμο, που αφαιρεί το ενδιάμεσο πεπτίδιο, μετατρέπεται σε ινσουλίνη.

Δημιουργία ανασυνδυασμένου DNA που περιέχει το γονίδιο της προϊνσουλίνης



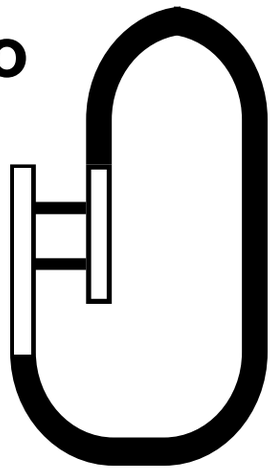
Μετασχηματισμένα κύτταρα E. coli

Ανάπτυξη των βακτηρίων σε βιοαντιδραστήρα



A

Ενδιάμεσο πεπτίδιο



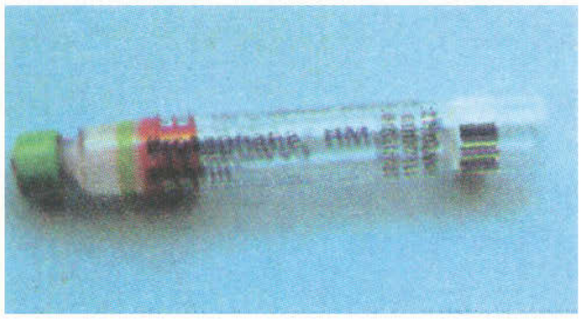
A

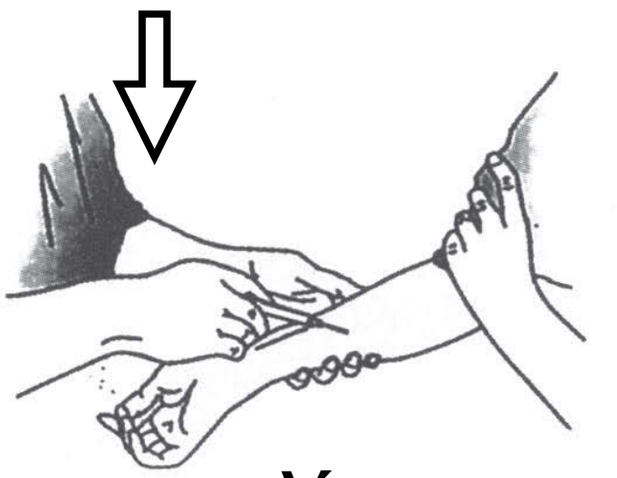
Προϊνσουλίνη

Ενζυμική απομάκρυνση ενδιάμεσου πεπτίδιου ⇩ Καθαρισμός ινσουλίνης

Ινσουλίνη







Υποδόρια ένεση ινσουλίνης

Εικόνα 8.1 Διαδικασία παραγωγής ινσουλίνης με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής.

Δύο άλλες σημαντικές πρωτεΐνες, η αυξητική ορμόνη και η ερυθροποιητίνη, παράγονται με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής

Η αυξητική ορμόνη παράγεται στην υπόφυση του ανθρώπου και παίζει σημαντικό ρόλο στη φυσιολογική ανάπτυξή του. Η απουσία της ορμόνης αυτής οδηγεί σε νανισμό. Επειδή η ανθρώπινη αυξητική ορμόνη είναι πολύ ειδική και δεν μπορεί να αντικατασταθεί από την αντίστοιχη ορμόνη άλλων οργανισμών, απομονωνόταν από εγκεφάλους νεκρών ανθρώπων. Μετά το 1985 η αυξητική ορμόνη παράγεται με τις τεχνικές του ανασυνδυασμένου DNA όπως η ινσουλίνη και οι ιντερφερόνες. Πιστεύεται ότι η αυξητική ορμόνη θα έχει ευρεία εφαρμογή για τη θε-

ραπεία τραυμάτων, σπασμένων οστών, καμένων ιστών και επίσης για την καθυστέρηση της απώλειας της μυϊκής μάζας, που συμβαίνει προοδευτικά κατά τη γήρανση του οργανισμού.
Με τις ίδιες τεχνικές το 1989 παρασκευάστηκε η ερυθροποιητίνη, μια ορμόνη που παράγεται στους νεφρούς και μέσω της κυκλοφορίας του αίματος μεταφέρεται στο μυελό των οστών όπου επάγει την παραγωγή των κυττάρων του αίματος. Η ερυθροποιητίνη μπορεί να βοηθήσει στη θεραπεία ορισμένων αναιμιών.

Οι ιντερφερόνες είναι αντιικές πρωτεΐνες, που παράγονται από κύτταρα που έχουν μολυνθεί από ιούς. Οι πρωτεΐνες αυτές επάγουν

την παραγωγή άλλων πρωτεϊνών από τα γειτονικά υγιή κύτταρα, οι οποίες εμποδίζουν τον πολλαπλασιασμό των ιών σ' αυτά. Οι ιντερφερόνες είναι οικογένεια συγγενών πρωτεϊνών, που ταξινομούνται ανάλογα με τη χημική και βιολογική ενεργότητά τους σε τρεις ομάδες: τις ιντερφερόνες, α, β και γ.

Οι ιντερφερόνες έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον ως αντιικοί και πιθανόν ως αντικαρκινικοί παράγοντες. Παράγονται σε ελάχιστες ποσότητες στο σώμα και γι' αυτό δεν ήταν ευρεία η χρήση τους στη θεραπεία ασθενειών. Όμως, μετά την κλωνοποίηση ορισμένων γονιδίων ιντερφερονών, είναι σήμερα δυνατή η παραγωγή τους σε μεγάλες ποσότητες, με παρόμοια μέθοδο παραγωγής με αυτή της ινσουλίνης.

Μονοκλωνικά αντισώματα

«Το ιδανικό φάρμακο», είπε ο πρωτοπόρος Γερμανός γιατρός Ehrlich, «πρέπει να μπορεί να εξουδετερώνει τις μολύνσεις χωρίς να προκαλεί παρενέργειες στον οργανισμό». Η φύση έχει φτιάξει ένα «τέλειο φάρμακο», τα αντισώματα.

Τα αντισώματα είναι πρωτεϊνικά μόρια, που παράγονται από τα Β-λεμφοκύπαρα του ανοσοποιητικού μας συστήματος, όταν ένα αντιγόνο (παθογόνος μικροοργανισμός, ιός ή ξένο υλικό) προσβάλει τον οργανισμό. Τα αντισώματα αντιδρούν με το αντιγόνο και το εξουδετερώνουν.

Ο οργανισμός μας είναι ικανός να παράγει αντισώματα εναντίον κάθε ξένου αντιγόνου. Στην πραγματικότητα, ένα αντίσωμα αναγνωρίζει

μόνο μία περιοχή του αντιγόνου, η οποία ονομάζεται **αντιγονικός καθοριστής.** Ένα μεγάλο αντιγόνο, π.χ. ένας μικροοργανισμός, έχει πολλούς αντιγονικούς καθοριστές γι' αυτό παράγονται πολλά είδη αντισωμάτων εναντίον του.

Κάθε είδος αντισώματος που αναγνωρίζει έναν αντιγονικό καθοριστή παράγεται από μια ομάδα όμοιων Β-λεμφοκυττάρων, που αποτελούν έναν κλώνο. Τα αντισώματα που παράγονται από έναν κλώνο Β-λεμφοκυττάρων ονομάζονται **μονοκλωνικά.**

Τα μονοκλωνικά αντισώματα είναι πολύ σημαντικά στην Ιατρική και χρησιμοποιούνται ως διαγνωστικά για την ανίχνευση ασθενειών ή ως εξειδικευμένα φάρμακα εναντίον παθογόνων μικροοργανισμών ή ακόμη

εναντίον καρκινικών κυττάρων. Ήταν, επομένως, σημαντικό να γίνει δυνατή η παραγωγή τους στο εργαστήριο σε μεγάλες ποσότητες. Όμως τα Β-λεμφοκύτταρα δεν επιβιώνουν για πολύ έξω από το σώμα και δεν μπορούν να διατηρηθούν σε κυτταροκαλλιέργειες. Την ιδιότητα αυτή την αποκτούν ύστερα από σύντηξη με καρκινικά κύτταρα. Τα υβριδικά κύτταρα που παράγονται ονομάζονται υβριδώματα και μπορούν να παράγουν μεγάλες ποσότητες ενός μονοκλωνικού αντισώματος. Η τεχνική της παραγωγής μονοκλωνικών αντισωμάτων αναπτύχθηκε το 1975 και ακολουθεί την εξής διαδικασία:

Ένα επιλεγμένο αντιγόνο χορηγείται με ένεση σε ποντίκι και προκαλεί ανοσολογική αντίδραση με αποτέλεσμα να αρχίσει η παραγωγή

αντισωμάτων από εξειδικευμένα Β-λεμφοκύτταρα. Ύστερα από δύο εβδομάδες αφαιρείται ο σπλήνας και απομονώνονται τα Β-λεμφοκύτταρα. Τα κύτταρα αυτά συντήκονται με καρκινικά κύτταρα και παράγονται τα υβριδώματα που παράγουν μονοκλωνικά αντισώματα. Τα υβριδώματα μπορούν να φυλάσσονται για μεγάλα χρονικά διαστήματα στην κατάψυξη (-80°C) και να παράγουν οποιαδήποτε στιγμή το συγκεκριμένο μονοκλωνικό αντίσωμα σε μεγάλες ποσότητες (Εικόνα 8.2).

Τα μονοκλωνικά αντισώματα έχουν πολυάριθμες εφαρμογές και λειτουργούν ως:

- **Ανοσοδιαγνωστικά.** Τα μονοκλωνικά αντισώματα, επειδή αναγνωρίζουν ειδικά έναν αντιγονικό καθοριστή, είναι πολύ χρήσιμα ως ανοσοδιαγνωστικά. Μπορούν να ανιχνεύσουν στα υγρά του σώμα-

τος (αίμα, ούρα κ.ά.) ουσίες που είναι υπεύθυνες για ποικίλες ασθένειες, παθογόνους μικροοργανισμούς, καθώς και τη διακύμανση της συγκέντρωσης διάφορων προϊόντων του μεταβολισμού, η οποία μπορεί να προοιωνίζει την πιθανότητα εμφάνισης κάποιας ασθένειας. Η τεχνική ανίχνευσης είναι γρήγορη, απλή, ευαίσθητη, ακριβής και επιτρέπει τη διάγνωση ασθενειών στα πολύ αρχικά στάδιά τους δηλαδή πριν εμφανιστούν τα συμπτώματα. Τα αντισώματα θα συνεισφέρουν σημαντικά στην αύξηση της ευαισθησίας κλινικών δοκιμασιών όπως η τυποποίηση (προσδιορισμός) των ομάδων αίματος και η εξακρίβωση μιας πιθανής κύησης. Στην τελευταία περίπτωση έχουν κατασκευαστεί ειδικά ανοσοδιαγνωστικά τεστ, τα οποία περιέχουν μονοκλωνικά αντισώματα για ειδικές

ορμόνες που παράγονται κατά την κύηση.

- **Θεραπευτικά.** Τα αντισώματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως θεραπευτικά. Η πιο ενδιαφέρουσα εφαρμογή τους αφορά τη θεραπεία του καρκίνου. Τα καρκινικά κύτταρα έχουν στην εξωτερική επιφάνειά τους μεγάλη ποικιλία αντιγόνων που δεν υπάρχουν στα φυσιολογικά κύτταρα του οργανισμού, και ονομάζονται καρκινικά αντιγόνα. Έτσι μπορούν να κατασκευαστούν μονοκλωνικά αντισώματα εναντίον αυτών των αντιγόνων. Τα μονοκλωνικά αντισώματα είναι πολύ ειδικά μόνο για τα καρκινικά κύτταρα και μπορούν να «γίνουν μεταφορείς» ισχυρών αντικαρκινικών φαρμάκων. Όταν εισαχθούν στον οργανισμό, βρίσκουν και προσβάλλουν τους καρκίνους-στόχους. Τα αντικαρκινικά φάρμακα, που είναι συν-

δεδεμένα με τα αντισώματα, δρουν κατευθείαν στα καρκινικά κύτταρα και τα καταστρέφουν. Επιτρέπουν έτσι τη θεραπεία με αποφυγή της χειρουργικής επέμβασης και των δυσάρεστων επιπτώσεων της χημειοθεραπείας.

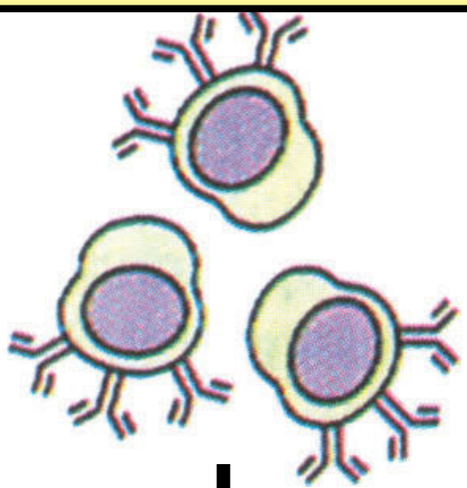
- **Για την επιλογή οργάνων συμβατών για μεταμόσχευση.** Τα κύτταρα των οργάνων έχουν στην επιφάνειά τους ειδικά αντιγόνα επιφάνειας, που αναγνωρίζονται από ειδικά μονοκλωνικά αντισώματα. Με τα μονοκλωνικά αντισώματα μπορεί να γίνει έλεγχος των οργάνων δωρητών, για να διαπιστωθεί αν ταιριάζουν ανοσολογικά με τα αντίστοιχα των ασθενών. Έτσι, είναι δυνατόν να αποφευχθεί η απόρριψη και οι μεταμοσχεύσεις να είναι επιτυχείς.

Αντιγόνο



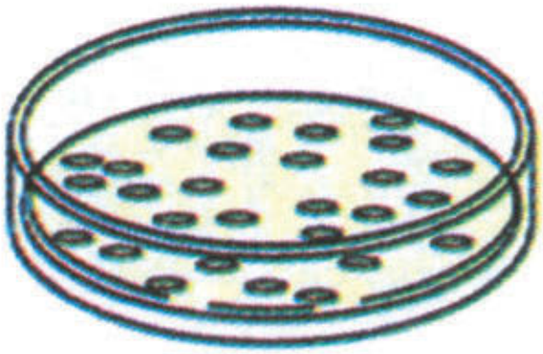
Ο ποντικός ανοσοποιείται με τη χορήγηση αντιγόνου

Απομόνωση Β-λεμφοκυττάρων από σπλήνα

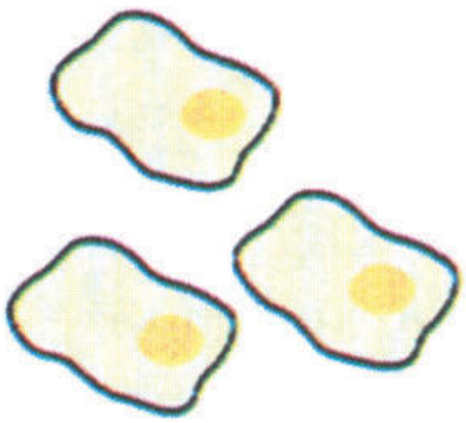


A

Καλλιέργεια καρκινικών Β-λεμφοκυττάρων (μέλωμα)



Τα καρκινικά κύτταρα πολλαπλασιάζονται σε κυτταροκαλλιέργεια



καρκινικά κύτταρα

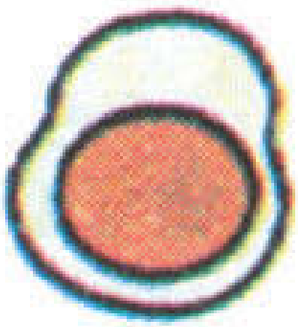
B

A

Τα Β-λεμφοκύτταρα παράγουν αντισώματα αλλά δεν πολλαπλασιάζονται σε κυτταροκαλιέργεια

