

9. Στοιχεία Θεωρίας

A. Ορολογία

Επιλεκτικές διασταυρώσεις: οι διασταυρώσεις που πραγματοποιούνται ανάμεσα σε άτομα του ίδιου είδους με σκοπό την απόκτηση απογόνων οι οποίοι να συγκεντρώνουν μεγάλο αριθμό επιθυμητών χαρακτηριστικών.

Διαγονιδιακοί ή γενετικά τροποποιημένοι οργανισμοί: ονομάζονται οι οργανισμοί εκείνοι που έχουν υποστεί γενετική αλλαγή και περιέχουν γονίδια άλλων οργανισμών συνήθως διαφορετικών ειδών, κάτι που επιτυγχάνεται με τη χρήση τεχνικών Γενετικής Μηχανικής.

Πλασμίδιο Ti: πλασμίδιο που περιέχεται στο βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens* και περιέχει και γονίδια που προκαλούν όγκους στο σώμα των φυτών όπου εισέρχεται το πλασμίδιο.

Φυτά ποικιλίας Bt: γενετικά τροποποιημένα φυτά στο γενετικό υλικό των οποίων έχει ενσωματωθεί το γονίδιο του *Bacillus thuringiensis* που κωδικοποιεί την τοξίνη του βακτηρίου.

Μικροέγχυση: η μέθοδος κατά την οποία με τη βοήθεια ειδικής μικροβελόνας εισάγεται στα γονιμοποιημένα ωάρια ενός ζώου γονίδιο από κάποιο άλλο είδος.

α_1 – αντιθρυψίνη (AAT): πρωτεΐνη του ανθρώπου η οποία παράγεται στο ήπαρ και είναι απαραίτητη για τη φυσιολογική λειτουργία των πνευμόνων. Η απουσία της οδηγεί στο εμφύσημα. Είναι η πρώτη πρωτεΐνη που παράχθηκε στο γάλα διαγονιδιακών ζώων.

Παράγοντας IX: πρωτεΐνη που συμμετέχει στο μηχανισμό πήξης του αίματος. Η απουσία του προκαλεί την αιμορροφιλία B.

B. Παρουσίαση της θεωρίας

Τροποποίηση της γενετικής σύστασης των οργανισμών

► Τροποποίηση της γενετικής σύστασης των οργανισμών με ελεγχόμενες διασταυρώσεις

- Επιλογή φυτών και ζώων που έχουν συγκεκριμένα χαρακτηριστικά (π.χ. φυτά με μεγάλο μέγεθος καρπών ή με ανθεκτικότητα σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες ή ζώα που παράγουν μεγάλες ποσότητες κρέατος ή γάλακτος)
- Διασταύρωση των οργανισμών που έχουν επιλεγεί με σκοπό τη δημιουργία απογόνων με επιθυμητά χαρακτηριστικά.

► Χαρακτηριστικά της μεθόδου των διασταυρώσεων για επιλογή χαρακτηριστικών

- Είναι χρονοβόρος τρόπος βελτίωσης της παραγωγής αφού απαιτούνται συνεχείς διασταυρώσεις.
- Οι απόγονοι συνήθως φέρουν ορισμένους από τους επιθυμητούς χαρακτήρες.
- Οι απόγονοι που προκύπτουν μπορεί να φέρουν και μη επιθυμητές ιδιότητες.

► **Τροποποίηση της γενετικής σύστασης των οργανισμών με τις μεθόδους της γενετικής μηχανικής**

- Προσθήκη νέων γονιδίων απευθείας στον οργανισμό σε σύντομο χρονικό διάστημα. (Γενετική Μηχανική)
- Δημιουργία **γενετικά τροποποιημένων ή διαγονιδιακών** οργανισμών με τους επιθυμητούς χαρακτήρες οι οποίοι μπορεί να προέρχονται συχνά από άλλα είδη οργανισμών (κάτι που δεν μπορεί να γίνει μέσω διασταυρώσεων).
- Προκύπτουν προβληματισμοί για τις επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου καθώς και στο περιβάλλον.

