

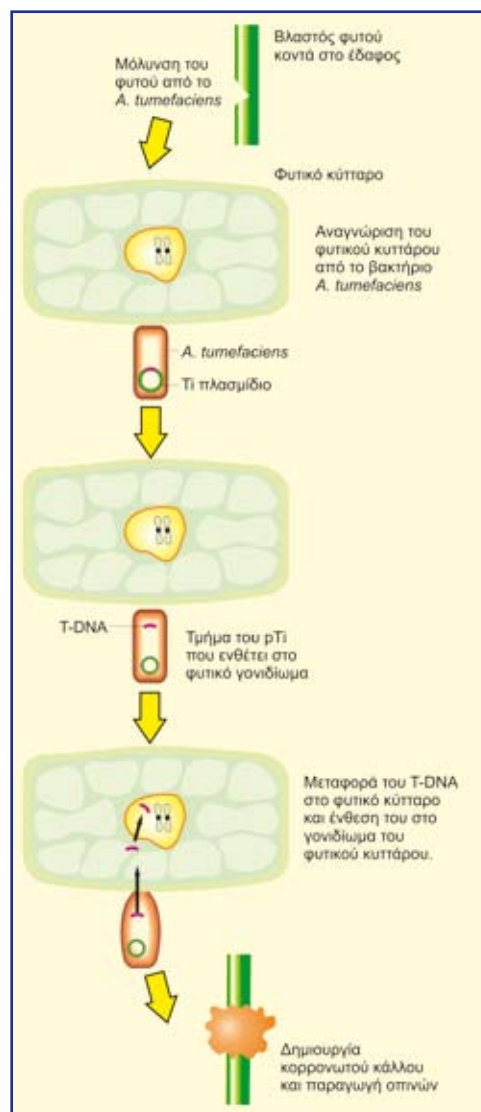
# ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΣΤΗ ΓΕΩΡΓΙΑ & ΤΗΝ ΚΤΗΝΟΤΡΟΦΙΑ



## ΟΡΟΛΟΓΙΑ – ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΘΕΩΡΙΑΣ

**$\alpha_1$ -ΑΝΤΙΘΡΥΨΙΝΗ:** Πρόκειται για μία πρωτεΐνη 394 αμινοξέων, η οποία παράγεται στο ήπαρ και η έλλειψή της έχει ως αποτέλεσμα γενετική ασθένεια, που οδηγεί στο εμφύσημα. Συγκεκριμένα η  $\alpha_1$ -αντιθρυψίνη είναι ένα ένζυμο με δράση αντιπρωτεάσης. Οι αντιπρωτεάσες είναι ένζυμα που σταματούν τη δράση άλλων ενζύμων που λέγονται πρωτεάσες. Η υπερβολική δράση των πρωτεάσεων καταστρέφει τις κυψελίδες των πνευμόνων και οδηγεί σε εμφύσημα (βλέπε αντίστοιχο όρο).

***Agrobacterium tumefaciens*:** Βακτήριο του γένους *Agrobacterium*, που διαβίει στο έδαφος και είναι φυτοπαθόγONO. Προκαλεί την νεοπλασία των φυτών που ονομάζεται **κορονωτός κάλλος**. Η δημιουργία του κο-ρωνωτού κάλλου οφείλεται στη δράση ορισμένων γονιδίων του βακτηρίου τα οποία μεταφέρονται στο φυτό. Οι αλληλεπιδράσεις του βακτηρίου με το φυτικό κύτταρο είναι το μόνο γνωστό παράδειγμα στη φύση όπου λαμβάνει χώρα μεταφορά γενετικού υλικού μεταξύ βακτηρίων και φυτών. Κατά τη διεργασία αυτή μεταφέρεται γενετικό υλικό (τμήμα του πλασμιδίου Ti) από το βακτήριο στον πυρήνα του φυτικού κυττάρου. Η μεταφορά των ονομαζόμενων ογκογενετικών γονιδίων από το πλασμίδιο του βακτηρίου στο φυτό, επάγει τη δημιουργία του κορονωτού κάλλου. Τα κύτταρα του κάλλου υπερπαραγάγουν ασυνήθιστα αμινοξέα



Εικ. 9.1: *Agrobacterium tumefaciens*, μόλυνση φυτού.