B

Συντηξη καρκινικών και Β-λεμφοκυττάρων

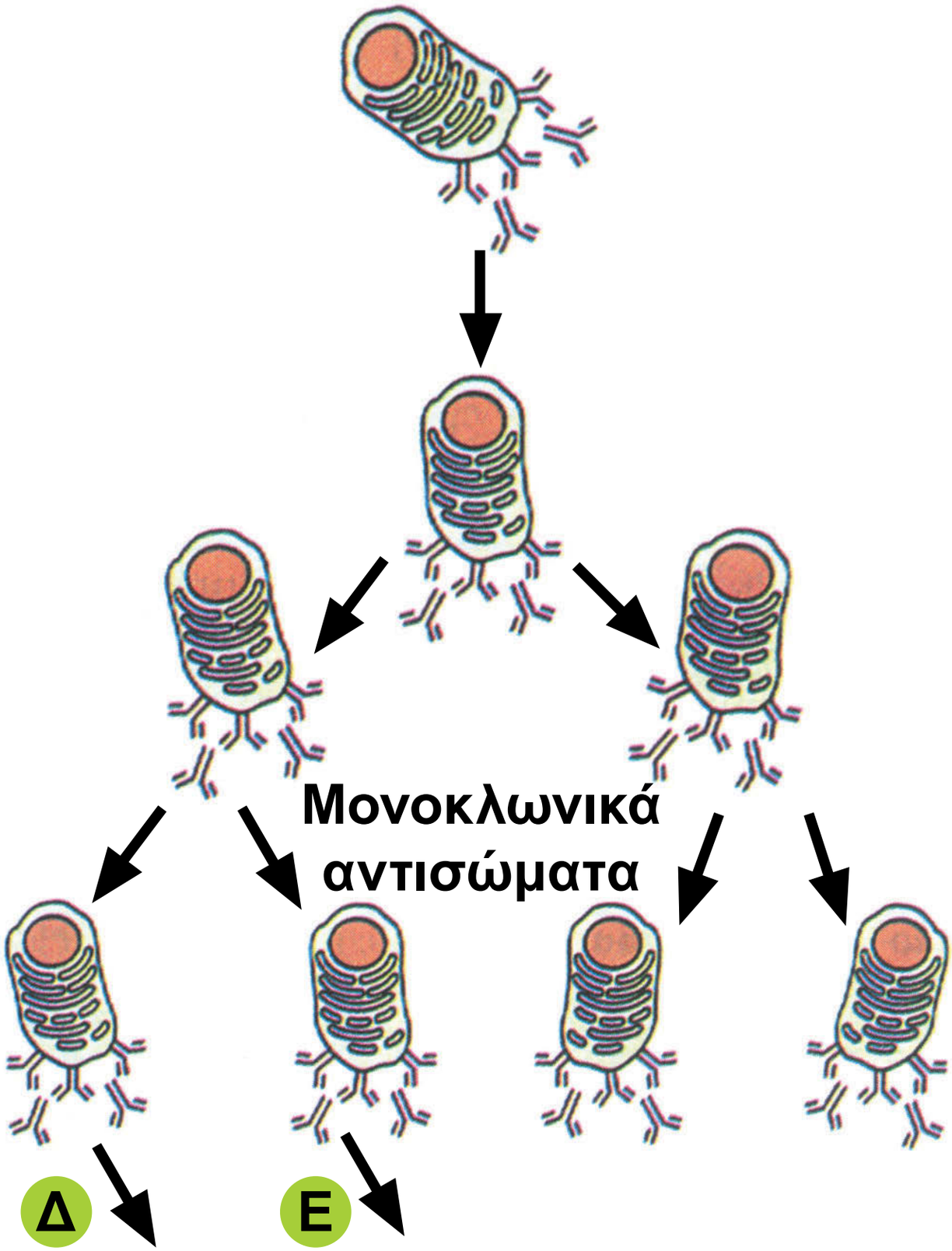


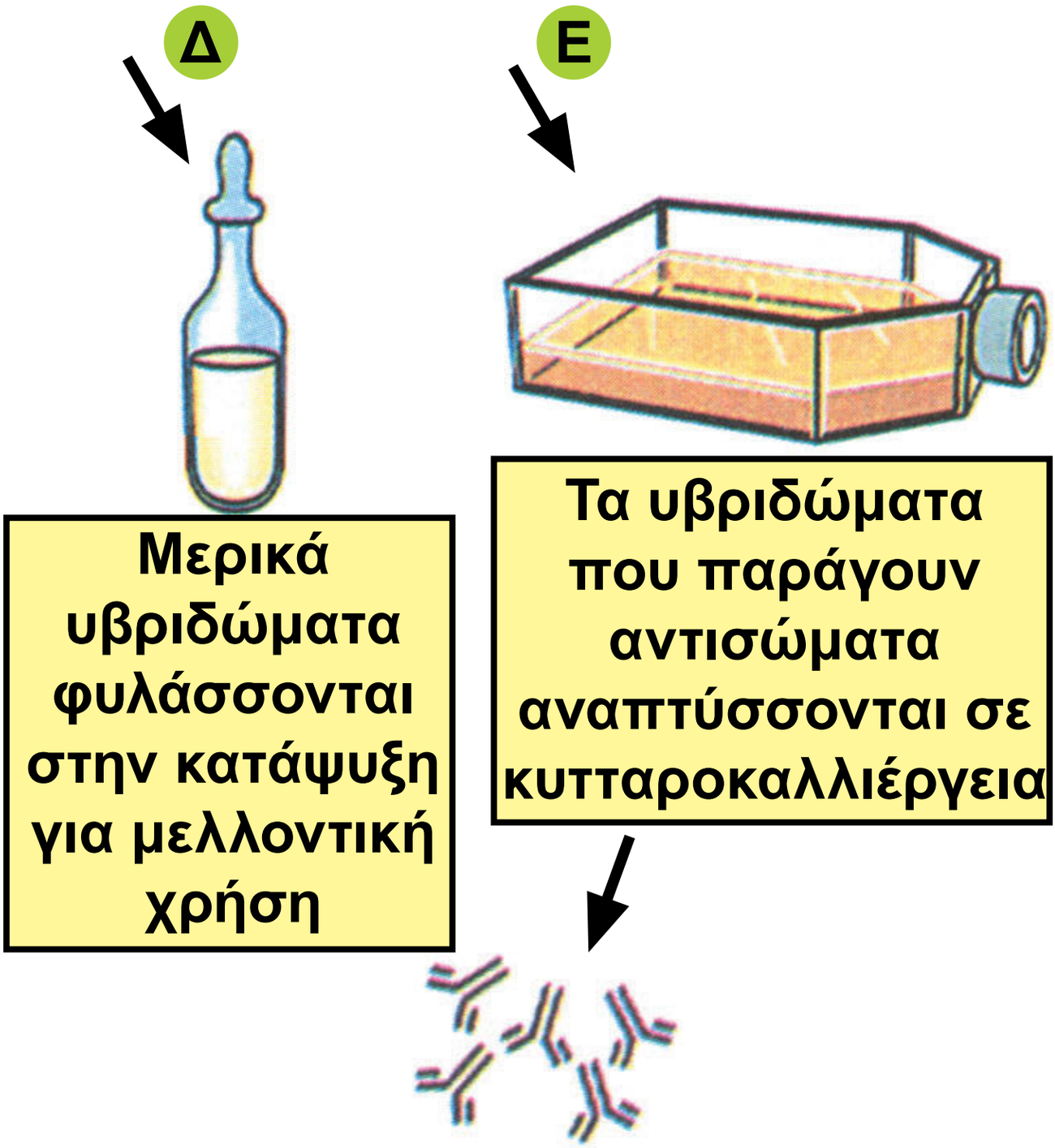
Απομόνωση ενός κυττάρου και πολλαπλασιασμός του σε κυτταροκαλλιέργεια

Τα υβριδώματα ελέγχονται για την παραγωγή αντισωμάτων

Γ

Γ **Τα υβριδώματα διαφοροποιούνται σε Β-λεμφοκύτταρα που παράγουν αντισώματα**





Εικόνα 8.2 Δημιουργία υβριδωμάτων για την παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων.

Και άλλες εφαρμογές των αντισωμάτων

Ανιχνευτές. Η εξέλιξη μιας ασθένειας ή η πρόοδος της θεραπείας της μπορεί να ελεγχθεί με τη βοήθεια των μονοκλωνικών αντισωμάτων. Ειδικοί επιστήμονες συνδέουν ραδιενεργά ισότοπα με αντισώματα, τα εισάγουν στον οργανισμό και ανιχνεύουν τη θέση των ραδιενεργών ισοτόπων στο σώμα. Η τεχνική αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να προσδιοριστεί με ακρίβεια σε ποιο σημείο του σώματος υπάρχει ένας θρόμβος ή κάποιος όγκος. **Έλεγχος της καθαρότητας φαρμάκων.** Επειδή τα μονοκλωνικά αντισώματα προσδένονται με πολύ μεγάλη εξειδίκευση σε μια χημική ουσία, μπορούν να βοηθήσουν στον καθαρισμό της από πολύπλοκα

μείγματα. Με αυτό τον τρόπο μπορούν να καθαριστούν πολύτιμες ουσίες που βρίσκονται σε απειροελάχιστη ποσότητα σε ένα μείγμα. Η τεχνική αυτή βοήθησε στο να γίνει η ιντερφερόνη ευρέως διαθέσιμη.

Εμβόλια

Τα εμβόλια αποτελούνται από νεκρές ή από εξασθενημένες μορφές ενός παθογόνου μικροοργανισμού. Για το σκοπό αυτό, ο παθογόνος μικροοργανισμός αναπτύσσεται σε κυτταροκαλλιέργεια, απομονώνεται και είτε νεκρώνεται είτε απενεργοποιείται (γίνεται μη μολυσματικός), χωρίς βέβαια να χάνει την ικανότητά του να προκαλεί ενεργητική ανοσία. Μολονότι έχουν παραχθεί αποτελεσματικά εμβόλια για μια σειρά από

ασθένειες όπως η διφθερίτιδα, ο τέτανος, η ευλογιά και η πολιομυελίτιδα, υπάρχουν πολλά μειονεκτήματα στην παραγωγή εμβολίων με τον παραπάνω τρόπο. Τα μειονεκτήματα αυτά είναι:

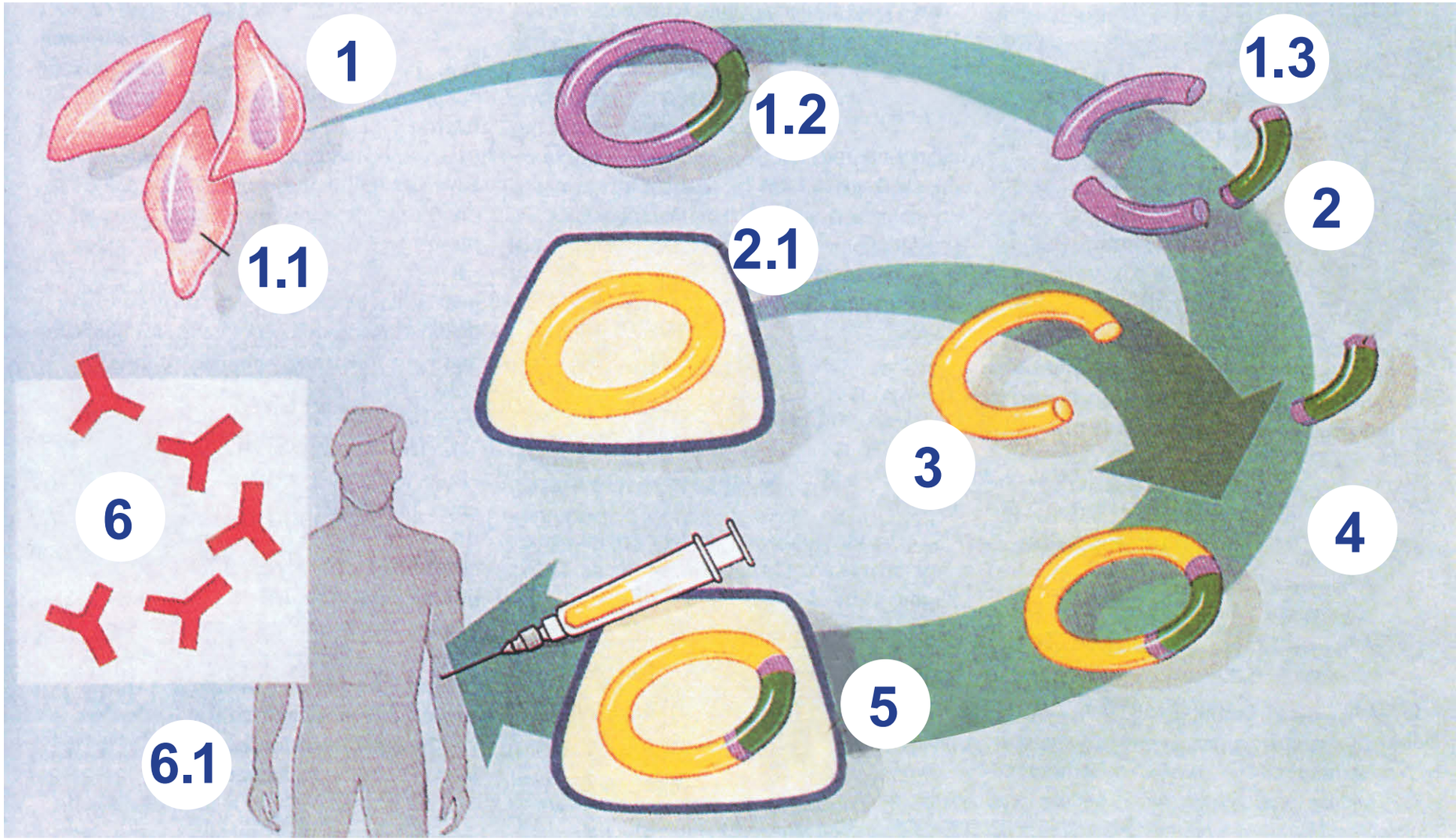
- Δεν μπορούν όλοι οι μολυσματικοί παράγοντες να αναπτυχθούν σε κυτταροκαλλιέργεια και έτσι δεν έχουν αναπτυχθεί εμβόλια για πολλές ασθένειες.
- Ορισμένοι ιοί των ζώων αναπτύσσονται με αργό ρυθμό σε κυτταροκαλλιέργειες και συνεπώς η απόδοσή τους είναι πολύ χαμηλή, άρα και τα εμβόλια γίνονται πολύ ακριβά.
- Χρειάζονται μεγάλες προφυλάξεις, για να μην εκτεθεί το προσωπικό που κατασκευάζει τα εμβόλια στον παθογόνο παράγοντα.
- Δεν είναι όλα τα εμβόλια αποτελε-

σματικά για μια ασθένεια π.χ. για τον ιό του AIDS γίνονται συνεχείς ανεπιτυχείς προσπάθειες κατασκευής εμβολίου.

Την τελευταία δεκαετία η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA έδωσε τη δυνατότητα ανάπτυξης μιας νέας γενιάς εμβολίων που υπερνικούν τα μειονεκτήματα των παραδοσιακών. Η κλωνοποίηση των γονιδίων έδωσε τη δυνατότητα ανάπτυξης νέων στρατηγικών για την πρόκληση ισχυρής ενεργητικής ανοσίας εναντίον του παθογόνου παράγοντα. Τα σημαντικότερα είδη εμβολίων που παράγονται με βιοτεχνολογικές μεθόδους είναι τα εμβόλια-υπομονάδες, **εμβόλια από ζωντανούς γενετικά τροποποιημένους ιούς** και εμβόλια γυμνού DNA.

Η παραγωγή των εμβολίων-υπομονάδων στηρίχθηκε στο γεγονός ότι όλα τα συστατικά ενός παθογόνου μικροοργανισμού δεν είναι απαραίτητα για την πρόκληση της ανοσολογικής αντίδρασης στον οργανισμό που θα προσβάλουν. Συνήθως, μόνο ορισμένες πρωτεΐνες επιφάνειας έχουν αντιγονική ιδιότητα. Τα εμβόλια-υπομονάδες στηρίζονται στην παραγωγή μόνο αυτών των συστατικών. Έτσι, γονίδια του παθογόνου μικροοργανισμού που κωδικοποιούν την πρωτεΐνη με την αντιγονική δράση εισάγονται σε κύτταρα που αναπτύσσονται σε κυτταροκαλλιέργειες και παράγουν την πρωτεΐνη αυτή σε μεγάλες ποσότητες. Στη συνέχεια, η πρωτεΐνη καθαρίζεται και χρησιμοποιείται ως εμβόλιο.

Ένας άλλος τύπος εμβολίων είναι τα εμβόλια από ζωντανούς γενετικά τροποποιημένους ιούς. Στην περίπτωση αυτή γονίδια από επικίνδυνο ιό ή άλλο μικροοργανισμό ενσωματώνονται σε άλλο ιό, που είναι αβλαβής για τον άνθρωπο, όπως ο ιός της δαμαλίτιδας. Ο γενετικά τροποποιημένος ιός που προκύπτει εξακολουθεί να είναι αβλαβής, αλλά επειδή παράγει την αντιγονική πρωτεΐνη του ιού ή του μικροοργανισμού, εισάγεται στο σώμα και προκαλεί έντονη ανοσολογική αντίδραση (Εικόνα 8.3).



Εικόνα 8.3 Παραγωγή εμβολίου από ζωντανούς γενετικά τροποποιημένους ιούς για την πρόληψη της ελονοσίας.