Διαγονιδιακά φυτά

► **Μεταφορά γονιδίων στα φυτά με το βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens*.**

- Το βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens* ζει στο έδαφος και μολύνει φυτικά κύτταρα μεταφέροντας σε αυτά ένα πλασμίδιο που ονομάζεται Ti.
- Το πλασμίδιο Ti ενσωματώνεται στο γενετικό υλικό των φυτικών κυττάρων και δημιουργεί όγκους στο σώμα των φυτών.
- Απομόνωση του πλασμιδίου από το βακτήριο.
- Απενεργοποίηση των γονιδίων που προκαλούν τους όγκους κόβοντας με ενδονουκλεάση που η αλληλουχία που αναγνωρίζει βρίσκεται μέσα στο γονίδιο.
- Κλωνοποίηση και απομόνωση του γονιδίου για την επιθυμητή ιδιότητα.
- Ενσωμάτωση του γονιδίου για την επιθυμητή ιδιότητα στο πλασμίδιο. (Τοποθέτηση μονόκλωνων άκρων στο γονίδιο – Προσθήκη DNA δεσμάσης και ανάμιξη με πλασμίδια – Επιλογή των ανασυνδυασμένων πλασμιδίων με μόρια ανιχνευτές).

- Εισαγωγή ανασυνδυασμένων πλασμιδίων και ενσωμάτωση στο γονιδίωμα ορισμένων φυτικών κυττάρων.
- Επιλογή των φυτικών κυττάρων που έχουν δεχτεί τα ανασυνδυασμένα πλασμίδια Ti.
- Το κάθε φυτικό κύτταρο μπορεί να εξελιχτεί σε φυτικό οργανισμό ο οποίος έχει σε όλα τα κύτταρά του την επιθυμητή ιδιότητα και την οποία μπορεί να μεταβιβάσει στους απογόνους του.

► **Εφαρμογές των διαγονιδιακών φυτών στην καταπολέμηση παρασίτων και εντόμων.**

- Το βακτήριο *Bacillus thuringiensis* ζει στο έδαφος και παράγει μια τοξίνη που μπορεί να καταστρέψει πολλά είδη εντόμων και σκωλήκων.
- Απομονώνεται το γονίδιο που παράγει την τοξίνη.
- Με τη βοήθεια του πλασμιδίου Ti του *Agrobacterium tumefaciens* με τη μεθοδολογία που αναφέρθηκε προηγουμένως, το γονίδιο για την τοξίνη ενσωματώνεται στο γενετικό υλικό των φυτών. Τα γενετικά τροποποιημένα φυτά αυτού του τύπου αποτελούν τις **πουκιλίες Bt**.

► **Πλεονεκτήματα των πουκιλιών Bt**

- ✓ Η τοξίνη του Bt είναι βιοδιασπώμενη και δε συσσωρεύεται στους οργανισμούς, σε αντίθεση με παλαιότερα εντομοκτόνα (πχ DDT).
- ✓ Δε απαιτούνται συνεχείς ψεκασμοί, γιατί η ιδιότητα της παραγωγής της είναι μόνιμη στα φυτά.
- ✓ Η τοξίνη είναι 80.000 φορές πιο ισχυρή από πολλά εντομοκτόνα.

- Άλλες σκοπιμότητες των γενετικά τροποποιημένων φυτών.
- Παραγωγή προϊόντων τα οποία να έχουν μεγάλη διάρκεια ζωής από την παραγωγή ως τον καταναλωτή.
- Παραγωγή καρπών με μεγαλύτερο μέγεθος.
- Φυτά ανθεκτικά σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες.
- Τομάτες με πιο κόκκινο χρώμα (εικόνα σελ.131 σχολικού βιβλίου).

Διαγονιδιακά ζώα

► Τεχνικές για την τροποποίηση του γενετικού υλικού των ζώων

Διαγονιδιακά ονομάζονται τα ζώα εκείνα στα οποία έχει τροποποιηθεί το γενετικό υλικό τους με την προσθήκη γονιδίων συνήθως από κάποιο άλλο είδος.

Μικροέγχυση (Είναι η μοναδική μέθοδος δημιουργίας διαγονιδιακών αγελάδων, προβάτων, χοίρων και αιγών).

- Χρησιμοποίηση γονιμοποιημένων ωαρίων ζώου που έχουν γονιμοποιηθεί στο εργαστήριο.
- Εισαγωγή του ξένου DNA με ειδική μικροβελόνα.
- Το γενετικό υλικό συνήθως ενσωματώνεται σε κάποιο από τα χρωμοσώματα του πυρήνα του ζυγωτού.
- Το ζυγωτό τοποθετείται στη μήτρα της «θετής» μητέρας (ενήλικο ζώο) στο οποίο θα αναπτυχθεί το έμβρυο.
- Γέννηση του διαγονιδιακού ζώου.
- Διασταυρώσεις με σκοπό να περάσει η τροποποιημένη γενετική πληροφορία στους απογόνους.
- Παραγωγή, απομόνωση και καθαρισμός της φαρμακευτικής πρωτεΐνης από το γάλα του θηλυκού ατόμου.

► Πλεονεκτήματα των γενετικά τροποποιημένων οργανισμών έναντι της κλασικής μεθόδου των διασταυρώσεων.