και σάκχαρα (οπίνες), από τα οποία τρέφεται το βακτήριο (βλέπε και Υποδειγματικά απατημένες ερωτήσεις, ερωτ. 1).

**ΑΙΜΟΡΡΟΦΙΛΙΑ Β:** Βλέπε τον όρο Αιμορροφιλία κεφ. 5.

**ΑΜΦΙΒΙΑ:** Ζώα που διαβιούν στο νερό και στην ξηρά, όπως είναι ο βάτραχος και οι σαλαμάνδρες.

**ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΦΥΤΩΝ:** Προκαλούνται από μικρόβια π.χ. ιούς, βακτήρια, μύκητες. Τα ασθενή φυτά εμφανίζουν απόκλιση από την κανονικότητα στην εκδήλωση φυσιολογικών βιοχημικών και μοριακών διεργασιών του φυτού, σε βαθμό που μπορούν να προκαλέσουν μέχρι και τη διακοπή της ζωτικής δραστηριότητας του φυτού.

**ΑΑΤ:** Συνώνυμος όρος με την α<sub>7</sub>-αντιθρυψίνη.

**Bacillus thuringiensis:** Βακτήριο του γένους *Bacillus*, που διαβιεί στο έδαφος, και είναι εντομοπαθόγιο, εξαιτίας της δ-ενδοτοξίνης που παράγει. Η τοξίνη αυτή είναι χιλιάδες φορές πιο δραστική από τα χημικά εντομοκτόνα, έναντι διαφόρων εντομών και σκωλήκων. Συγκεκριμένα, η τοξίνη λειτουργεί ως δηλητήριο του στομάχου των εντόμων καθώς προσδένεται σε πρωτεΐνες-υποδοχείς των κυττάρων και διαταράσσει την φυσιολογική ροή ιόντων εκατέρωθεν της κυτταροπλασματικής μεμβράνης. Για τον λόγο αυτό, το γονίδιο του βακτηρίου που κωδικοποιεί για την δ-ενδοτοξίνη απομονώθηκε και κλωνοποιήθηκε σε φυτά. Τα διαγονιδιακά αυτά φυτά (ποικιλίες Bt) φέρουν ανθεκτικότητα έναντι φυτοφάγων εχθρών.

**Bt ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ:** Γενετικά τροποποιημένα φυτά (π.χ. αραβόσιτος), στα οποία έχει ενσωματωθεί το γονίδιο της τοξίνης από το βακτήριο *Bacillus thuringiensis*. Το γονίδιο αυτό (και κατ'επέκταση η έκφρασή του και η παραγωγή της αντίστοιχης τοξικής πρωτεΐνης έναντι των εντόμων) προσδίδει ανθεκτικότητα έναντι των φυτοφάγων εχθρών, στα τροποποιημένα φυτά.

**ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΒΕΛΤΙΩΣΗ:** Τομέας της επιστήμης της Γεωπονίας που στόχο έχει την βελτίωση των κληρονομικών χαρακτηριστικών των καλλιεργούμενων φυτών (π.χ. σιτηρά, κηπευτικά) και εκτρεφόμενων ζώων (π.χ. βοοειδή, αιγοπρόβατα) όσον αφορά στην οικονομική τους αξία.

**ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟΙ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ (GMO's):** Είναι οι οργανισμοί που έχουν δημιουργηθεί με τεχνικές Γενετικής Μηχανικής και περιέχουν γονίδια από άλλον οργανισμό, συνήθως διαφορετικού είδους. (βλέπε τόμος Α', κεφ. 4 ορολογία)

**DOLLY:** Το πρώτο θηλαστικό (πρόβατο), κλώνος ενός διαγονιδιακού ενήλικου θηλυκού ζώου.



Εικ. 9.2: Κορωνώτς κάλλος, σε φυτό μολυσμένο από *A. tumefaciens*



Εικ. 9.3: Η Dolly και η χρωμοσωμική της μητέρα.