1. Απομόνωση DNA
1.1 Πλασμώδιο από άτομο με ελονοσία
1.2 Γονίδιο πρωτεΐνης επιφάνειας του πλασμώδιου με αντιγονική δράση
1.3 Τμήμα DNA
2. Απομόνωση τμήματος DNA που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη επιφάνειας
2.1 Αβλαβής ιός δαμαλίτιδας
3. Απομόνωση DNA ιού και κόψιμο
4. Το τμήμα DNA που περιέχει το γονίδιο επιφάνειας συνδυάζεται με το κομμένο DNA του ιού
5. Ο αβλαβής ιός που περιέχει το ανασυνδυασμένο DNA με το γονίδιο επιφάνειας του πλασμωδίου εισέρχεται στον οργανισμό
6. Παράγονται αντισώματα εναντίων του πλασμωδίου
6.1 Επαγωγή ενεργητικης ανοσίας

Εμβόλιο γυμνού DNA

Ένας τύπος εμβολίου μπορεί να είναι το ίδιο το DNA. Στη συγκεκριμένη περίπτωση το γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη με αντιγονική δράση εισάγεται κατευθείαν στον οργανισμό που πρόκειται να ανοσοποιηθεί. Το γονίδιο ενσωματώνεται στο γονιδίωμα και παράγει το αντιγόνο, το οποίο με τη σειρά του προκαλεί ενεργητική ανοσία στον οργανισμό. Η τεχνική εφαρμόστηκε πειραματικά σε ποντίκι. Η ενσωμάτωση είχε επιτυχία 75%. Ύστερα από τις απαραίτητες δοκιμασίες η τεχνική υπόσχεται πολλά για τον εμβολιασμό των οικόσιτων ζώων.

Αντιβιοτικά

Τα αντιβιοτικά είναι χημικές ουσίες που παράγονται από μικροοργανισμούς και θανατώνουν άλλους μικροοργανισμούς ή αναστέλλουν την ανάπτυξή τους. Είναι προϊόντα του μεταβολισμού τους και σήμερα ορισμένα από αυτά παράγονται σε μεγάλες ποσότητες σε βιοαντιδραστήρες. Πολλά αντιβιοτικά μπορούν να συντεθούν και χημικά, αλλά η διαδικασία είναι τόσο ακριβή και επίπονη που δεν μπορεί να συγκριθεί σε κόστος με την παραγωγή από βακτήρια και από μύκητες. Η παγκόσμια χρήση των αντιβιοτικών για την καταπολέμηση των μικροβίων έχει βελτιώσει σημαντικά την υγεία των ανθρώπων και αναμφίβολα έχει σώσει εκατομμύρια ανθρώπινες ζωές.

Έως σήμερα έχουν απομονωθεί από διάφορους μικροοργανισμούς, περισσότερα από 8.000 αντιβιοτικά με ποικίλους τρόπους δράσης. Η πλειονότητα των πιο σημαντικών αντιβιοτικών έχουν απομονωθεί από το βακτήριο του εδάφους, γένους Streptomyces, μολονότι και άλλα βακτήρια καθώς και μύκητες είναι πηγές αντιβιοτικών.

Υπολογίζεται ότι αρκετές εκατοντάδες νέα αντιβιοτικά ανακαλύπτονται κάθε χρόνο ύστερα από εντατική έρευνα κατά την οποία ελέγχονται πολλές χιλιάδες διαφορετικοί μικροοργανισμοί, για να βρεθούν εκείνοι που παράγουν νέα αντιβιοτικά.

Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA άρχισε πρόσφατα να εφαρμόζεται με στόχο:

- Την κλωνοποίηση όλων των γονιδίων που κωδικοποιούν ένζυμα απαραίτητα για τη βιοσύνθεση ενός αντιβιοτικού.
- Την ανάπτυξη αντιβιοτικών με ισχυρότερη δράση εναντίον ορισμένων μικροβίων και με λιγότερες παρενέργειες.
- Την κατασκευή γενετικά τροποποιημένων μικροοργανισμών με στόχο τη μεγαλύτερη απόδοση στην παραγωγή αντιβιοτικών.

Γονιδιακή θεραπεία

Περισσότερες από 4.000 ασθένειες οφείλονται σε γονιδιακές μεταλλάξεις και πολλές από αυτές εμφανίζονται στις μεγάλες ηλικίες. Μερικές οφείλονται σε ένα μόνο γονίδιο, άλλες σε αλληλεπίδραση

δύο ή περισσότερων γονιδίων και ακόμη περισσότερες σε συνδυασμό γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων όπως η ακτινοβολία και οι χημικές ουσίες. Όλες σχεδόν οι γενετικές ασθένειες προκαλούν δυσμορφίες, το 80% όλων διανοητική καθυστέρηση και το ένα πέμπτο από αυτές θάνατο στην παιδική ηλικία.

Έως πρόσφατα η μοριακή βάση των ασθενειών αυτών δεν ήταν γνωστή. Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA σε συνδυασμό με τις μεθόδους της παραδοσιακής Γενετικής (γενεαλογικά δένδρα) οδήγησε στον εντοπισμό της θέσης στα χρωμοσώματα (χαρτογράφηση) πολλών μεταλλαγμένων γονιδίων, που προκαλούν τις αντίστοιχες ασθένειες. Επιπλέον ορισμένα

μεταλλαγμένα γονίδια κλωνοποιήθηκαν και συγκρίθηκαν με τα φυσιολογικά αλληλόμορφά τους, για να εξακριβωθεί το είδος των μεταλλάξεων. Η χαρτογράφηση όλων των γονιδίων στα χρωμοσώματα είναι ένας από τους κύριους στόχους του προγράμματος του ανθρώπινου γονιδιώματος, όπως θα αναφερθεί παρακάτω. Σήμερα έχουν χαρτογραφηθεί και κλωνοποιηθεί τα γονίδια των οποίων οι μεταλλάξεις είναι υπεύθυνες για ασθένειες όπως η κυστική ίνωση, η ασθένεια του Huntington και η μυϊκή δυστροφία Duchenne.

Οι γνώσεις αυτές έδωσαν τη δυνατότητα ανάπτυξης θεραπείας που στηρίζεται στην τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA και ονομάζεται **γονιδιακή θεραπεία**. Αυτή έχει ως στόχο να «διορθώσει» τη γενετική βλάβη εισάγοντας στους ασθενείς

φυσιολογικά αλληλόμορφα του μεταλλαγμένου γονιδίου. Απαραίτητη προϋπόθεση για την εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας είναι, εκτός από την κλωνοποίηση του υπεύθυνου γονιδίου, και ο προσδιορισμός των κυττάρων που εμφανίζουν τη βλάβη από την ασθένεια.

Η γονιδιακή θεραπεία εφαρμόστηκε για πρώτη φορά το Σεπτέμβριο του 1990 σε ένα τετράχρονο κορίτσι που έπασχε από ανεπάρκεια του ανοσοποιητικού συστήματος. Η ασθένεια αυτή οφείλεται στην έλλειψη του ενζύμου **απαμινάση της αδενοσίνης** (ADA), που παίρνει μέρος στον μεταβολισμό των πουρινών στα κύτταρα του μυελού των οστών. Η έλλειψη οφείλεται σε μετάλλαξη του γονιδίου που παράγει το ένζυμο αυτό. Η ασθένεια εμφανίζει αυτοσωμικό υπολειπόμενο

τύπο κληρονομικότητας. Οι ασθενείς πάσχουν από χρόνιες μολύνσεις, έχουν προδιάθεση για ανάπτυξη καρκίνου σε πολύ μικρή ηλικία και πολλοί πεθαίνουν ύστερα από λίγους μήνες ζωής. Είναι γνωστή η περίπτωση ενός παιδιού που έζησε εννέα χρόνια σε έναν πλαστικό θάλαμο, για να εμποδιστεί η επαφή του με ιούς, επειδή το ανοσοποιητικό του σύστημα δεν μπορούσε να τους καταπολεμήσει.

Η διαδικασία που ακολουθείται στη γονιδιακή θεραπεία της παραπάνω ασθένειας είναι η εξής:

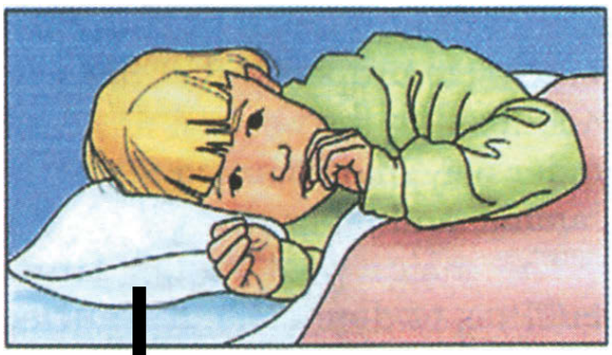
- Λεμφοκύτταρα του παιδιού παραλαμβάνονται και πολλαπλασιάζονται σε κυτταροκαλλιέργειες.
- Το φυσιολογικό γονίδιο της απαμινάσης της αδενοσίνης ενσωματώνεται σε έναν ιό-φορέα (ο οποίος

έχει καταστεί αβλαβής) με τις τεχνικές του ανασυδυασμένου DNA.

- Ο γενετικά τροποποιημένος ιός εισάγεται στα λεμφοκύτταρα.
- Τα γενετικά τροποποιημένα λεμφοκύτταρα εισάγονται με ενδοφλέβια ένεση στο παιδί και παράγουν το ένζυμο ADA (Εικόνα 8.4).

Βέβαια τα τροποποιημένα λεμφοκύτταρα δε ζουν για πάντα μέσα στον οργανισμό -δηλαδή η θεραπεία δεν είναι μόνιμη- και χρειάζεται συνεχής έγχυση τέτοιων κυττάρων.

Ασθενής πριν τη θεραπεία



1

Σωματικό κύτταρο

Ιικό DNA

Φυσιολογικό γονίδιο

2

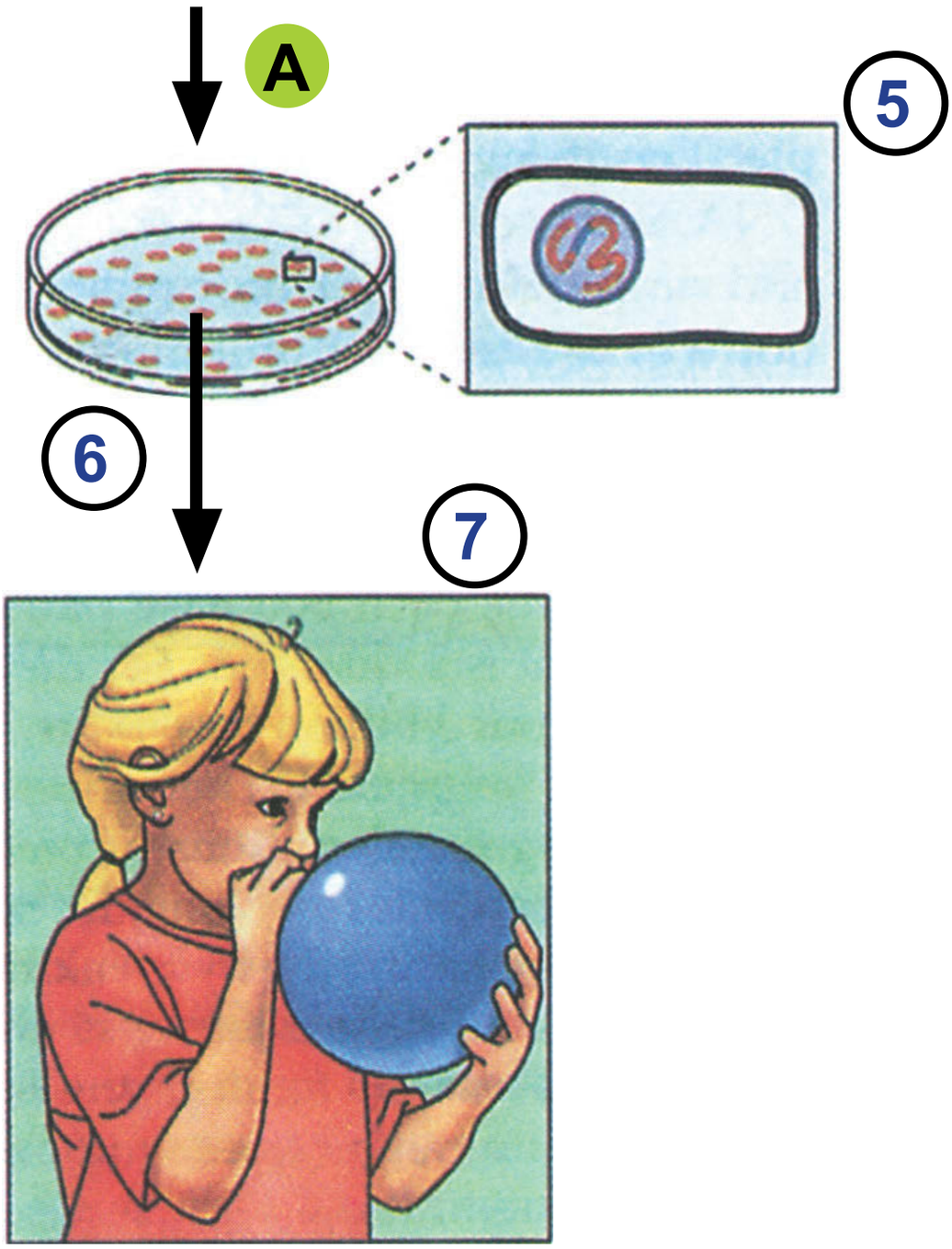
ανασυν-δυασμένο DNA

3

Ιός

4

A



Ασθενής μετά τη θεραπεία

Εικόνα 8.4 Ex vivo **γονιδιακή θεραπεία.**

1. Τα κύτταρα του ασθενή που απομονώνονται είναι ομόζυγο για το μεταλλαγμένο γονίδιο

2. Αντίγραφο του φυσιολογικού γονιδίου ενσωματώνεται στο DNA του ιού

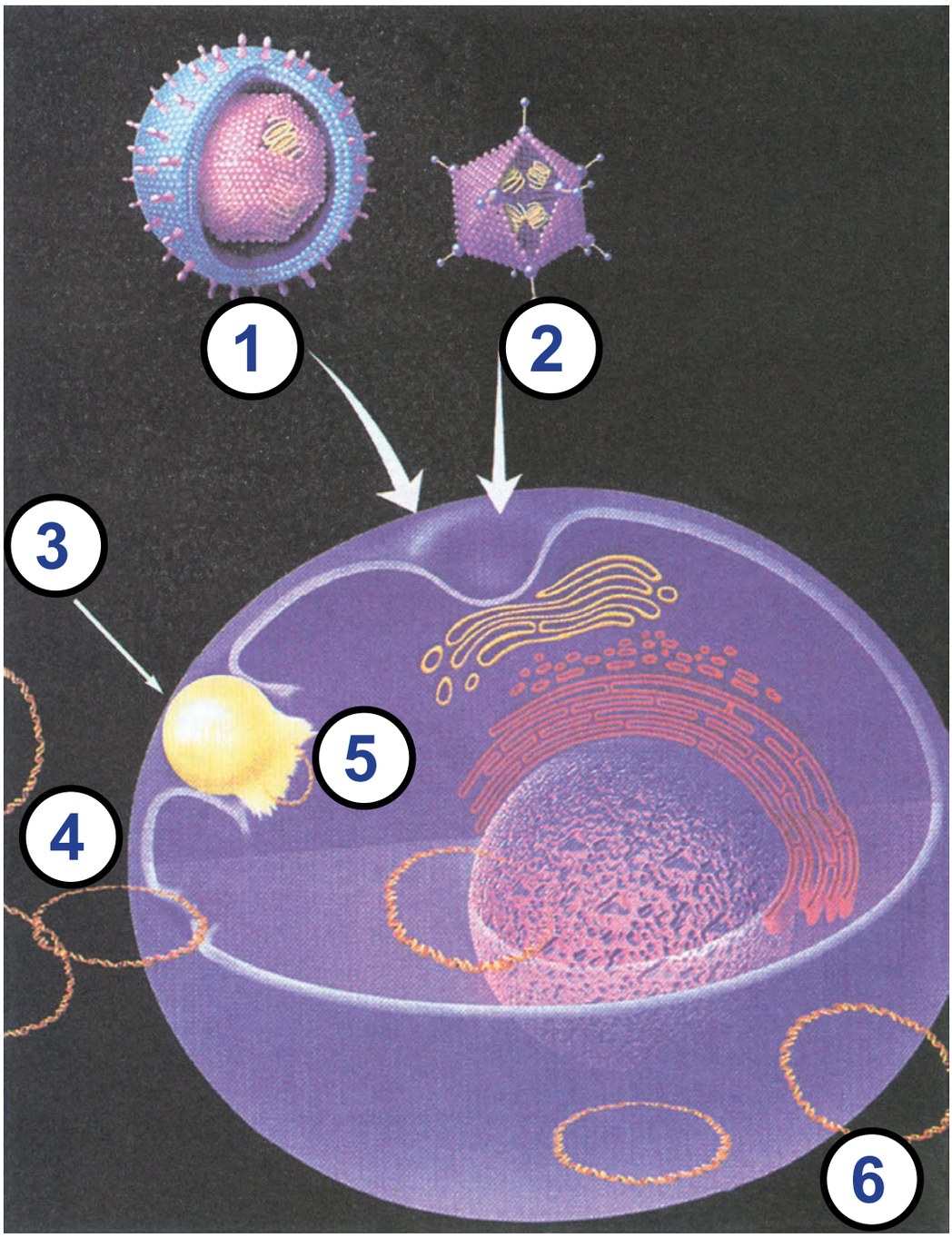
3. Τα σωματικά κύτταρα μολύνονται με ιό που περιέχει το ανασυνδυασμένο DNA

4. Το DNA του ιού που περιέχει το φυσιολογικό αλληλόμορφο ενσωματώνεται στο γονιδίωμα του κυττάρου

5. Καλλιέργεια των σωματικών κυττάρων που περιέχουν το φυσιολογικό γονίδιο

6. Τα κύτταρα από την κυταροκαλλιέργεια επανεισάγονται στον ασθενή

7. Τα συμπτώματα υποχωρούν λόγω λειτουργίας του φυσιολογικού γονιδίου



Εικόνα 8.5 Γονιδιακή θεραπεία in vivo. **Το φυσιολογικό γονίδιο μπορεί να εισέλθει στα κύτταρα του ιστού που εμφανίζει τη βλάβη, μέσω ιών, λιποσωμάτων και με τη μορφή «γυμνού DNA».**

1. Ρετροϊός

2. Αδενοϊός

3. DNA-λιπόσωμα

4. Το γυμνό DNA εισέρχεται στο κύτταρο στόχο

5. Το DNA εισέρχεται στον πυρήνα

6. Γυμνό DNA

Όμως, όπως στην περίπτωση των διαβητικών, τα άτομα μπορούν να ζουν φυσιολογικά, κάνοντας σε κανονικά χρονικά διαστήματα αυτή τη θεραπεία.

