

ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ

Στη Γεωργία &
Κτηνοτροφία

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ

- Αναπόσπαστο κομμάτι της Βιοτεχνολογίας, από την αρχαιότητα μέχρι σήμερα, είναι η προσπάθεια για τροποποίηση («βελτίωση») των ζωντανών οργανισμών που χρησιμοποιεί ο άνθρωπος.
- Στόχος των προσπαθειών αυτών είναι η κάλυψη των ολοένα αυξανόμενων αναγκών του ολοένα αυξανόμενου ανθρώπινου πληθυσμού.
- Οι οργανισμοί τροποποιούνται ώστε να:
 - Είναι πιο ανθεκτικοί
 - Να παράγουν μεγαλύτερη ποσότητα προϊόντων
 - Να παράγουν καλύτερα ή διαφορετικά προϊόντα

ΜΕΘΟΔΟΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗΣ

■ Επιλεκτικές Διασταυρώσεις

- Ελεγχόμενες διασταυρώσεις ζώων ή φυτών με επιθυμητά χαρακτηριστικά, προκειμένου αυτά να ενταθούν ή να συγκεντρωθούν στους απογόνους
- Είναι μέθοδος κλασσική, φτηνή, χωρίς απαιτήσεις υποδομής και τεχνολογίας
- Είναι μέθοδος επίπονη και χρονοβόρα, απαιτώντας μεγάλο αριθμό διασταυρώσεων για την επίτευξη του επιθυμητού αποτελέσματος
- Είναι πρακτικά αδύνατο να συνδυαστούν όλα τα επιθυμητά χαρακτηριστικά και να εξαλειφθούν όλα τα μη επιθυμητά με τη μέθοδο αυτή.

■ Γενετική Μηχανική

- Μας δίνει τη δυνατότητα απευθείας προσθήκης νέων γονιδίων σε ένα οργανισμό, είτε στη φάση του ζυγωτού, είτε και σε ώριμο άτομο
- Προσθήκη νέων χαρακτήρων χωρίς απώλεια κανενός προϋπάρχοντος.
- Ταχεία παραγωγή «διαγονιδιακών» ή «γενετικά τροποποιημένων» οργανισμών με όλους τους επιθυμητούς χαρακτήρες.
- Η παραγωγή και χρήση διαγονιδιακών οργανισμών μπορεί να έχει απρόβλεπτες ή/και δυσάρεστες επιπτώσεις στην υγεία των ανθρώπων και στην ισορροπία του περιβάλλοντος

ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΦΥΤΑ

- Το βακτήριο του εδάφους *Agrobacterium tumefaciens* έχει την ικανότητα να μεταφέρει στο πυρηνικό DNA φυτικών κυττάρων που μολύνει γονίδια από ένα πλασμίδιο που περιέχει. Το πλασμίδιο αυτό ονομάστηκε Ti (tumor inducing) από την ικανότητά των μεταφερόμενων γονιδίων να προκαλούν όγκους στο σώμα των φυτών.
- Η απομόνωση του πλασμιδίου Ti έχει επιτρέψει τη χρήση του ως φορέα DNA για τον μετασχηματισμό φυτικών κυττάρων.
- Χρήση αρχικά σε καπνό, εσπεριδοειδή (δικοτυλήδονα) και αργότερα σε δημητριακά, ρύζι (μονοκοτυλήδονα) και ντομάτες, πατάτες, δέντρα (δικοτυλήδονα).

ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΦΥΤΑ

■ Διαδικασία:

- Απομόνωση πλασμιδίου Ti
 - Απενεργοποίηση γονιδίων που δημιουργούν όγκους (συγχρόνως με την):
 - Προσθήκη γονιδίου επιθυμητής ιδιότητας (και γονιδίου-ανιχνευτή που προσδίδει ανθεκτικότητα σε κάποιο αντιβιοτικό ή ζιζανιοκτόνο)
 - Εισαγωγή πλασμιδίου (σε βακτήρια *Agrobacterium tumefaciens* και από εκεί) σε φυτικά κύτταρα.
 - (Επιλογή και) καλλιέργεια μετασχηματισμένων κυττάρων
 - Ανάπτυξη μετασχηματισμένων κυττάρων σε διαγονιδιακά φυτά
- Με τον τρόπο αυτό το νέο γονίδιο θα υπάρχει σε όλα τα κύτταρα του νέου φυτού και άρα θα είναι κληρονομήσιμο.

ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΠΑΡΑΣΙΤΩΝ & ΕΝΤΟΜΩΝ

- Η αντιμετώπισή των εντόμων και άλλων παρασίτων με χρήση εντομοκτόνων μετά το Β' Παγκόσμιο Πόλεμο αποδείχτηκε επικίνδυνη για την υγεία του ανθρώπου και το περιβάλλον.
- Το βακτήριο του εδάφους *Bacillus thuringiensis* παράγει μια φυσική τοξίνη που είναι 80.000 φορές πιο ισχυρή από τα εντομοκτόνα στην καταπολέμηση εντόμων και σκωλήκων.
- Λύση 1^η
 - Το βακτήριο καλλιεργείται εργαστηριακά και ψεκάζεται στους αγρούς.
 - Η μικρή διάρκεια ζωής των βακτηρίων απαιτεί επανειλημμένους ψεκασμούς και καταντά πολύ ακριβή.
- Λύση 2^η
 - Απομόνωση του γονιδίου της τοξίνης.
 - Χρήση πλασμιδίου Ti για τη δημιουργία γονιδιακών φυτών (πρώτη εφαρμογή στο καλαμπόκι) που φέρουν την τοξίνη (φυτά Bt).

ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΠΑΡΑΣΙΤΩΝ & ΕΝΤΟΜΩΝ

- Η καταπολέμηση των παρασίτων με μεθόδους βιοτεχνολογίας στοχεύει στη δημιουργία διαγονιδιακών φυτών που:
 - Αντιστέκονται αποτελεσματικά στα έντομα και τα ζιζάνια των καλλιεργειών που δημιουργούν προβλήματα στη γεωργία και μειώνουν την παραγωγή.
 - Παράγουν προϊόντα ανθεκτικά στη δράση των αποικοδομητών που έχουν μεγαλύτερη διάρκεια «ζωής» από το χωράφι στον καταναλωτή.
- Οι ιδιότητες αυτές έχουν δοθεί επιτυχώς σε διαγονιδιακές ποικιλίες:

■ (Σόγιας)	■ Βαμβακιού	■ Καλαμποκιού για ζωοτροφές
■ (Καπνού)	■ Πατάτας	
■ (Ελαιοκράμβης)	■ Ντομάτας	

ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΖΩΑ

- Τα διαγονιδιακά (γενετικά τροποποιημένα) ζώα φέρουν ξένο DNA, συχνά από άλλο είδος.
- Η σημαντικότερη μέθοδος δημιουργίας διαγονιδιακών ζώων είναι η μικροέγχυση.
- Η μικροέγχυση είναι η μοναδική μέθοδος δημιουργίας διαγονιδιακών αγελάδων, χοίρων, αιγών & προβάτων.

- Διαδικασία

- Εργαστηριακή (in vitro) γονιμοποίηση ωαρίου
- Εισαγωγή ξένου DNA στον πυρήνα του ζυγωτού με μικροπιπέττα (μικροβελόνα)
- Ενσωμάτωση του ξένου DNA σε κάποιο πυρηνικά χρωμόσωμα
- Εμφύτευση ζυγωτού σε «θετή» μητέρα
- Γέννηση διαγονιδιακού ζώου

Το νέο γονίδιο θα υπάρχει σε όλα τα κύτταρα (κληρονομήσιμο)

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΑΠΟ ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΖΩΑ (GENE FARMING)

- Αν και η μοντέρνα βιοτεχνολογία μας δίνει τη δυνατότητα μετάφρασης ανθρώπινων γονιδίων από βακτήρια (π.χ. ινσουλίνη και αυξητική ορμόνη – δεξ κεφάλαιο 8), οι παραγόμενες πρωτεΐνες μπορεί να διαφέρουν από τις ανθρώπινες καθώς:
- Οι προκαρυωτικοί οργανισμοί δεν έχουν τους ίδιους μηχανισμούς μετα-μεταφραστικής τροποποίησης των πρωτεϊνών.
- Λύση: παραγωγή διαγονιδιακών ζώων που εκφράζουν το ανθρώπινο γονίδιο στα κύτταρα των μαστικών αδένων τους.
- Η ανθρώπινη πρωτεΐνη θα περιέχεται στο γάλα του ζώου.
- Παραδείγματα:
 - Η α1-αντιθρυψίνη (AAT), πρωτεΐνη του ήπατος της οποίας η έλλειψη λόγω μετάλλαξης προκαλεί εμφύσημα, παράγεται από πρόβατα σε ποσότητα που αγγίζει τα 35gr AAT ανά lt γάλατος.
 - Ο παράγοντας πήξης του αίματος IX, που απουσιάζει από άτομα που πάσχουν από αιμορροφιλία B, παράγεται με παρόμοιο τρόπο.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ GENE FARMING

Η παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών από διαγονιδιακά ζώα ακολουθεί την εξής βασική διαδικασία:

1. Απομόνωση του ανθρώπινου γονιδίου που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη που θέλουμε να παράγουμε
2. Μικροέγχυση του γονιδίου στον πυρήνα ενός ζυγωτού
3. Εμφύτευση του ζυγωτού στη μήτρα θετής μητέρας
4. Γέννηση διαγονιδιακού ζώου.
5. Πολλαπλασιασμός διαγονιδιακού ζώου με προσεκτικές διασταυρώσεις
6. Παραγωγή πρωτεΐνης στο γάλα σε μεγάλη κλίμακα
7. Απομόνωση και καθαρισμός της πρωτεΐνης

ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ

- Οι πρώτες επιβεβαιωμένες κλωνοποιήσεις ενήλικων ζώων έγιναν το 1962 (αμφίβιο) και 1963 (ψάρι)
- Η πρώτη κλωνοποίηση θηλαστικού έγινε το 1986 (ποντίκι).
- Η πιο διάσημη κλωνοποίηση ενήλικου ατόμου ήταν το πρόβατο Dolly το 1997.
- Έκτοτε έχουν κλωνοποιηθεί αρκετά ακόμη είδη ζώων.
- Όλες οι επιτυχείς κλωνοποιήσεις ενήλικων ατόμων έχουν ακολουθήσει την ίδια μέθοδο:
 - Αφαίρεση του πυρήνα ενός ωοκυττάρου.
 - Εμφύτευση στο ωοκύτταρο του πυρήνα ενός σωματικού κυττάρου -στην περίπτωση της Dolly ήταν πυρήνας κυττάρου μαστικού αδένος
 - Εμφύτευση του νέου εμβρύου σε θετή μητέρα έπειτα από 3-4 διαιρέσεις (επάγονται με ηλεκτρικό ερεθισμό)

ΧΡΗΣΙΜΟΤΗΤΑ ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗΣ

■ Διαγονιδιακά ζώα

- Η δημιουργία ενός διαγονιδιακού ζώου είναι πολύπλοκη και ακριβή διαδικασία
 - Το κόστος της δημιουργίας διαγονιδιακού ζώου που παράγει τον ανθρώπινο παράγοντα πήξης του αίματος υπολογίζεται σε 1-2 εκατομμύρια ευρώ.
- Η κλωνοποίηση είναι συχνά ο πιο αξιόπιστος τρόπος πολλαπλασιασμού ενός διαγονιδιακού ζώου που εξασφαλίζει τη διατήρηση όλων και μόνο των επιθυμητών χαρακτήρων

■ Ζώα υπό κίνδυνο εξαφάνισης ή εξαφανισμένα

- Πολλοί ζωολογικοί κήποι διατηρούν καταψυγμένα ωάρια, σπερματοζωάρια, έμβρυα ή δείγματα ιστών ζώων που κινδυνεύουν με εξαφάνιση
- Τα κύτταρα αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για κλωνοποίηση χρησιμοποιώντας θετές μητέρες του ίδιου ή και συγγενικών ειδών.