Φυσιολογικά τα πρόβατα, ως ανώτεροι ζωικοί οργανισμοί, αναπαράγονται αμφιγονικά. Προϋπόθεση για να κλωνοποιηθεί ένας τέτοιος οργανισμός είναι η μονογονική αναπαραγωγή. Δυστυχώς, οι μέχρι πρωτίτερα προσπάθειες για τη μονογονική αναπαραγωγή τέτοιων οργανισμών είχαν αποτύχει. Κύρια αιτία αυτής της αποτυχίας ήταν η δυσκολία στην κατανόηση και τον έλεγχο της κυτταρικής διαφοροποίησης (βλέπε *όρο, Διαφοροποίηση κυτταρική, κεφ. 2*). Για να γίνει κατανοητό το παραπάνω, αρκεί να αναφέρουμε πως η μονογονική αναπαραγωγή ενός πολυκύτταρου οργανισμού προϋποθέτει την αποδιαφοροποίηση ενός διαφοροποιημένου κυττάρου του και την συνακόλουθη μετατροπή του σε διαιρούμενο κύτταρο. Το κύτταρο αυτό, θα μπορέσει έτσι να αποτελέσει το πρώτο κύτταρο του νέου οργανισμού (του κλώνου). Η επιτυχία στη δημιουργία της Dolly οφείλεται ακριβώς στο γεγονός ότι οι επιστήμονες κατάφεραν να δημιουργήσουν αποδιαφοροποιημένα κύτταρα. Τα κύτταρα αυτά προήλθαν από τους ιστούς του μαστού ενός προβάτου-δότη. Πυρήνας ενός τέτοιου κυττάρου απομονώθηκε και συντήχθηκε με το απύρηνω ωάριο ενός δεύτερου προβάτου. Μετά από μερικές διαιρέσεις σε κυτταροκαλλιέργεια, τα κύτταρα που προέκυψαν τοποθετήθηκαν στη μήτρα ενός τρίτου θηλυκού προβάτου. Το τελευταίο μετά την κύηση γέννησε την Dolly. Η Dolly αποτελεί κλώνο του προβάτου από το οποίο ελήφθει το μαστικό κύτταρο. Για να αποδειχθεί το παραπάνω, ως πρόβατο-δότης επιλέχθηκε ένα διαγονιδιακό ζώο (παρήγαγε ινσουλίνη στο γάλα του). Ακριβώς την ίδια ιδιότητα έφερε και η Dolly (βλέπε *ένθετο, Κλωνοποίηση ενήλικων θηλαστικών*).

**ΕΛΑΙΟΚΡΑΜΒΗ (*Brassica napus*):** Είναι ετήσιο φυτό της οικογένειας των Σταυρανθών. Καλλιεργείται κυρίως ως πρώτη ύλη για την παραγωγή ελαίου. Θεωρείται παγκοσμίως ως το τρίτο σημαντικότερο ελαιοπαραγωγικό φυτό και ένα από τα κυριότερα φυτά για την παραγωγή βιοκαυσίμων.

**ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΕΣ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΣΕΙΣ (ΕΠΙΛΕΚΤΙΚΕΣ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΣΕΙΣ):** Διασταυρώσεις που γίνονται με σκοπό την απόκτηση απογόνων που θα έχουν βελτιστοποιημένες, επιθυμητές ιδιότητες. Για να επιτευχθεί το παραπάνω, μετά από κάθε διασταύρωση μεταξύ επιλεγμένων ατόμων επιλέγονται οι καταλληλότεροι απόγονοι (αυτοί που φέρουν τους βέλτιστους συνδυασμούς γενετικών χαρακτηριστικών) και ακολουθεί νέα σειρά διασταυρώσεων κ.ο.κ. Αυτό που πρέπει να γίνει κατανοητό, είναι πως τα βελτιωμένα γενετικά χαρακτηριστικά δεν δημιουργούνται εκ νέου. Αντίθετα, προϋπάρχουν στον πληθυσμό (σε διαφορετικά άτομα). Οι επιλεκτικές διασταυρώσεις έχουν σαν σκοπό να συνδυάσουν τα καλύτερα από αυτά τα χαρακτηριστικά σε συγκεκριμένα άτομα (π.χ. από έναν ή περισσότερους αρχικούς πληθυσμούς φυτών αραβοσίτου επιχειρείται η παραγωγή φυτών απογόνων, τα οποία θα συνδυάζουν μεγάλη παραγωγικότητα και υψηλή ποιότητα καρπού).