- Επιλογή και προσθήκη μόνο των επιθυμητών ιδιοτήτων με ταυτόχρονη διατήρηση των παλαιών επιθυμητών χαρακτηριστικών.
- Παραγωγή βελτιωμένων φυτών και ζώων σε σχέση με παραδοσιακές τεχνικές.
- Ο οργανισμός αποκτά την επιθυμητή ιδιότητα άμεσα και όχι μετά από μεγάλο χρονικό διάστημα.
- Μέ τις παραδοσιακές μεθόδους επιλογής και διασταυρώσεων δεν θα ήταν ποτέ δυνατόν να παραχθούν διαγονιδιακοί οργανισμοί που φέρουν ανθρώπινα γονίδια για παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών ή γενικότερα οργανισμοί που να φέρουν γονίδια από άλλα είδη.

► Στόχοι της γενετικής τροποποίησης των ζώων:

- ✓ Βελτίωση των κτηνοτροφικών τους ιδιοτήτων (παραγωγή γάλακτος, κρέατος, κλπ).
- ✓ Εισαγωγή ανθρώπινων γονιδίων για την παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών, πχ α₁-αντιθρυψίνη.

► Πλεονεκτήματα της παραγωγής πρωτεϊνών από διαγονιδιακά ζώα έναντι της παραγωγής της από βακτήρια (cDNA βιβλιοθήκη)

Τα βακτήρια δε διαθέτουν τους μηχανισμούς ωρίμανσης των πρωτεϊνών μετά την παραγωγή τους, που διαθέτουν οι ευκαρυωτικοί οργανισμοί. Η πρωτεΐνη που παράγεται από διαγονιδιακά ζώα είναι τροποποιημένη και βιολογικά λειτουργική όπως αυτή που παράγεται από τα ανθρώπινα κύτταρα.

► **Προβλήματα που πρέπει να αντιμετωπιστούν για την παραγωγή μιας ανθρώπινης πρωτεΐνης σε διαγονιδιακό ζώο**

- ✓ Πρέπει να βρεθεί μια τεχνική παραλαβής του επιθυμητού προϊόντος. Αυτό λύνεται με το να εκφράζεται το γονίδιο στα κύτταρα του μαστικού αδένα. Το προϊόν παραλαμβάνεται από το γάλα του ζώου και απομονώνεται.
- ✓ Η παραπάνω λύση είναι απαραίτητη για να μην επηρεαστεί παράλληλα η υγεία του ζώου λόγω της παραγωγής της ανθρώπινης πρωτεΐνης. Π.χ. η ανθρώπινη ινσουλίνη δεν εμπλέκεται στις μεταβολικές λειτουργίες του διαγονιδιακού ζώου, γιατί εκκρίνεται.
- ✓ Πρέπει να επιτευχθεί η παραγωγή ζώων ομόζυγων για το επιθυμητό γονίδιο, ώστε από τη διασταύρωσή τους να προκύπτουν 100% άτομα με το επιθυμητό γονίδιο. Αυτό είναι δύσκολο, γιατί ένα ζώο που περιέχει μια φορά το γονίδιο, λειτουργεί ως ετερόζυγο (στο ομόλογο χρωμόσωμα δεν θα έχει αλληλόμορφο για την ιδιότητα, αφού αυτή είναι ξένη για τον οργανισμό του). Ακόμα κι αν ένα άτομο έχει 2 φορές το γονίδιο, δεν είναι σίγουρα ομόζυγο, γιατί τα γονίδια πιθανότατα θα έχουν ενσωματωθεί σε διαφορετικά, μη ομόλογα, χρωμοσώματα.

Παρατηρήσεις πάνω στη θεωρία του 9^{ου} κεφαλαίου

- 1. Ενώ τα πλασμίδια αντιγράφονται ανεξάρτητα μέσα στα βακτηριακά κύτταρα, το πλασμίδιο Τίενσωματώνεται στο γονιδίωμα του φυτικού κυττάρου το οποίο μολύνει.
- 2. Το ζυγωτό δεν μπορεί να εμφυτευθεί στη μήτρα και να εξασφαλιστεί έτσι η ανάπτυξη του εμβρύου. Μόνο το «έμβρυο» που προκύπτει μετά από 3 – 4 διαιρέσεις μπορεί να εμφυτευθεί στη μήτρα και έτσι να συνεχιστεί η αναπτυξιακή του πορεία.
- 3. Σχηματική απεικόνιση της δημιουργίας διαγονιδιακού φυτού τομάτας που διαθέτει γονίδιο που προέρχεται από το καρότο:

