

ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΣΤΗ ΓΕΩΡΓΙΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΤΗΝΟΤΡΟΦΙΑ

- Η αύξηση του πληθυσμού αύξησε τις ανάγκες σε ζωική – φυτική παραγωγή
- 1) έλεγχος διασταυρώσεων:
επιλογή οργανισμών με επιθυμητές ιδιότητες
Διασταύρωση με στόχο δημιουργία απογόνου με επιθυμητές ιδιότητες
- Προβλήματα:
χρονοβόρος – επίπονη μέθοδος
Κληρονόμηση και μη επιθυμητών χαρακτηριστικών

ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΣΤΗ ΓΕΩΡΓΙΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΤΗΝΟΤΡΟΦΙΑ

- 2) διαγονιδιακοί οργανισμοί:

Προσθήκη νέων γονιδίων (φορέων μόνο των επιθυμητών ιδιοτήτων) απευθείας στον οργανισμό

Δημιουργία σε **σύντομο** χρονικό διάστημα γενετικά τροποποιημένων οργανισμών με **επιθυμητές ιδιότητες**

ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΣΤΗ ΓΕΩΡΓΙΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΤΗΝΟΤΡΟΦΙΑ

- ΣΤΟΧΟΙ:
- φυτά και ζώα με ανθεκτικότητα σε ασθένειες
- Φυτά με ανθεκτικότητα σε έντομα – ζιζανιοκτόνα
- Φυτά με μεγάλη διάρκεια ζωής μέχρι να φτάσουν στον καταναλωτή
- Ζώα ικανά να παράγουν φαρμακευτικές πρωτεΐνες

ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΦΥΤΑ

- Βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens* διαθέτει πλασμίδιο Ti
- Ζει στο έδαφος και προκαλεί όγκους στα φυτά
- Απομόνωση πλασμίδιο Ti από το βακτήριο
- Απομόνωση και κλωνοποίηση γονιδίου που φέρει την επιθυμητή ιδιότητα
- Κόψιμο πλασμιδίου με περιοριστική ενδονουκλεάση στα σημεία που απενεργοποιούν τα γονίδια που δημιουργούν τους όγκους στα φυτά.

ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΦΥΤΑ

- Είσοδος γονιδίου με επιθυμητή ιδιότητα στο πλασμίδιο (DNA δεσμάσεις)
- Με την είσοδο – απενεργοποίηση όγκου
- Εισαγωγή ανασυνδυασμένου πλασμιδίου σε φυτικά κύτταρα που αναπτύσσονται σε κυτταροκαλλιέργεια
- Ενσωμάτωση επιθυμητού γονιδίου σε κάποιο χρωμόσωμα του φυτού
- Ανάπτυξη φυτού και μεταφορά της επιθυμητής ιδιότητας και στους απογόνους

ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΦΥΤΑ - εφαρμογές

- Φυτά ανθεκτικά σε ζιζάνια και έντομα
- Φυτά με μεγάλη διάρκεια ζωής από το χωράφι μέχρι να φτάσουν στον καταναλωτή
- Σόγια, καλαμπόκι (για τροφή ζώων), βαμβάκι, καπνός, ελαιοκράμβη
- Εναλλακτικά της χρήσης εντομοκτόνων που αποτελούν οικολογική καταστροφή και προβλήματα υγείας

ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΦΥΤΑ

- Bacillus thuringiensis: βακτήριο που παράγει τοξίνη που καταστρέφει έντομα – σκώληκες
- Πολλαπλασιασμός στο εργαστήριο
- Ψεκασμός του βακτηρίου στον αγρό
- Δαπανηρός τρόπος
- Είναι απαραίτητες συνεχείς επαναλήψεις των ψεκασμών

ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΦΥΤΑ

- Απομόνωση γονιδίου τοξίνης από *Bacillus thuringiensis*
- Είσοδός του σε πλασμίδιο Ti (*Agrobacterium tumefaciens*) με χρήση περιοριστικής ενδονουκλεάσης και DNA δεσμάσης
- Διαγονιδιακά φυτά ανθεκτικά σε έντομα όπως η ποικιλία καλαμποκιού Bt

ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΖΩΑ

- Το γενετικό τους υλικό έχει τροποποιηθεί με την προσθήκη γονιδίων που προέρχονται από άλλο είδος
- Μικροέγχυση: είσοδος ξένου DNA στα κύτταρα των ζώων - τεχνική
 - 1) Απομόνωση και κλωνοποίηση γονιδίου με επιθυμητές ιδιότητες από το DNA του δότη
 - 2) Απομόνωση ωαρίων του δότη και τεχνητή γονιμοποίηση

ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΖΩΑ

3) Εισαγωγή ξένου DNA στα γονιμοποιημένα ωάρια με μικροβελόνα (όχι χρήση φορέα)

4) Ενσωμάτωση τυχαία σε κάποιο χρωμόσωμα του ξένου DNA στο ζυγωτό

5) Τοποθέτηση ζυγωτού στη μήτρα θετής μητέρας

Ζώα που χρησιμοποιούνται: χοίροι, αγελάδες, αίγες, πρόβατα

ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΖΩΑ - εφαρμογές

- Πλεονέκτημα στην παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών με αυτή τη μέθοδο καθώς τα βακτήρια στερούνται μετα – μεταφραστικών τροποποιήσεων
- **Gene pharming**: παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών από διαγονιδιακά ζώα
- Παραγωγή από κύτταρα μαστικών αδένων (πρόβατα - αγελάδες)
- Οι φαρμακευτικές πρωτεΐνες εκκρίνονται και συλλέγονται στο γάλα των ζώων (παραγωγή σε μεγάλες ποσότητες)

ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΖΩΑ – α1 αντιθρυψίνη

- α1–αντιθρυψίνη: παράγεται στο ήπαρ και έλλειψή της προκαλεί εμφύσημα
- Απομόνωση και κλωνοποίηση γονιδίου AAT ανθρώπου
- Μικροέγχυση γονιδίου σε πυρήνα γονιμοποιημένου ωαρίου προβάτου
- Μεταφορά γονιμοποιημένου ωαρίου σε θετή μητέρα
- Γέννηση ζώου (Tracy) και έλεγχος απογόνων για την ύπαρξη του επιθυμητού γονιδίου

ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΖΩΑ – α1 αντιθρυψίνη

- Κατάλληλες διασταυρώσεις προκειμένου να περάσει η ιδιότητα στους απογόνους
- Επιλογή απογόνων που φέρουν το γονίδιο σε ομόζυγη κατάσταση
- Άρμεγμα γενετικά τροποποιημένου ζώου
- Παραγωγή , απομόνωση και καθαρισμός φαρμακευτικής πρωτεΐνης στο γάλα του ζώου
- Παράγοντας IX, ινσουλίνη, αυξητική ορμόνη κ.α.

ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ

- Παραλαβή κυττάρων από μαστικούς αδένες 6χρονου προβάτου (Α)
- Παραλαβή ωαρίου από άλλο πρόβατο (Β)
- Τοποθέτηση πυρήνα μαστικού κυττάρου στο ωάριο
- Επαγωγή κυτταρικής διαίρεσης (3-4 διαιρέσεις)
- Ανάπτυξη εμβρύου και εμφύτευση σε μήτρα προβάτου (Γ)
- Γέννηση Dolly (κλώνος προβάτου Α)

ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ – εφαρμογές

- Παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών από κλωνοποιημένα ζώα
- «δημιουργία» διαγονιδιακών ζώων ιδιαίτερα ακριβή – κλωνοποίηση μειώνει το κόστος
- Προστασία ειδών υπό εξαφάνιση – Jurassic Park
- Κατεψυγμένα ωάρια – σπερματοζωάρια - έμβρυα