**ΕΜΦΥΣΗΜΑ:** Ασθένεια του αναπνευστικού συστήματος. Το εμφύσημα προκαλείται όταν πολλά κυψελιδικά τοιχώματα του πνεύμονα καταστρέφονται και ο πνεύμονας χάνει την

ελαστικότητά του. Συγκεκριμένα, στο εμφύσημα παρατηρείται στένωση των λεπτότερων διακλαδώσεων των βρόγχων, η καταστροφή των ελαστικών ινών των κυψελίδων και η διάταση των τοιχωμάτων του πνεύμονα. Όλα τα παραπάνω παρεμποδίζουν την ομαλή είσοδο και έξοδο του αέρα και το άτομο δυσκολεύεται να αναπνεύσει.

**ΕΠΙΛΕΚΤΙΚΕΣ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΣΕΙΣ:** Βλέπε ελεγχόμενες διασταυρώσεις.

**ΕΧΘΡΟΙ ΦΥΤΩΝ:** Είναι τα φυτοφάγα έντομα, οι σκώληκες, τα ακάρεα και μεγαλύτερα ζώα όπως π.χ. τα ποντίκια κ.ά. Οι εχθροί των φυτών περιορίζουν ποσοτικά και υποβαθμίζουν ποιοτικά την φυτική παραγωγή.

**GENE PHARMING:** Η παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών από διαγονιδιακά ζώα.

**ΖΙΖΑΝΙΑ:** Οι φυτικοί εχθροί των καλλιεργούμενων φυτών είναι τα ζιζάνια, τα οποία ανταγωνίζονται για θρεπτικά στοιχεία και νερό από το έδαφος (μέσω των ριζών τους) και για ηλιακή ενέργεια από τον ήλιο (μέσω της ταχύτερης ανάπτυξής τους και της επισκίασης που προκαλούν) τα καλλιεργούμενα φυτά.

**ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ:** Ονομάζεται η διαδικασία παραγωγής και απομόνωσης ενός συνόλου από πανομοιότυπα αντίγραφα ενός μορίου ή ενός κυττάρου ή ενός οργανισμού. Αν για παράδειγμα καλλιεργήσουμε ένα φυτικό κύτταρο, θα πάρουμε εκατομμύρια πανομοιότυπα κύτταρα και κατ' επέκταση εκατομμύρια γονιδιώματα. Έτσι έχουμε πάρει σε εκατομμύρια αντίγραφα κάθε φυτικό γονίδιο. Βεβαίως, αυτό δεν σημαίνει πως έχουμε κλωνοποιήσει όλα τα φυτικά γονίδια! Για να κλωνοποιήσουμε ένα γονίδιο δεν αρκεί να το πολλαπλασιάσουμε σε πολλά αντίγραφα. Θα πρέπει επιπλέον να το έχουμε προηγουμένως απομονώσει (βλέπε και κεφ. 4).

**ΚΛΩΝΟΣ:** Ο όρος κλώνος αναφέρεται σε μία ομάδα πανομοιότυπων μορίων, κυττάρων ή οργανισμών. Για παράδειγμα κλώνος είναι μία βακτηριακή αποικία, τα προϊόντα του PCR για ένα τμήμα DNA, η Dolly (βλέπε και κεφ. 4).

**ΜΙΚΡΟΕΓΧΥΣΗ:** Μικροέγχυση ονομάζεται η μέθοδος γενετικού μετασχηματισμού κατά την οποία πραγματοποιούμε απ' ευθείας μεταφορά ετερόλογου DNA στον πυρήνα ενός κυττάρου, με τη βοήθεια ειδικής μικροβελόνας. Πρόκειται για μία από τις μεθόδους εισαγωγής DNA σε ζωικά ή / και φυτικά κύτταρα. Η βασικότερη εφαρμογή της είναι για την κατασκευή διαγονιδιακών ζώων (βλέπε Υποδειγματικά απαντημένες ερωτήσεις, ερώτ. 2).



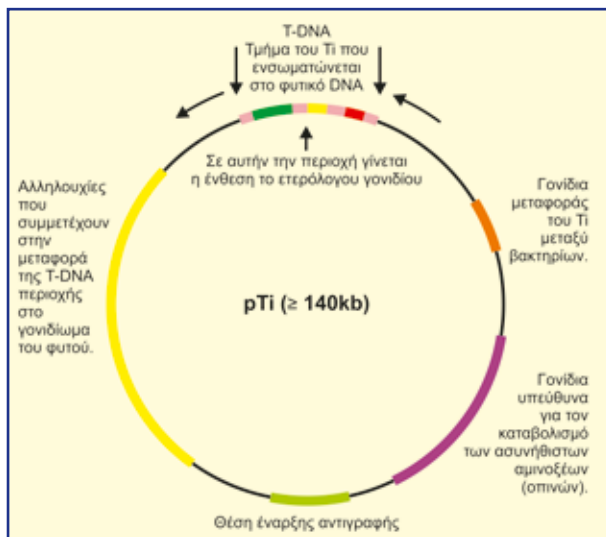
Εικ. 9.4: Μικροέγχυση. Απαραίτητος εργαστηριακός εξοπλισμός.

**ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ IX:** Αντιαιμορροφιλική πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από φυλοσύνδετο γονίδιο (βλέπε όρο Αιμορροφιλία, κεφ. 5).

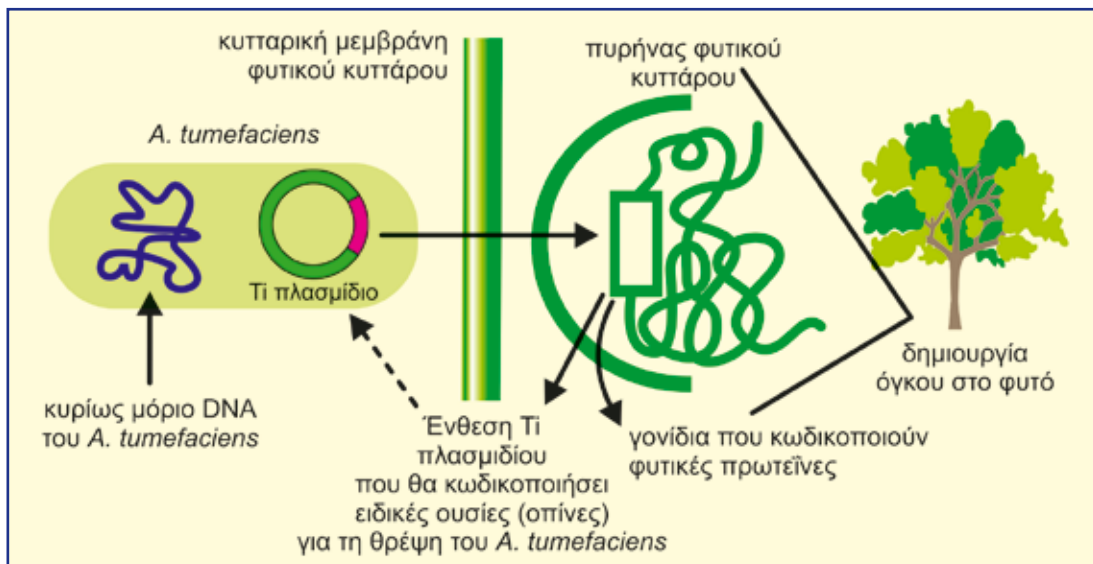
**ΣΚΩΛΗΚΕΣ:** Ασπόνδυλα ζώα που ζουν συνήθως στο έδαφος και έχουν λεπτό σώμα που μπορεί να φέρει ή όχι δακτύλιους. Πολλά είδη σκώληκων είναι φυτοπαρασιτικά, προσβάλλουν τις ρίζες των φυτών και τρέφονται από αυτές.



**ΠΛΑΣΜΙΔΙΟ Ti:** Πλασμίδιο μεγέθους 140-235 kb (χιλιάδες ζεύγη βάσεων), που έχει απομονωθεί από το βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens*. Τμήμα του πλασμιδίου Ti (συγκεκριμένα η περιοχή T-DNA) ενσωματώνεται στο πυρηνικό γενετικό υλικό των φυτικών κυττάρων, δημιουργώντας εξογκώματα (όγκους ή αλλιώς κορωνωτούς κάλλους) στα φυτά. Το πλασμίδιο Ti χρησιμοποιείται ως φορέας μεταφοράς του ετερόλογου γονιδίου για τη δημιουργία διαγονιδιακών φυτών.



Εικ. 9.5: Το πλασμίδιο Ti.



Εικ. 9.6: Φυσική δράση του πλασμιδίου Ti.

**ΤΟΞΙΝΗ:** Χημικά συστατικά τα οποία παράγονται από μικρόβια και προκαλούν μέχρι και τον θάνατο στο ξενιστή των μικροβίων.

**TRACY:** Ένα διαγονιδιακό πρόβατο, το οποίο δημιουργήθηκε το 1999 και παράγει στο γάλα του την φαρμακευτική πρωτεΐνη α-αντιθρυψίνη.



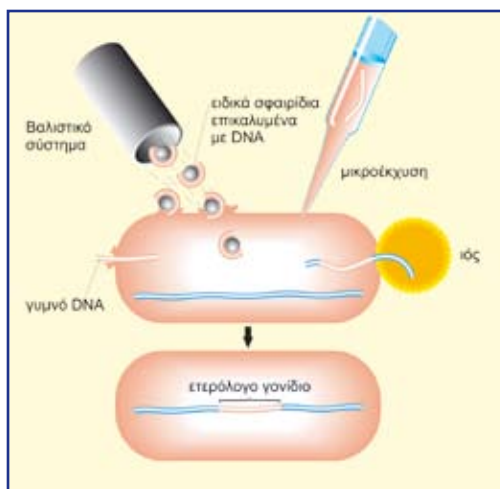
Εικ. 9.7: Tracy.



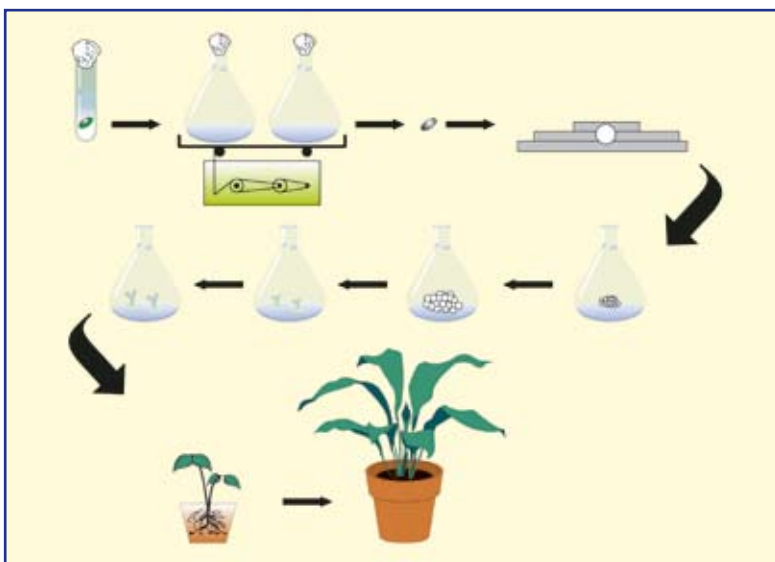
## ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΩΝ ΦΥΤΩΝ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ ΠΛΑΣΜΙΔΙΟΥ T<sub>i</sub>

Η μέθοδος δημιουργίας διαγονιδιακών φυτών με τη χρήση του πλασμιδίου T<sub>i</sub>, περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