Ο τύπος αυτός της γονιδιακής θεραπείας ονομάζεται **ex vivo**, γιατί τα κύτταρα τροποποιούνται έξω από τον οργανισμό και εισάγονται πάλι σ' αυτόν.

Τα κύτταρα του αιμοποιητικού συστήματος μπορούν να τροποποιούνται γενετικά, να αναπτύσσονται σε κυτταροκαλλιέργειες και να εισάγονται με ενδοφλέβια ένεση στον οργανισμό. Τι γίνεται όμως αν πρέπει να τροποποιηθούν κύτταρα ενός άλλου οργάνου όπως ο πνεύμονας; Ο Anderson και οι συνεργάτες του πρότειναν μια άλλη προσέγγιση. Ανέπτυξαν «έξυπνους» φορείς, οι οποίοι προσβάλλουν τα κύτταρα

του ιστού που πάσχει. Συγκεκριμένα, τα φυσιολογικά γονίδια ενσωματώνονται σε μόρια-φορείς, που εισάγονται κατευθείαν στον οργανισμό. Το είδος αυτό της γονιδιακής θεραπείας ονομάζεται **in vivo** και εφαρμόστηκε για τη θεραπεία της κυστικής ίνωσης το 1993.

Η κυστική ίνωση οφείλεται σε μεταλλάξεις ενός γονιδίου, το οποίο κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη, που είναι απαραίτητη για τη σωστή λειτουργία των επιθηλιακών κυττάρων των πνευμόνων. Η ασθένεια παρουσιάζει υπολειπόμενη αυτοσωμική κληρονομικότητα και επηρεάζει πρωτίστως τη λειτουργία των πνευμόνων.

Το φυσιολογικό γονίδιο ενσωματώθηκε αρχικά σε έναν αδενοϊό. Ο ανασυνδυασμένος ιός εισήλθε στον οργανισμό με ψεκασμό με τη βοήθεια

βρογχοσκοπίου και μόλυνε τα κύτταρα του αναπνευστικού συστήματος. Μετά την εισαγωγή του στα κύτταρα, το φυσιολογικό γονίδιο ενσωματώθηκε στο γονιδίωμά τους και παρήγαγε το φυσιολογικό προϊόν (Εικόνα 8.5).

Έως πρόσφατα η πιθανότητα επιτυχούς γονιδιακής θεραπείας ανήκε στη σφαίρα της επιστημονικής φαντασίας. Με τον προσδιορισμό γονιδίων που είναι υπεύθυνα για γενετικές ασθένειες και την εύρεση της αλληλουχίας τους δημιουργούνται νέες προοπτικές για τη γονιδιακή θεραπεία πολλών ασθενειών. Είναι βασικό να τονιστεί ότι παρόλο που η γονιδιακή θεραπεία παρουσιάζεται ως πανάκεια στην Ιατρική, η εφαρμογή της, τουλάχιστον στο άμεσο μέλλον, θα είναι περιορισμένη επειδή δεν έχουν ακό-

μη ξεπεραστεί προβλήματα όπως αυτά που αφορούν τη χρήση των φορέων. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, στις περισσότερες περιπτώσεις ως φορείς χρησιμοποιούνται ιοί οι οποίοι αν και καθίστανται αβλαβείς, έχουν μικρή πιθανότητα να προκαλέσουν παρενέργειες και σε ορισμένες περιπτώσεις καρκίνο. Έτσι λοιπόν η ανάπτυξη πιο κατάλληλων φορέων είναι ο επόμενος στόχος για τη βελτίωση των μεθόδων της γονιδιακής θεραπείας.

Με τις μεθόδους της γονιδιακής θεραπείας δε γίνεται αντικατάσταση του μεταλλαγμένου γονιδίου στα κύτταρα του οργανισμού αλλά ενσωμάτωση του φυσιολογικού αντιγράφου του στο γονιδίωμα συγκεκριμένων σωματικών κυττάρων. Συνεπώς δε μεταβιβάζεται στους απογόνους.

Το πρόγραμμα του ανθρώπινου γονιδιώματος

Όπως έχει αναφερθεί, το ανθρώπινο γονιδίωμα αποτελείται από $3x10^9$ ζεύγη βάσεων DNA, το οποίο κατανέμεται σε χρωμοσώματα. Η αποκρυπτογράφηση της αλληλουχίας βάσεων του DNA πιστεύεται ότι θα μας βοηθήσει να κατανοήσουμε πώς έχει «κατασκευαστεί» και λειτουργεί ο ανθρώπινος οργανισμός. Για το σκοπό αυτό το 1986 ξεκίνησε μια διεθνής συνεργασία με σκοπό τη χαρτογράφηση, δηλαδή τον εντοπισμό της θέσης των γονιδίων στα χρωμοσώματα, και τον προσδιορισμό της αλληλουχίας των βάσεων του DNA στο ανθρώπινο γονιδίωμα. Το πρόγραμμα, που φυσικά απαιτούσε τη συμβολή πολλών ερευνητών και γενναία χρηματοδότηση,

ξεκίνησε το 1990 υπό την αιγίδα του Εθνικού Ινστιτούτου Υγείας και του Τμήματος Ατομικής Ενέργειας των ΗΠΑ. Αρχικά υπήρχε η εκτίμηση ότι το πρόγραμμα θα ολοκληρωνόταν το 2005, όμως, χάρη στην αυτοματοποίηση των εργαστηριακών μεθόδων και την ανάπτυξη της πληροφορικής, ολοκληρώθηκε το 2001.

Η ανάλυση του ανθρώπινου γονιδιώματος θα συμβάλει:

- Στη μελέτη της οργάνωσης και λειτουργίας του ανθρώπινου γονιδιώματος. Μετά την ολοκλήρωση του προγράμματος προσδιορίστηκαν το σύνολο των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, οι ρυθμιστικές περιοχές των γονιδίων αυτών, καθώς και οι περιοχές του γονιδιώματος με άγνωστη λειτουργία. Ο αριθμός των γονιδίων είχε

αρχικά εκτιμηθεί το 1990 σε 100.000, ενώ σήμερα εκτιμάται ότι τα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες είναι λιγότερα από 40.000.

- Στην ανάπτυξη μεθοδολογίας για τη διάγνωση και τη θεραπεία των ασθενειών με τον προσδιορισμό της θέσης και της αλληλουχίας των γονιδίων που έχουν μεταλλαγεί και σχετίζονται με διάφορες ασθένειες.
- Στη μελέτη της εξέλιξης του ανθρώπινου γονιδιώματος. Για το σκοπό αυτό βρίσκονται παράλληλα σε εξέλιξη προγράμματα προσδιορισμού της αλληλουχίας άλλων ειδών, τα οποία θα συμβάλουν στην αποκάλυψη των εξελικτικών σχέσεων που υπάρχουν μεταξύ των ειδών. Έτσι βρίσκονται σε εξέλιξη προγράμματα χαρτογράφησης γονιδιωμάτων οργανισμών

όπως είναι το πρόβατο, ο σκύλος, η αγελάδα, διάφορα έντομα, ο γεωσκώληκας, καθώς και πολλοί μικροοργανισμοί.

- Στη μαζική παραγωγή προϊόντων, με τις μεθόδους που χρησιμοποιεί η Βιοτεχνολογία, μετά την απομόνωση των γονιδίων, τα οποία είναι χρήσιμα στη φαρμακοβιομηχανία, στη βιομηχανία, στη γεωργία και την κτηνοτροφία.

Στην εικόνα 8.6 παρουσιάζονται οι εφαρμογές που προκύπτουν από την ανάλυση του ανθρώπινου γονιδιώματος.

Η Μοριακή Βιολογία με αριθμούς

Αν η αλληλουχία των βάσεων του ανθρώπινου γονιδιώματος γραφτεί με κεφαλαία γράμματα χωρίς κενά, καλύπτει περίπου 1.000 βιβλία μεγέθους τηλεφωνικού καταλόγου.

Κυστική ίνωση

Η κυστική ίνωση είναι μια εξαιρετικά σοβαρή ασθένεια, ιδιαίτερα διαδεδομένη ανάμεσα στους κατοίκους της Ευρώπης και των ΗΠΑ. Η θέση του γονιδίου που είναι υπεύθυνο για την ασθένεια αυτή βρίσκεται στο 7ο χρωμόσωμα και η δράση του σχετίζεται με τη δυνατότητα μεταφοράς ιόντων χλωρίου δια μέσου της κυτταρικής μεμβράνης. Χαρακτηριστικό σύμπτωμα της ασθένειας είναι η

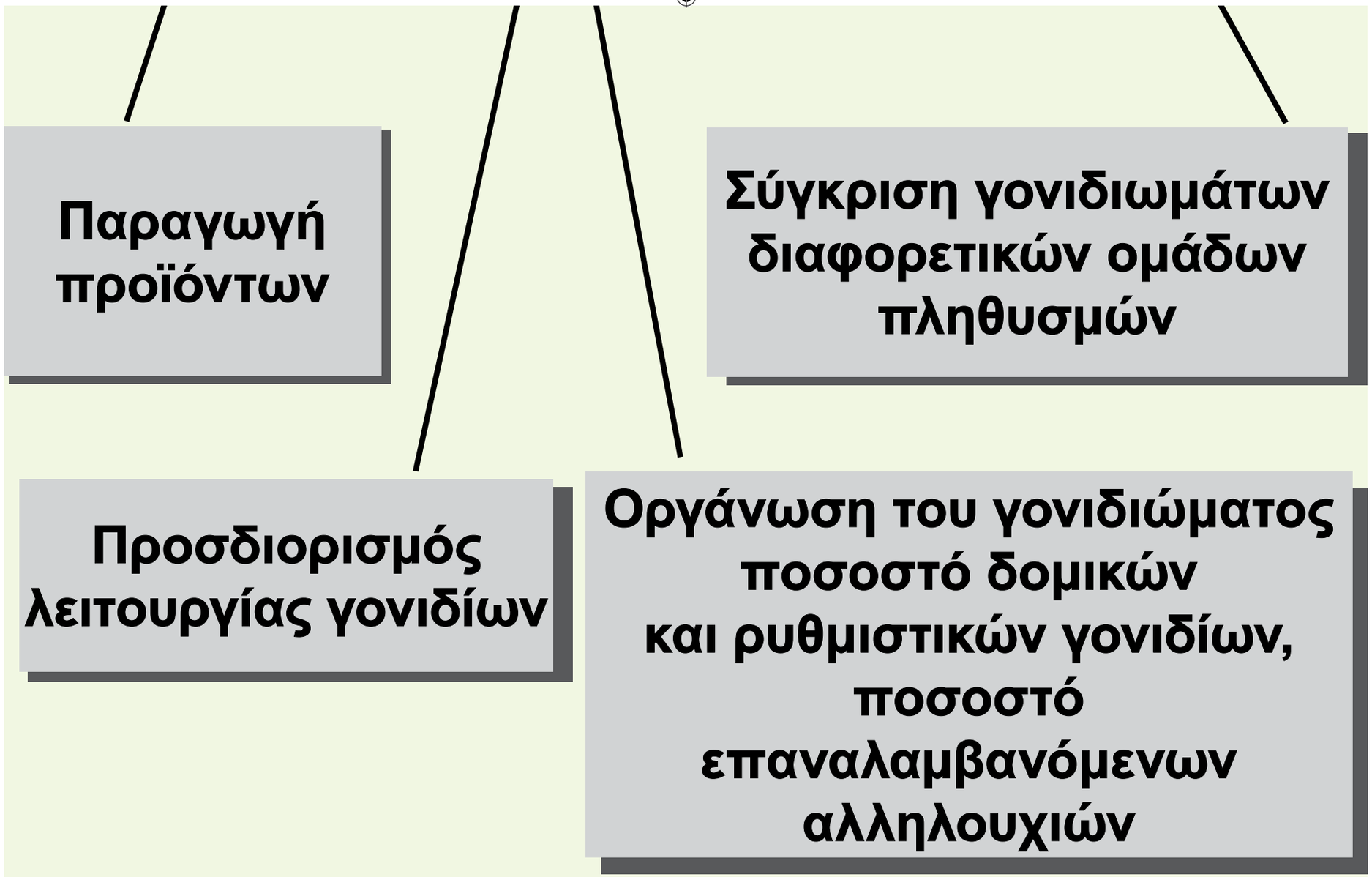
υπερβολική παραγωγή βλέννας στους πνεύμονες και στο γαστρεντερικό σωλήνα. Η συσσώρευση βλέννας παρεμποδίζει την αναπνοή και ο πάσχων παρουσιάζει έντονο βήχα. Η συσσώρευση βλέννας παρεμποδίζει επίσης την έκκριση του παγκρεατικού υγρού με αποτέλεσμα να μη γίνεται σωστά η πέψη των τροφών. Στη φωτογραφία η μητέρα χτυπάει στην πλάτη το παιδί του πάσχει από κυστική ίνωση για να βοηθήσει την απομάκρυνση της βλέννας από τους πνεύμονες.



Προσδιορισμός γονιδίων που σχετίζονται με ασθένειες

Σύγκριση γονιδιωμάτων διαφορετικών οργανισμών





Εικόνα 8.6 Εφαρμογές του προγράμματος του ανθρώπινου γονιδιώματος.

Με την αποκρυπτογράφηση της αλληλουχίας του DNA θα γνωρίσουμε τον εαυτό μας

Πολλοί ερευνητές βρήκαν την προώθηση του προγράμματος του ανθρώπινου γονιδιώματος εξίσου ενδιαφέρουσα με την αποστολή του ανθρώπου στο φεγγάρι το 1960. Συνοψίζοντας το πρόγραμμα το 1989 ένας από τους συμμετέχοντες έγραφε ότι δεν είναι τίποτα περισσότερο από μία επιστημονική απάντηση στο ρητό του Σωκράτη «γνώθι σαυτόν». Οι προσπάθειες χαρτογράφησης ξεκίνησαν στις αρχές του 20ού αιώνα. Το 1913 συγκεκριμένα έκανε την εμφάνισή του ο πρώτος γενετικός χάρτης, που προσδιόριζε τη θέση των γονιδίων στο

χρωμόσωμα Χ της μύγας των φρούτων (Drosophila melanogaster). Έως το 1950 οι γενετικοί χάρτες περιορίζονταν στην απεικόνιση της θέσης των γονιδίων μόνο στο Χ χρωμόσωμα διάφορων οργανισμών. Το 1968 εντοπίστηκε για πρώτη φορά η θέση γονιδίου σε αυτοσωμικό χρωμόσωμα. Το 1971 είχαν χαρτογραφηθεί στον άνθρωπο μόνο δεκαπέντε γονίδια, τα περισσότερα από τα οποία βρίσκονταν στο χρωμόσωμα Χ. Χάρη στο πρόγραμμα ανάλυσης του ανθρώπινου γονιδιώματος έως τα τέλη του 1998 είχαν χαρτογραφηθεί περίπου 13.000 γονίδια.

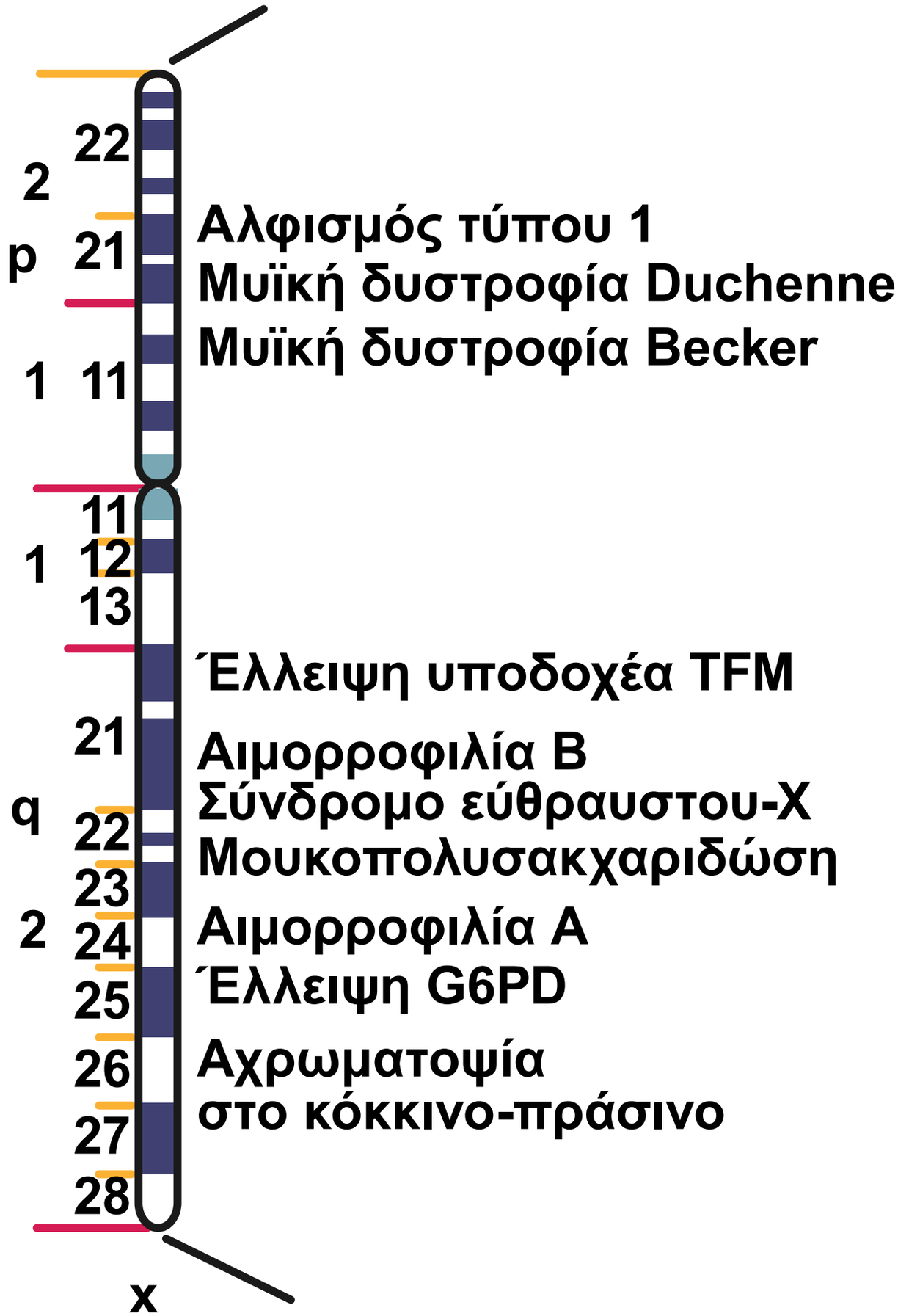
Το πρόγραμμα αυτό χρειάζεται εκτός από τεράστια χρηματοδότηση, μια ισχυρή τεχνολογική

υποστήριξη, η οποία βασίζεται:

- Στο συνεχώς αυξανόμενο οπλοστάσιο των τεχνικών της Μοριακής Βιολογίας.
- Στην αυτοματοποίηση των εργαστηριακών μεθόδων σε σημείο που να μπορεί κανείς σήμερα να μιλάει για ρομποτική.
- Στην προωθημένη ανάλυση των πειραματικών αποτελεσμάτων μέσω ηλεκτρονικών υπολογιστών.
- Στον αποτελεσματικό συντονισμό των διάφορων χαρτογραφικών εργαστηρίων ανά τον κόσμο.

Εδώ πρέπει να σταθεί κανείς στην ανεκτίμητη προσφορά της Βιοπληροφορικής και της ανάλυσης μέσω υπολογιστών. Ο όγκος των δεδομένων που παράγο-

νται, δηλαδή τεράστιος αριθμός αλληλουχιών βάσεων DNA, θα ήταν αδύνατο να αναλυθεί και να συσχετιστεί χωρίς την ύπαρ-ξη εξελιγμένων υπολογιστικών προγραμμάτων, καθώς και την αποθήκευσή τους σε βάσεις δε-δομένων.


22
2
p
21
1
11
11
1
12
13
21
q
22
23
2
24
25
26
27
28
x
Αλφισμός τύπου 1
Μυϊκή δυστροφία Duchenne
Μυϊκή δυστροφία Becker
Έλλειψη υποδοχέα TFM
Αιμορροφιλία Β
Σύνδρομο εύθραυστου-Χ
Μουκοπολυσακχαριδώση
Αιμορροφιλία Α
Έλλειψη G6PD
Αχρωματοψία
στο κόκκινο-πράσινο



Χαρτογράφηση γονιδίων που σχετίζονται με γενετικές ασθένειες στο χρωμόσωμα 21 και το χρωμόσωμα Χ.

Έλεγχος φαρμακευτικών προϊόντων και μεθόδων θεραπείας ασθενειών

Όλα τα νέα προϊόντα και οι τεχνολογίες που εφαρμόζονται στον άνθρωπο περνούν από τέσσερις φάσεις ελέγχου, η καθεμία από τις οποίες διαρκεί δύο έτη. Οι φάσεις αυτές είναι οι εξής:

- Προκλινικές δοκιμές με πειράματα in vitro και σε πειραματόζωα
- Δοκιμές φάσης Ι, όπου γίνεται έλεγχος σε μικρό αριθμό εθελοντών (6-10 άτομα)
- Δοκιμές φάσης ΙΙ, όπου γίνεται έλεγχος σε μεγάλο αριθμό εθελοντών
- Δοκιμές φάσης ΙΙΙ, όπου γίνεται έλεγχος σε πολύ μεγαλύτερο αριθμό εθελοντών, για να ακο-

λουθήσει στατιστική μελέτη των πιθανών παρενεργειών κ.ά. Συνολικά, ο έλεγχος διαρκεί περισσότερο από οκτώ χρόνια για να διαπιστωθεί αν αξίζει η εφαρμογή του φαρμάκου ή της μεθόδου σε ευρεία κλίμακα.

Εισαγωγή γονιδίων στον άνθρωπο

Η επίσημη άδεια για εισαγωγή γενετικά τροποποιημένων κυττάρων στους ανθρώπους δόθηκε ύστερα από αρκετές διαδικασίες από το Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας (NIH) και τη Διεύθυνση Διατροφής και Φαρμάκων (FDA). Την απόφαση πήρε η Συμβουλευτική Επιτροπή του Ανασυνδυασμένου DNA (DNA advisory Comittee RAC)

στις 3 Οκτωβρίου 1988 με ψήφους 16:5, κυρίως για λόγους συναισθηματικούς, «επειδή ένας άνθρωπος που πάσχει από καρκίνο δεν μπορεί να πάθει τίποτε χειρότερο».
Ο ασθενής που επιλέχθηκε για να δεχτεί γενετικά τροποποιημένα κύτταρα ήταν 52 ετών και έπασχε από κακόηθες μελάνωμα, μια θανατηφόρο μορφή καρκίνου, που είχε κάνει μετάσταση στο ήπαρ. Η πρόγνωση ήταν δύο μήνες ζωής. Φυσικά δεν έγινε κανένα θαύμα, μολονότι ο ασθενής έζησε σχεδόν ένα χρόνο μετά την αρχική εμφύτευση των κυττάρων, το Μάιο του 1989, αρκετά περισσότερο χρόνο από ό,τι είχε προβλεφθεί.

Περίληψη

Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA βρίσκει ευρύτατη εφαρμογή στη μαζική παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών, σημαντικότερες από τις οποίες είναι η ινσουλίνη, οι ιντερφερόνες, η αυξητική ορμόνη κ.ά. Η ανάπτυξη των ευαίσθητων τεχνικών παραγωγής και τροποποίησης των μονοκλωνικών αντισωμάτων δίνει τη δυνατότητα διάγνωσης ασθενειών πριν ακόμη εμφανιστούν τα συμπτώματά τους αλλά και τρόπους ανίχνευσης και θεραπείας διάφορων μορφών καρκίνου. Η βελτίωση της παραγωγής αντιβιοτικών και η παραγωγή νέων με μοναδικές ιδιότητες θα βοηθήσουν επίσης στη θεραπεία πολλών ασθενειών που οφείλονται σε

παθογόνους παράγοντες. Η ανάπτυξη νέων, πιο εξειδικευμένων και χωρίς παρενέργειες εμβολίων υπόσχεται καλύτερη πρόληψη πολλών ασθενειών, για τις οποίες ήδη υπάρχουν εμβόλια. Η δημιουργία νέων εμβολίων εναντίον ασθενειών για τις οποίες δεν υπάρχουν εμβόλια, όπως το AIDS και ο καρκίνος αρχίζει να γίνεται εφικτή. Τέλος, η γονιδιακή θεραπεία βοηθά στην αντιμετώπιση γενετικών ασθενειών με εισαγωγή φυσιολογικού γονιδίου, στα σωματικά κύτταρα του οργανισμού που πάσχει από την ασθένεια.
Το πρόγραμμα του ανθρώπινου γονιδιώματος είναι ένα τεράστιο ερευνητικό πρόγραμμα, που ξεκίνησε το 1986 και αποσκοπεί στην αποκρυπτογράφηση της αλληλουχί-

ας του DNA και τον εντοπισμό της θέσης των γονιδίων πάνω στα χρωμοσώματα. Η ολοκλήρωση αυτού του προγράμματος θα συμβάλει στην κατανόηση του τρόπου λειτουργίας του DNA και θα έχει πολυάριθμες εφαρμογές στην Ιατρική και στη Βιοτεχνολογία.

Εργασίες - Δραστηριότητες

Προετοιμάστε ένα μικρό λόγο διάρκειας τριών περίπου λεπτών που θα μπορούσε να παρουσιαστεί σε ραδιοφωνική εκπομπή με θέμα τη γονιδιακή θεραπεία. Αναφερθείτε στα επιμέρους προβλήματα και προοπτικές που δημιουργεί η τεχνική.

Ερωτήσεις

1. Ποια συστατικά χρειάζονται για να παραχθεί ανθρώπινη ινσουλίνη από κύτταρα E. coli;

2. Σε ένα ευκαρυωτικό κύτταρο παράγεται ινσουλίνη:
   α. Σε ποια θέση στο κύτταρο γίνονται η μεταγραφή και η μετάφραση;
   β. Στη Γενετική Μηχανική η ινσουλίνη παράγεται από mRNA και όχι από DNA. Γιατί;

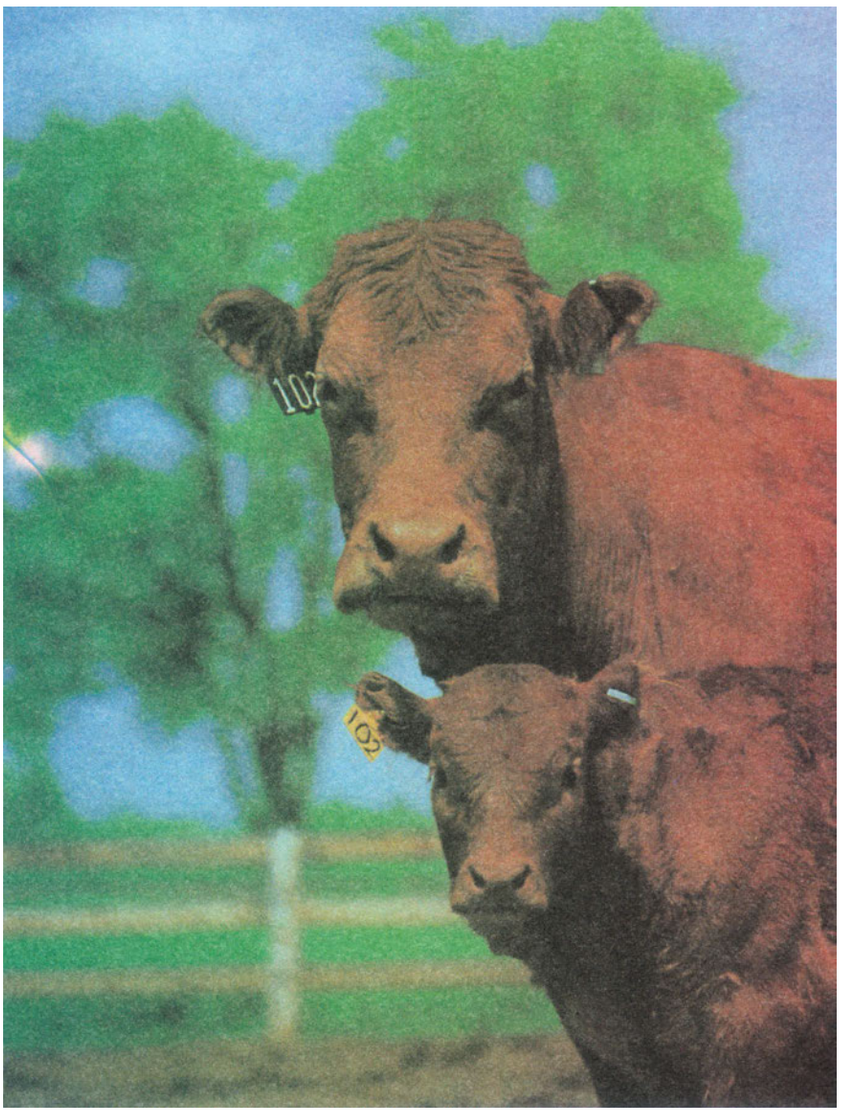
3. Παρότι ο ποντικός και ο αρουραίος δεν είναι κτηνοτροφικής σημασίας ζώα, καταναλώνονται υπέρογκα ποσά για τη χαρτογράφηση του γονιδιώματός τους. Γιατί πιστεύετε ότι συμβαίνει κάτι τέτοιο;

4. Αναφέρετε τα πλεονεκτήματα παραγωγής ανθρώπινης αυξητικής ορμόνης με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής σε σχέση με την εξαγωγή της από πτώματα.

5. Η ινσουλίνη ήταν η πρώτη πρωτεΐνη που παρήχθη με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής. Για ποιο λόγο νομίζετε ότι παρήχθη η ορμόνη αυτή;

6. Τι είναι τα εμβόλια-υπομονάδες;

Εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας στη γεωργία και την κτηνοτροφία



κεφάλαιο

9

Διαγονιδιακές αγελάδες

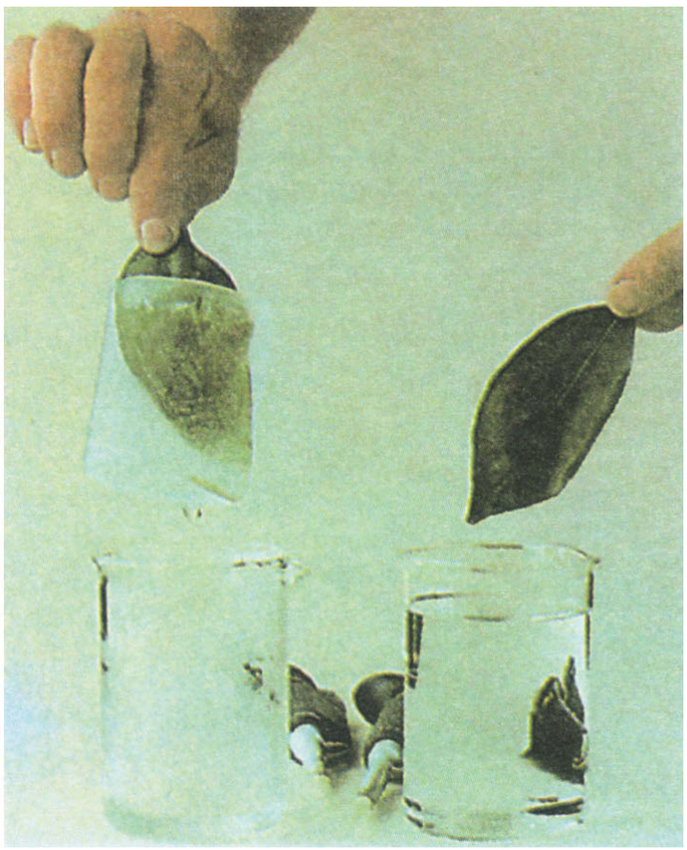
9. Εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας στη γεωργία και την κτηνοτροφία

Οι ελεγχόμενες διασταυρώσεις οδηγούν στην τροποποίηση της γενετικής σύστασης των οργανισμών

Ο πληθυσμός του πλανήτη μας αυξάνεται με ταχείς ρυθμούς. Σήμερα ο πληθυσμός είναι περίπου 6 δισεκατομμύρια, και υπολογίζεται ότι το 2050 θα ανέρχεται σε 8.5 δισεκατομμύρια. Για να καλυφθούν επαρκώς οι αυξημένες ανάγκες σε τροφή, είναι απαραίτητη η αύξηση της φυτικής και της ζωικής παραγωγής.

Ένας τρόπος βελτίωσης της φυτικής και ζωικής παραγωγής είναι οι ελεγχόμενες από τον άνθρωπο διασταυρώσεις φυτών και ζώων.

Για το σκοπό αυτό πραγματοποιείται **επιλογή** φυτών και ζώων που έχουν συγκεκριμένα χαρακτηριστικά, όπως φυτά με μεγάλο μέγεθος καρπών, με ανθεκτικότητα σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες (Εικόνα 9.1) ή ζώα που παράγουν μεγάλη ποσότητα κρέατος.



Εικόνα 9.1 Φύλλα φυτού που τροποποιήθηκε γενετικά για να είναι ανθεκτικό σε συνθήκες παγετού.

Οι οργανισμοί αυτοί **διασταυρώνονται** με σκοπό τη δημιουργία απογόνων με επιθυμητά χαρακτηριστικά. Αυτός ο τρόπος βελτίωσης της παραγωγής είναι χρονοβόρος και επίπονος, επειδή απαιτούνται συνεχείς διασταυρώσεις. Επιπλέον οι απόγονοι που προκύπτουν φέρουν συνήθως ορισμένους μόνο από τους επιθυμητούς χαρακτήρες μαζί με άλλες μη επιθυμητές ιδιότητες.

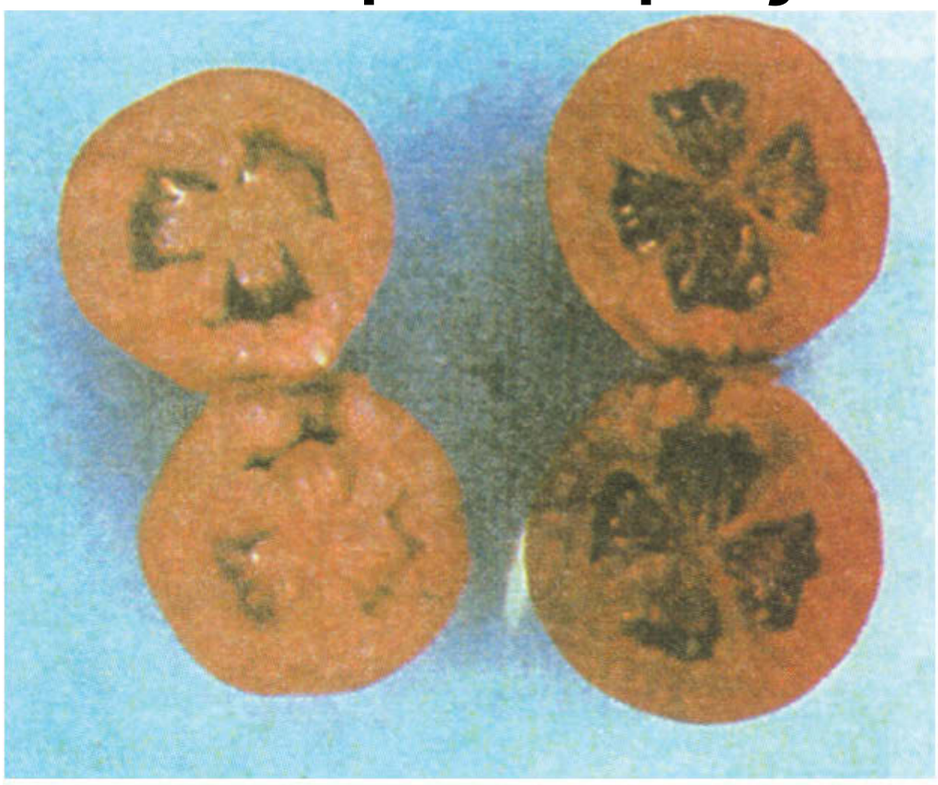
Η δημιουργία διαγονιδιακών οργανισμών ανοίγει νέους δρόμους στην αύξηση της φυτικής και ζωικής παραγωγής

Η Γενετική Μηχανική δίνει τη δυνατότητα προσθήκης νέων γονιδίων απευθείας στον οργανισμό. Καθιστά συνεπώς δυνατή σε σύντομο χρονικό διάστημα τη δημιουργία

γενετικά τροποποιημένων φυτών και ζώων, που έχουν τους επιθυμητούς χαρακτήρες όπως, για παράδειγμα, ανθεκτικότητα σε ασθένειες. Τα φυτά και τα ζώα που έχουν υποστεί γενετική αλλαγή με τη χρήση των τεχνικών Γενετικής Μηχανικής ονομάζονται **διαγονιδιακά ή γενετικά τροποποιημένα** (Εικόνα 9.2). Όπως ήταν αναμενόμενο, η παραγωγή και χρήση τους δημιουργεί διάφορους προβληματισμούς, που αφορούν τις επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου, καθώς και στο περιβάλλον. Τα ζητήματα αυτά θα συζητηθούν αναλυτικά στο τελευταίο κεφάλαιο του βιβλίου, που αναφέρεται σε θέματα Βιοηθικής.

Φυσιολογικές καλλιεργήσιμες τομάτες

Τομάτες γενετικά τροποποιημένες για βαθύτερο κόκκινο χρώμα από τις φυσιολογικές



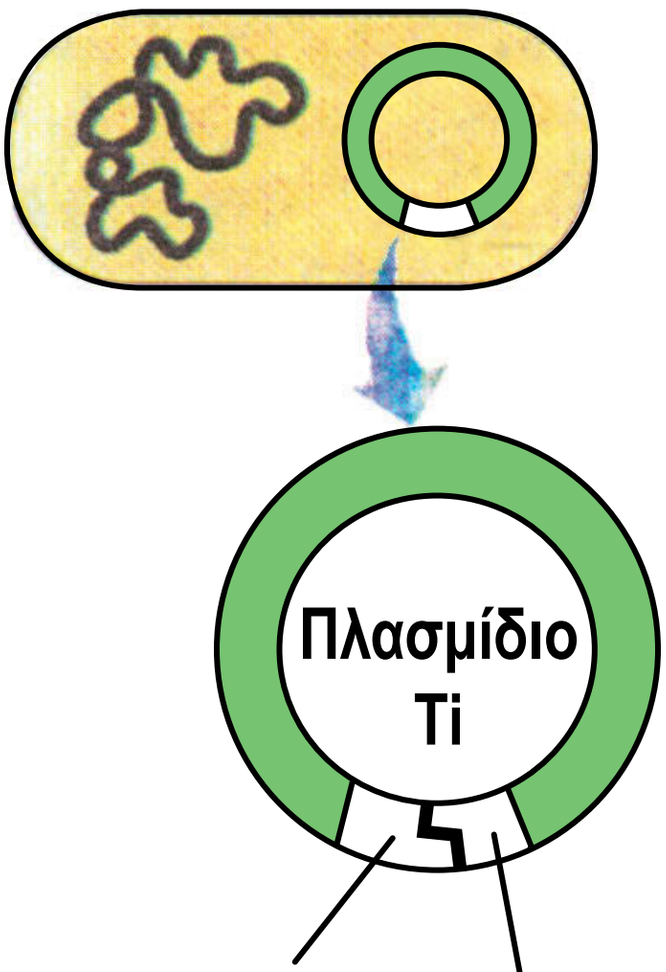
Εικόνα 9.2 Γενετικά τροποποιημένες τομάτες με βαθύτερο κόκκινο χρώμα σε σχέση με τις φυσιολογικές.

Το Agrobacterium μπορεί να μεταφέρει γονίδια στα φυτά

Το βακτήριο Agrobacterium tumefaciens, το οποίο ζει στο έδαφος, διαθέτει τη φυσική ικανότητα

να μολύνει φυτικά κύτταρα μεταφέροντας σ' αυτά ένα πλασμίδιο που ονομάζεται Ti (Ti = tumor inducing factor). Το **πλασμίδιο Ti** ενσωματώνεται στο γενετικό υλικό των φυτικών κυττάρων, και δημιουργεί εξογκώματα (όγκους) στο σώμα των φυτών. Οι ερευνητές, αφού απομόνωσαν το πλασμίδιο από το βακτήριο, κατόρθωσαν να απενεργοποιήσουν τα γονίδια που δημιουργούν τους όγκους τοποθετώντας στο πλασμίδιο το γονίδιο που θα προσδώσει στο φυτό μία επιθυμητή ιδιότητα (Εικόνα 9.3). Το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο εισάγεται σε φυτικά κύτταρα που αναπτύσσονται σε ειδικές καλλιέργειες στο εργαστήριο. Τα τροποποιημένα αυτά φυτικά κύτταρα τελικά δίνουν ένα νέο φυτικό οργανισμό, που περιέχει και εκφράζει το ξένο γονίδιο. Τα **διαγονιδιακά**

φυτά που δημιουργούνται έχουν την ικανότητα να μεταβιβάζουν τις νέες ιδιότητες στους απογόνους τους.



DNA που περιέχει γονίδια που δημιουργούν όγκους

Σημεία που κόβεται το DNA του πλασμιδίου

A

①

Κόψιμο με περιοριστική ενδονουκλεάση και σύνδεση με DNA του πλασμιδίου

A

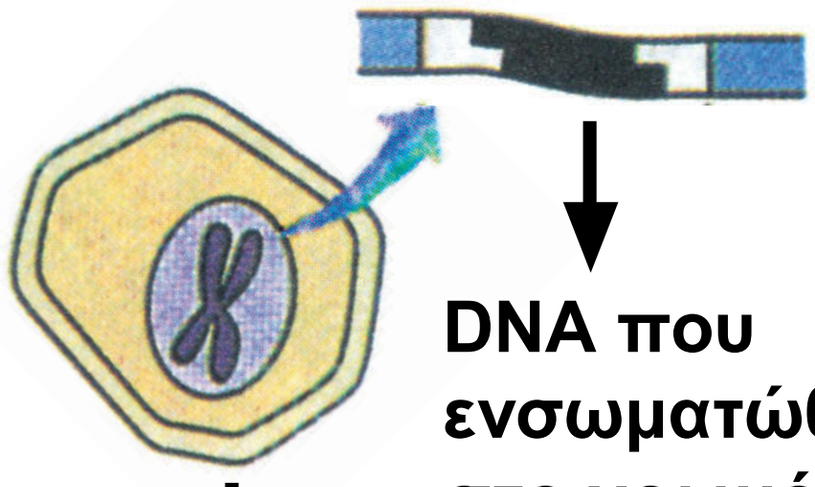
DNA που περιέχει το γονίδιο με την επιθυμητή ιδιότητα



Ανασυν-δυασμένο πλασμίδιο Ti

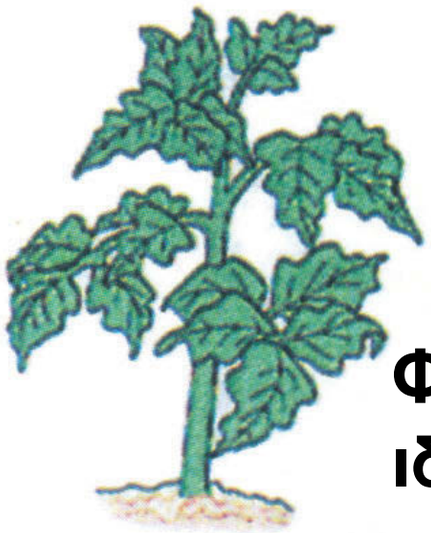
②

Εισαγωγή του πλασμιδίου σε φυτικά κύτταρα στην κυτταροκαλλιέργεια



DNA που ενσωματώθηκε στο χρωμόσωμα και περιέχει το γονίδιο με την επιθυμητή ιδιότητα

③ Ανάπτυξη νέου φυτού



Φυτό με νέες ιδιότητες

Εικόνα 9.3 Τρόπος χρήσης του πλασμιδίου Ti, που απομονώνεται από το βακτήριο Agrobacterium tumefaciens, **ως φορέα για την εισαγωγή γονιδίων στα φυτά.**



Εικόνα 9.4 Ψεκασμός με βακτήρια Bacillus thuringiensis για την καταπολέμηση εντόμων.

Η Βιοτεχνολογία βοηθάει στον τομέα της καταπολέμησης παρασίτων και εντόμων

Οι προσπάθειες των ερευνητών επικεντρώνονται στη δημιουργία γενετικά τροποποιημένων φυτών

τα οποία θα δίνουν τη δυνατότητα στους αγρότες:

- Να προφυλάσσουν αποτελεσματικά τις καλλιέργειες από τα έντομα και τα ζιζάνια.
- Να παράγουν προϊόντα τα οποία έχουν μεγαλύτερη «διάρκεια ζωής» από το χωράφι έως τον καταναλωτή.

Τα κυριότερα φυτά τα οποία έχουν τροποποιηθεί για τις παραπάνω ιδιότητες είναι η σόγια, το καλαμπόκι (για τροφή των ζώων), το βαμβάκι, ο καπνός και η ελαιοκράμβη.

Τα έντομα μπορεί να δημιουργήσουν μεγάλα προβλήματα στη γεωργία και να οδηγήσουν σε σημαντική μείωση της παραγωγής. Μετά το Δεύτερο Παγκόσμιο Πόλεμο χρησιμοποιήθηκαν πολλά εντομοκτόνα.

Με την πάροδο των χρόνων όμως έγινε κατανοητό ότι ήταν επικίνδυνα για την υγεία του ανθρώπου και προκαλούσαν μεγάλη οικολογική καταστροφή. Ήταν λοιπόν αναγκαίο να βρεθούν εναλλακτικοί τρόποι αντιμετώπισης του προβλήματος.

Το βακτήριο Bacillus thuringiensis, που ζει στο έδαφος, παράγει μια ισχυρή **τοξίνη**, η οποία μπορεί να καταστρέψει πολλά είδη εντόμων και σκωλήκων και είναι 80.000 φορές πιο ισχυρή από πολλά εντομοκτόνα. Τα βακτήρια αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την καταπολέμηση των εντόμων. Αρχικά πολλαπλασιάζονται στο εργαστήριο και στη συνέχεια ψεκάζονται στον αγρό (Εικόνα 9.4). Όμως η τεχνική αυτή είναι αρκετά δαπανηρή, επειδή τα βακτήρια δεν επιβιώνουν για μεγάλο χρονικό διάστημα και κατά

συνέπεια χρειάζονται συνεχείς ψεκασμοί. Για το λόγο αυτό έγιναν προσπάθειες απομόνωσης του γονιδίου του βακτηρίου που παράγει την τοξίνη, και μεταφοράς του στα φυτά. Η μεταφορά στα φυτά έγινε με τη βοήθεια του πλασμιδίου Ti του Agrobacterium tumefaciens**. Τα γενετικά τροποποιημένα φυτά θα είναι έτσι ανθεκτικά στα διάφορα έντομα (Εικόνα 9.5). Το πρώτο φυτό στο οποίο ενσωματώθηκε το γονίδιο της ανθεκτικότητας στα έντομα του** Bacillus thuringiensis **ήταν το καλαμπόκι. (Τα γενετικά τροποποιημένα φυτά αυτού του τύπου αποτελούν τις ποικιλίες Bt).**



Εικόνα 9.5 Φυσιολογικό (αριστερά) και γενετικά τροποποιημένο φυτό (δεξιά) το οποίο παράγει τοξίνη που σκοτώνει κάμπιες εντόμων. Όταν τα δύο αυτά φυτά εκτέθηκαν σε κάμπιες (α) το φυσιολογικό φαγώθηκε ενώ το γενετικά τροποποιημένο δεν δείχνει σημάδια καταστροφής (β).

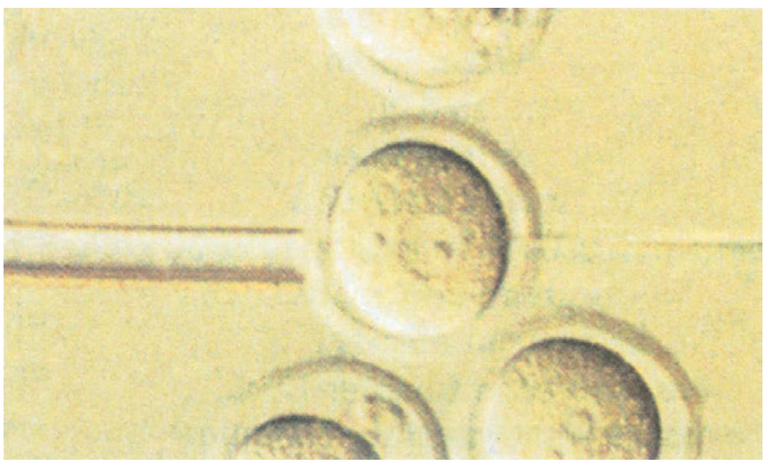
Η Βιοτεχνολογία με αριθμούς

Το 1998 η καλλιέργεια γενετικά τροποποιημένων φυτών έφτανε τα $27,4 \times 10^7$ στρέμματα. Το 74% αφορούσε καλλιέργειες στις ΗΠΑ και το 13% στην Αργεντινή.

Η τροποποίηση του γενετικού υλικού των ζώων είναι δυνατή με διάφορες τεχνικές

Διαγονιδιακά ονομάζονται τα ζώα εκείνα στα οποία έχει τροποποιηθεί το γενετικό υλικό τους με την προσθήκη γονιδίων, συνήθως από κάποιο άλλο είδος. Υπάρχουν αρκετές μέθοδοι, οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την είσοδο του «ξένου» DNA στα κύτταρα ενός ζώου. Η σημαντικότερη από αυτές είναι η **μικροέγχυση** (Εικόνα 9.6).

Στη μέθοδο αυτή χρησιμοποιούνται ωάρια του ζώου που έχουν γονιμοποιηθεί στο εργαστήριο. Σε αυτά γίνεται εισαγωγή του ξένου DNA με ειδική μικροβελόνα. Το ξένο γενετικό υλικό ενσωματώνεται συνήθως σε κάποιο από τα χρωμοσώματα του πυρήνα του ζυγωτού. Το ζυγωτό τοποθετείται στη συνέχεια στη μήτρα της «θετής» μητέρας, ενός ζώου στο οποίο θα αναπτυχθεί το έμβρυο. Η μικροέγχυση αποτελεί τη μοναδική μέθοδο δημιουργίας διαγονιδιακών αγελάδων, προβάτων, χοίρων και αιγών.



Εικόνα 9.6 Μικροέγχυση DNA.

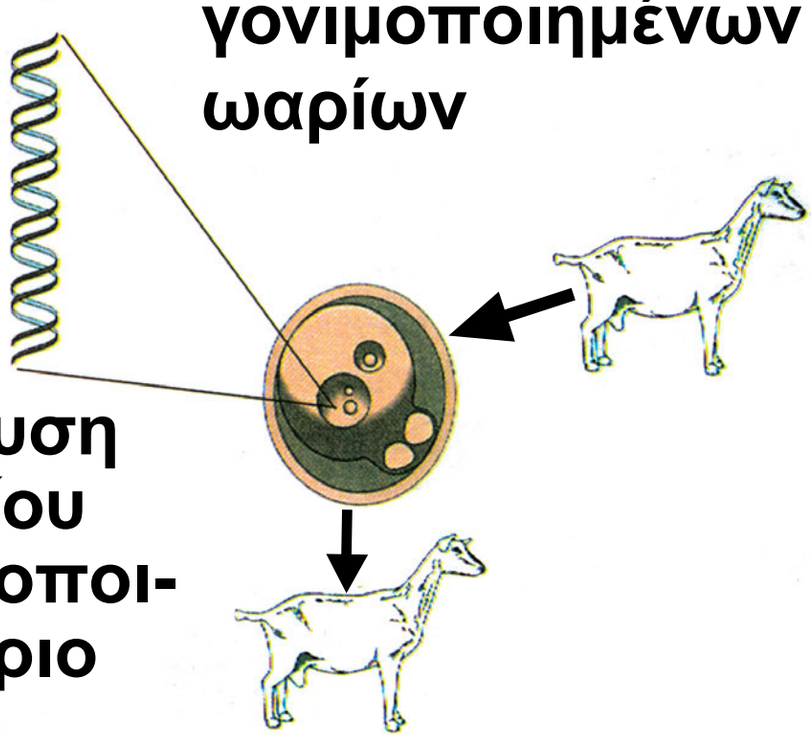
ΠΙΝΑΚΑΣ 9.1: Φυτικοί και ζωικοί οργανισμοί που έχουν τροποποιηθεί γενετικά για κάποιες ιδιότητες

Μηλιά	α	α. τοξίνη που σκοτώνει τα έντομα
Λάχανο	β	β. αντοχή στα ζιζανιοκτόνα
Βαμβάκι	α, β	γ. αντοχή σε αντιβιοτικά
Αγγούρι	δ	δ. αντοχή σε ιούς
Κουνουπίδι	δ	ε. διαφοροποίηση
Καλαμπόκι	α, β, δ, ε, στ	στ. αντίσταση στους μύκητες
Ελαιοκράμ-βη	α, β, γ, ζ	ζ. παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεΐνών
Πατάτα	β, δ, ε, ζ, η	η. αντοχή σε βακτήρια

Ρύζι	α, γ, ε	θ. αντοχή στον παγετό
Σόγια	β, ε	ι. καθυστέρηση ωρίμανσης
Φράουλα	β, θ	ια. ταχύτερη ανάπτυξη
Σακχαρό-τευτλο	β, δ, ε	ιβ. γονίδια για ασθένειες
Καπνός	α, β, γ, δ, ε, στ, θ	ιγ. αντοχή στις χαμηλές θερμοκρασίες
Τομάτα	α, β, δ, ε, στ, θ, ι	
Αγελάδα	ζ, ια	
Αίγα	ζ	
Γουρούνι	ζ, ια, ιβ	
Σολομός	ια, ιγ	
Πρόβατο	ζ	
Πέστροφα	ια	

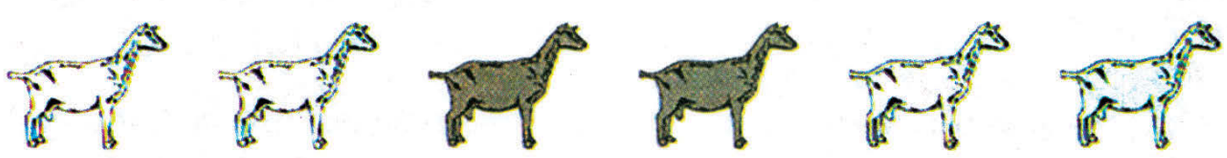
Απομόνωση γονιμοποιημένων ωαρίων

Γονίδιο που κωδικοποιεί την ΑΑΤ



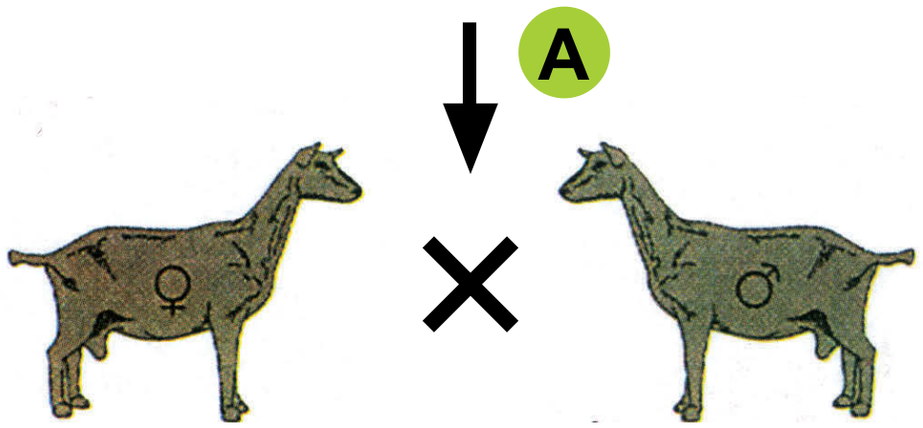
Μικροέγχυση του γονιδίου στο γονιμοποιημένο ωάριο

Μεταφορά των γονιμοποιημένων ωαρίων που περιέχουν το γονίδιο σε θετή μητέρα

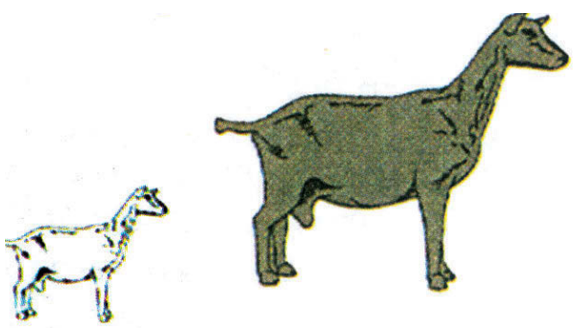


Έλεγχος απογόνων για την ύπαρξη του γονιδίου στην ΑΑΤ

A

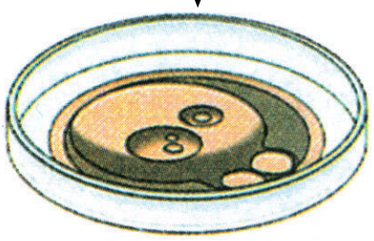


Διασταύρωση απογόνων που φέρουν το γονίδιο



Γενετικά τροποποιημένο θηλυκό άτομο που είναι ομόζυγο για το γονίδιο

Άρμεγμα γενετικά τροποποιημένου θηλυκού ατόμου



Έλεγχος γάλακτος για την ύπαρξη ΑΑΤ

Εικόνα 9.7 Στάδια παραγωγής φαρμακευτικών πρωτεϊνών στο γάλα διαγονιδιακών ζώων.

Στο γάλα των διαγονιδιακών ζώων μπορούν να εκκρίνονται φαρμακευτικές πρωτεΐνες

Τα **διαγονιδιακά** ζώα χρησιμοποιούνται για την παραγωγή χρήσιμων πρωτεϊνών σε μεγάλη ποσότητα. Όπως έχει ήδη αναφερθεί είναι δυνατή η παραγωγή πρωτεϊνών, όπως η ινσουλίνη και η ανθρώπινη αυξητική ορμόνη, από βακτήρια. Στις περισσότερες όμως περιπτώσεις οι πρωτεΐνες αυτές δεν είναι ακριβώς ίδιες με τις πρωτεΐνες του ανθρώπου, επειδή τα βακτήρια δεν διαθέτουν τους μηχανισμούς τροποποίησης των πρωτεϊνών που διαθέτουν οι ευκαρυωτικοί οργανισμοί. Μια πολλά υποσχόμενη ιδέα είναι η παραγωγή πρωτεϊνών από κύτταρα των μαστικών αδένων των ζώων, για παράδειγμα των προβάτων και

των αγελάδων. Με αυτό τον τρόπο θα είναι δυνατή η συλλογή της πρωτεΐνης από το γάλα των ζώων. Αυτός ο τρόπος παραγωγής ονομάζεται **παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών από διαγονιδιακά ζώα** (gene pharming).

Η πιο επιτυχημένη εφαρμογή αφορά την παραγωγή της ανθρώπινης α1-αντιθρυψίνης (AAT = alpha antitrypsin) από πρόβατα. Η πρωτεΐνη αυτή παράγεται στο ήπαρ του ανθρώπου και η απουσία της, που είναι αποτέλεσμα μετάλλαξης του γονιδίου, έχει ως αποτέλεσμα γενετική ασθένεια, που οδηγεί στο εμφύσημα. Για την παραγωγή της πρωτεΐνης αυτής από τα πρόβατα απομονώθηκε το φυσιολογικό γονίδιο της AAT του ανθρώπου και στη συνέχεια με μικροέγχυση τοποθετήθηκε σε γονιμοποιημένο ωάριο προβάτου.

Το πρόβατο που γεννήθηκε από το γονιμοποιημένο αυτό ωάριο ήταν η Tracy, της οποίας οι απόγονοι συνεχίζουν να έχουν το ξένο γονίδιο και να παράγουν την ΑΑΤ. Οι δυνατότητες παραγωγής τέτοιων ουσιών από διαγονιδιακά ζώα είναι πολύ μεγάλες (Εικόνα 9.7).

Εκτός από την ΑΑΤ, και άλλες χρήσιμες πρωτεΐνες παράγονται με τον ίδιο τρόπο, όπως ο παράγοντας IX, μία πρωτεΐνη που συμμετέχει στο μηχανισμό πήξης του αίματος και χορηγείται σε άτομα που πάσχουν από αιμορροφιλία Β (Πίνακας 9.2).

Συνοψίζοντας, θα μπορούσαμε να αναφέρουμε ότι τα βήματα που απαιτούνται για την παραγωγή μιας φαρμακευτικής πρωτεΐνης ανθρώπινης προέλευσης από ένα διαγονιδιακό ζώο είναι τα παρακάτω:

- Απομόνωση του ανθρώπινου γονιδίου που κωδικοποιεί τη φαρμακευτική πρωτεΐνη που μας ενδιαφέρει.
- Μικροέγχυση του γονιδίου στον πυρήνα ενός γονιμοποιημένου ωαρίου του ζώου.
- Τοποθέτηση του γενετικά τροποποιημένου ζυγωτού στη μήτρα ενήλικου ζώου για κυοφορία.
- Γέννηση του διαγονιδιακού ζώου.
- Διασταυρώσεις με σκοπό να περάσει η τροποποιημένη γενετική πληροφορία στους απογόνους.
- Παραγωγή, απομόνωση και καθαρισμός της φαρμακευτικής πρωτεΐνης.

Είναι φανερό ότι η χρησιμοποίηση διαγονιδιακών φυτών και ζώων για την αύξηση της φυτικής και ζωικής παραγωγής παρουσιάζει σημαντικά πλεονεκτήματα έναντι της κλασικής

μεθόδου των διασταυρώσεων. Αυτά επιγραμματικά είναι τα παρακάτω:

- Επιλογή και προσθήκη μόνο επιθυμητών ιδιοτήτων με ταυτόχρονη διατήρηση των παλαιών επιθυμητών χαρακτηριστικών.
- Ταχύτατη παραγωγή βελτιωμένων φυτών και ζώων σε σχέση με παραδοσιακές τεχνικές.

Σολομός γίγας

Πρόσφατα στον Καναδά ερευνητές κατόρθωσαν να εισαγάγουν στα κύτταρα σολομού ρυθμιστικό γονίδιο, από ένα είδος βακαλάου, το οποίο ενεργοποιεί το γονίδιο της αυξητικής ορμόνης του σολομού. Σε πειραματικές ιχθυοκαλλιέργειες στη Σκωτία, οι σολομοί αυτοί αναπτύσσονται δέκα φορές ταχύτερα από τους φυσιολογι-

κούς και φτάνουν το τριακοντα-πλάσιο βάρος από εκείνους.

ΠΙΝΑΚΑΣ 9.2: Φαρμακευτικές πρωτεΐνες που παράγονται από διαγονιδιακά ζώα

Πρωτεΐνη	Ασθένεια στην οποία χρησιμοποιείται
Ινσουλίνη	Σακχαρώδης διαβήτης
Παράγοντες VIII και IX	Αιμορροφιλία Α και Β
Ενεργοποιητής πλασμινογόνου (tPA)	θρόμβωση αγγείων, Έμφραγμα
Ιντερφερόνες	Καρκίνος
Διαμεμβρανικός ρυθμιστής	Κυστική ίνωση
α1-αντιθρυψίνη (AAT)	Πνευμονικό εμφύσημα
Παράγοντας CD4	AIDS
Αυξητική ορμόνη	Αχονδροπλασία

Η Βιοτεχνολογία με αριθμούς

Έχει αναφερθεί παραγωγή 35 γραμμαρίων α1-αντιθρυψίνης του ανθρώπου από ένα λίτρο γάλακτος διαγονιδιακού προβάτου. Αν συνυπολογιστεί ότι ένα πρόβατο παράγει μέχρι 800 λίτρα γάλα το χρόνο, είναι κατανοητό ότι η παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών από διαγονιδιακά ζώα είναι το περισσότερο υποσχόμενο επίτευγμα από τότε που γίνεται λόγος για σύγχρονη Βιοτεχνολογία.

Και ξαφνικά όλοι μιλάνε για κλωνοποίηση...

Το 1997, όταν οι ερευνητές του Ινστιτούτου Roselin της Σκωτίας ανακοίνωσαν ότι κλωνοποίησαν ένα

πρόβατο, το νέο έκανε αμέσως το γύρο του κόσμου με πηχυαίους τίτλους. Το πρόβατο Dolly δημιουργήθηκε, όταν ο πυρήνας ενός κυττάρου του μαστικού αδένα ενός εξάχρονου προβάτου τοποθετήθηκε στο ωάριο ενός άλλου προβάτου. Από το ωάριο είχε προηγουμένως αφαιρεθεί ο πυρήνας. Το έμβρυο το οποίο δημιουργήθηκε ύστερα από 3-4 διαιρέσεις εμφυτεύτηκε στη μήτρα θετής μητέρας-προβατίνας, η οποία γέννησε τη Dolly.

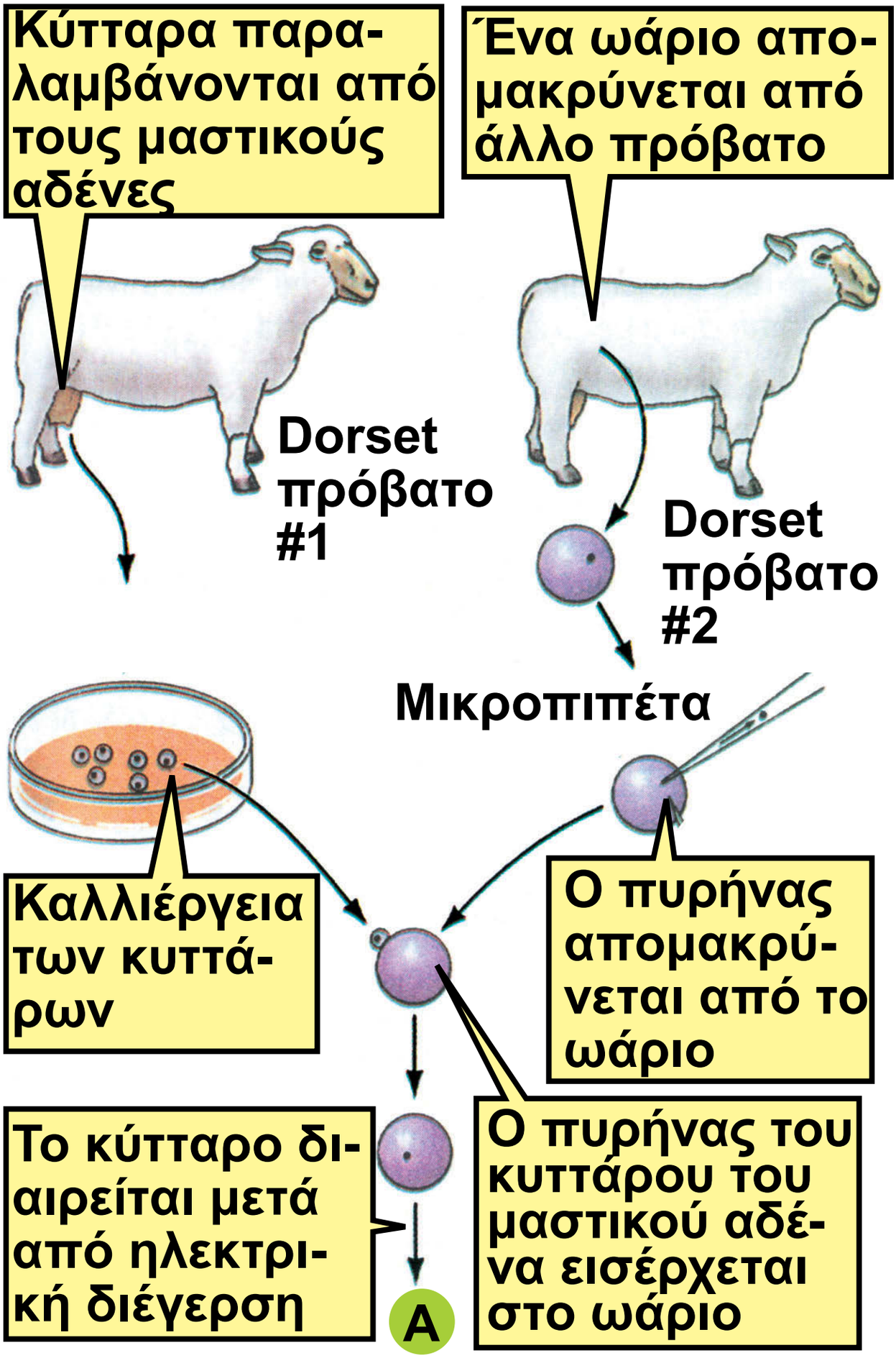
Η δημιουργία της Dolly δεν προξένησε έκπληξη στους βιολόγους όσο στον υπόλοιπο κόσμο, επειδή είχε προηγηθεί κλωνοποίηση αμφιβίων από την αρχή της δεκαετίας του 1960. Παρόμοια τεχνική χρησιμοποιήθηκε και για την κλωνοποίηση θηλαστικών.

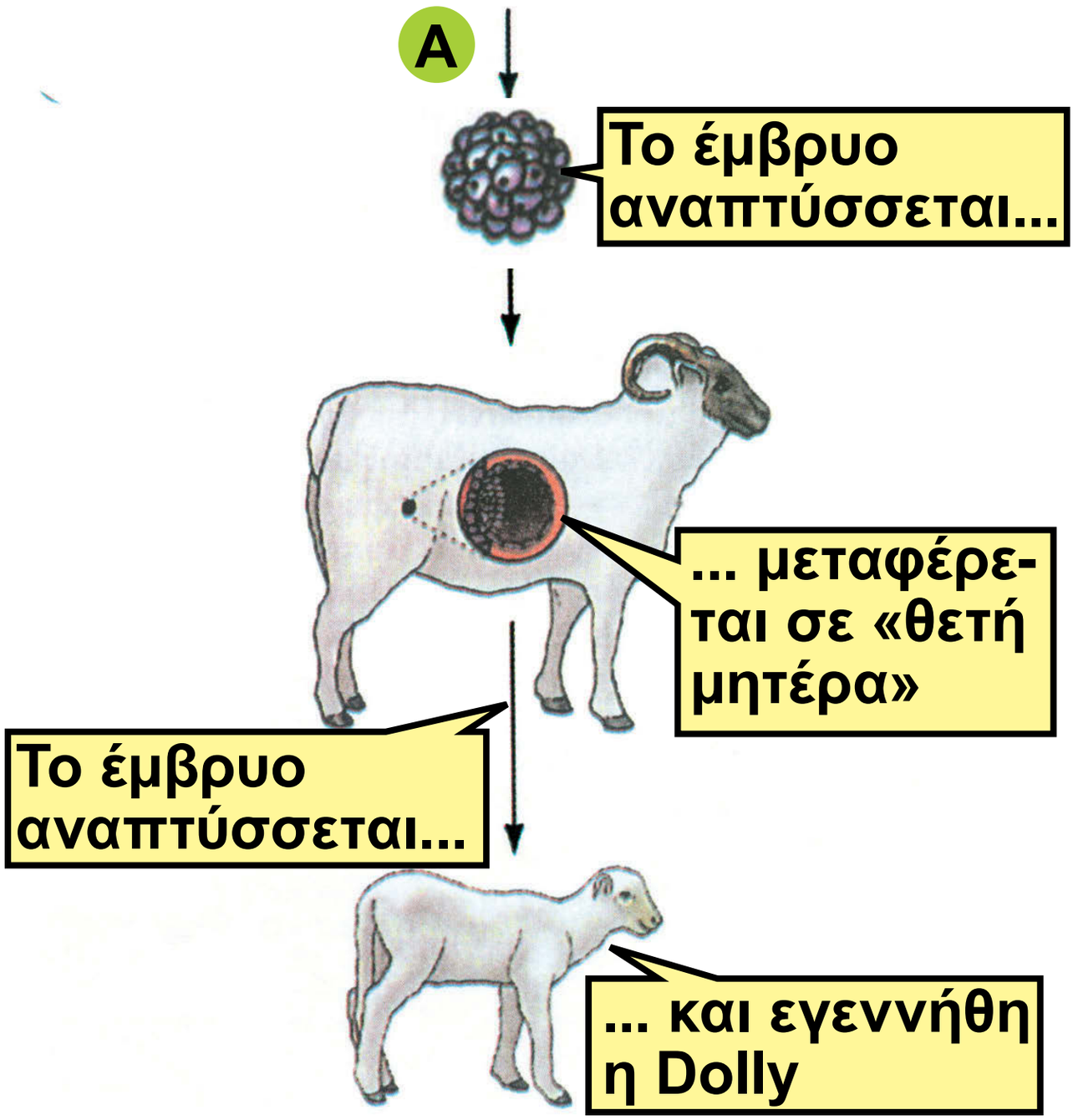
Η κλωνοποίηση όμως είναι πολύ χρήσιμη στον πολλαπλασιασμό διαγονιδιακών ζώων. Η δημιουργία ενός διαγονιδιακού ζώου που παράγει τον ανθρώπινο παράγοντα πήξης του αίματος, για παράδειγμα, κοστίζει 1-2 εκατομμύρια ευρώ. Με κλωνοποίηση μπορούν εύκολα να παραχθούν πολλά πανομοιότυπα ζώα και έτσι ακόμη μεγαλύτερες ποσότητες του φαρμάκου.

Η κλωνοποίηση μπορεί επίσης να συνεισφέρει στην προστασία από την εξαφάνιση διάφορων ζώων του πλανήτη μας. Στις καταψύξεις πολλών ζωολογικών κήπων υπάρχουν κατεψυγμένα ωάρια και σπερματοζωάρια ή έμβρυα ζώων που κινδυνεύουν να εξαφανιστούν. Πυρήνες από αυτά τα κύτταρα μπορούν να μεταφερθούν σε απύρηνα ωοκύττα-

ρα του είδους που μας ενδιαφέρει και στη συνέχεια να κυοφορηθούν στο ίδιο ή σε συγγενικό είδος ζώου.




Κύτταρα παραλαμβάνονται από τους μαστικούς αδένες
Ένα ωάριο απομακρύνεται από άλλο πρόβατο
Dorset πρόβατο #1
Dorset πρόβατο #2
Μικροπιπέτα
Καλλιέργεια των κυττάρων
Ο πυρήνας απομακρύνεται από το ωάριο
Το κύτταρο διαιρείται μετά από ηλεκτρική διέγερση
Ο πυρήνας του κυττάρου του μαστικού αδένα εισέρχεται στο ωάριο
A



Πρόβατο γενετικά όμοιο με το Dorset #1

Περίληψη

Η επιλογή και διασταύρωση οργανισμών με επιθυμητές ιδιότητες είναι μια μέθοδος που χρησιμοποιείται για την αύξηση της φυτικής και ζωικής παραγωγής. Η μέθοδος αυτή είναι επίπονη και πολλές φορές δε δίνει τα επιθυμητά αποτελέσματα. Με τη χρήση μεθόδων Γενετικής Μηχανικής είναι δυνατή η απευθείας μεταφορά στα φυτά και τα ζώα γενετικού υλικού που φέρει τις επιθυμητές ιδιότητες. Οι οργανισμοί που δημιουργούνται με αυτό τον τρόπο είναι γενετικά τροποποιημένοι και ονομάζονται διαγονιδιακοί ή γενετικά τροποποιημένοι. Για τη μεταφορά γενετικού υλικού σε μεγάλη κατηγορία φυτών χρησιμοποιείται το πλασμίδιο

Τι του βακτηρίου Agrobacterium tumefaciens. **Στα ζώα χρησιμοποιείται με σημαντικά ποσοστά επιτυχίας η τεχνική της μικροέγχυσης. Από διαγονιδιακά ζώα έχει επιτευχθεί η παραγωγή σημαντικών φαρμακευτικών πρωτεϊνών.**

Ερωτήσεις

1. Αναφέρετε από μία μέθοδο μεταφοράς γονιδίων σε φυτά και ζώα.

2. Αναφέρετε τις εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας στη φυτική παραγωγή.

3. Περιγράψτε τη μέθοδο με την οποία χρησιμοποιούνται βακτήρια με στόχο την εξολόθρευση

βλαβερών, για τις αγροτικές καλλιέργειες, εντόμων.

4. Με ποιον από τους παρακάτω τρόπους θα μπορούσε να προκύψει ένα μηρυκαστικό το οποίο να παράγει τον αντιπηκτικό παράγοντα IX στο γάλα του:
   α. Με τη μέθοδο της επιλογής και των διασταυρώσεων,
   β. Με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής.
   Αιτιολογήστε την απάντησή σας.

5. Για ποιο λόγο χρησιμοποιείται η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA σε οικόσιτα ζώα;

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ 6ου ΤΟΜΟΥ

7. Αρχές και μεθοδολογία της Βιοτεχνολογίας.....5

• Η Βιοτεχνολογία προσφέρει τη δυνατότητα χρησιμοποίησης των ζωντανών οργανισμών για την παραγωγή χρήσιμων προϊόντων.....7

• Οι μικροβιακές καλλιέργειες αποτελούν ένα σημαντικό εργαλείο για τη Βιοτεχνολογία.....12

• Οι μικροοργανισμοί μπορούν να αναπτυχθούν στο εργαστήριο και σε Βιομηχανική κλίμακα.....21

• Οι μικροοργανισμοί μπορούν να καλλιεργηθούν με διαφορετικούς τρόπους.....28

• Η παραλαβή των προϊόντων ζύμωσης απαιτεί τη χρησιμοποίηση σειράς τεχνικών καθαρισμού.....33

• Η παραγωγή της πενικιλίνης αποτελεί σημαντικό σταθμό στην πορεία

της Βιοτεχνολογίας.....37
• Περίληψη.....39
• Ερωτήσεις.....45

8. Εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας στην Ιατρική.....53
• Πλήθος “φαρμακευτικών” πρωτεϊνών συντίθενται από βακτήρια με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής.....57
• Μονοκλωνικά αντισώματα.....69
• Εμβόλια.....81
• Αντιβιοτικα.....89
• Γονιδιακή θεραπεια.....91
• Το πρόγραμμα του ανθρώπινου γονιδιώματος.....106
• Περίληψη.....123
• Ερωτήσεις.....126

9. Εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας στη γεωργία και την κτηνοτροφία.....129
• Οι ελεγχόμενες διασταυρώσεις

οδηγούν στην τροποποίηση της γενετικής σύστασης των οργανισμών.....130
• Η δημιουργία διαγονιδιακών οργανισμών ανοίγει νέους δρόμους στην αύξηση της φυτικής και ζωικής παραγωγής.....132
• Το Agrobacterium μπορεί να μεταφέρει γονίδια στα φυτά.....134
• Η Βιοτεχνολογία βοηθάει στον τομέα της καταπολέμησης παρασίτων και εντόμων.....139
• Η τροποποίηση του γενετικού υλικού των ζώων είναι δυνατή με διάφορες τεχνικές.....144
• Στο γάλα των διαγονιδιακών ζώων μπορούν να εκκρίνονται φαρμακευτικές πρωτεΐνες.....150
• Και ξαφνικά όλοι μιλάνε για κλωνοποίηση 156
• Περίληψη.....162
• Ερωτήσεις.....163

Βάσει του ν. 3966/2011 τα διδακτικά βιβλία του Δημοτικού, του Γυμνασίου, του Λυκείου, των ΕΠΑ.Λ. και των ΕΠΑ.Σ. τυπώνονται από το ΙΤΥΕ - ΔΙΟΦΑΝΤΟΣ και διανέμονται δωρεάν στα Δημόσια Σχολεία. Τα βιβλία μπορεί να διατίθενται προς πώληση, όταν φέρουν στη δεξιά κάτω γωνία του εμπροσθόφυλλου ένδειξη «ΔΙΑΤΙΘΕΤΑΙ ΜΕ ΤΙΜΗ ΠΩΛΗΣΗΣ». Κάθε αντίτυπο που διατίθεται προς πώληση και δεν φέρει την παραπάνω ένδειξη θεωρείται κλεψίτυπο και ο παραβάτης διώκεται σύμφωνα με τις διατάξεις του άρθρου 7 του νόμου 1129 της 15/21 Μαρτίου 1946 (ΦΕΚ 1946,108, Α΄).

Απαγορεύεται η αναπαραγωγή οποιουδήποτε τμήματος αυτού του βιβλίου, που καλύπτεται από δικαιώματα (copyright), ή η χρήση του σε οποιαδήποτε μορφή, χωρίς τη γραπτή άδεια του Υπουργείου Παιδείας, Θρησκευμάτων και Αθλητισμού / ΙΤΥΕ - ΔΙΟΦΑΝΤΟΣ.