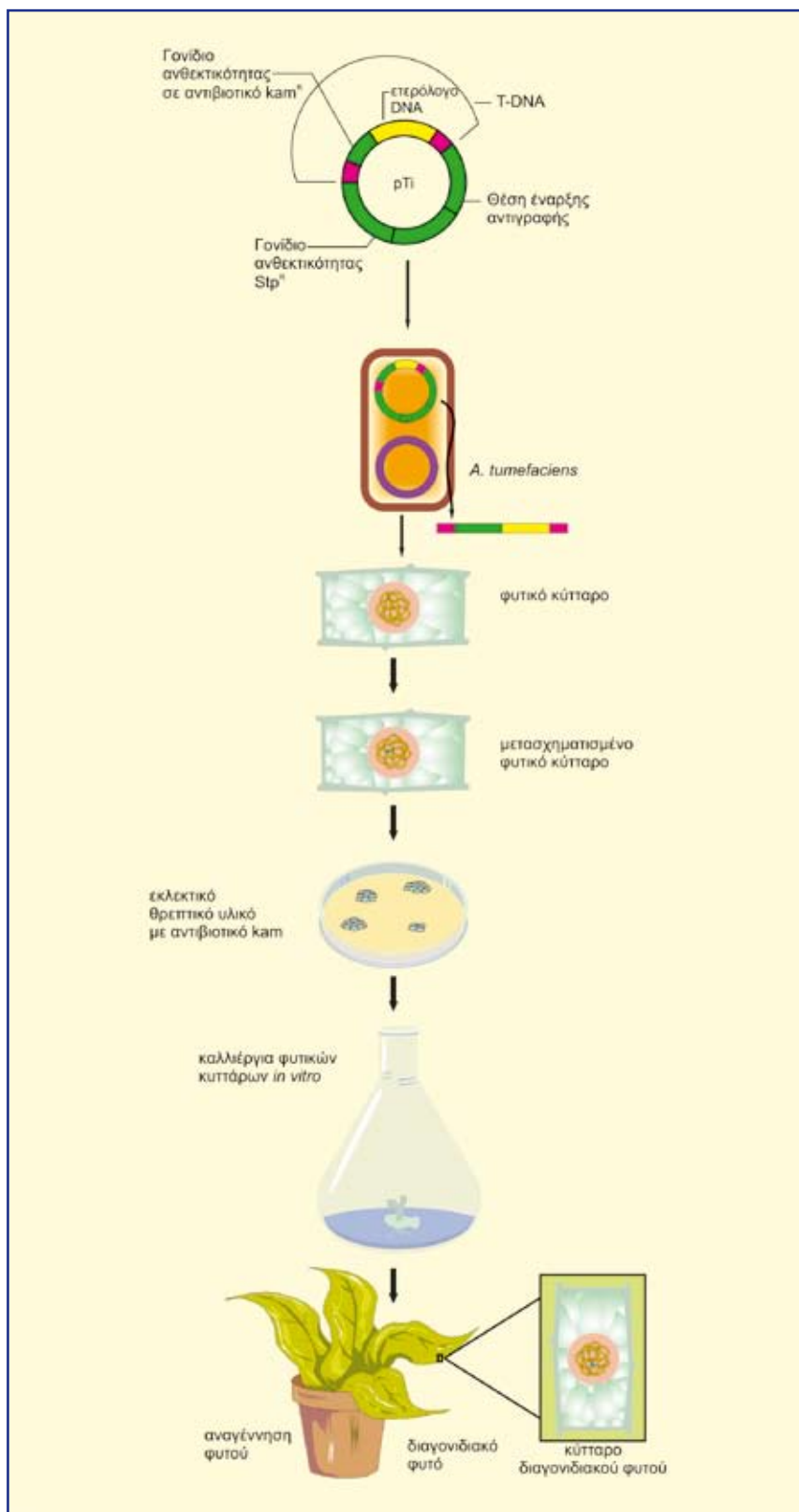
- Απομόνωση από το έδαφος του βακτηρίου *Agrobacterium tumefaciens* που φέρει το πλασμίδιο T<sub>i</sub>.
- Απομόνωση από το βακτήριο του πλασμιδίου T<sub>i</sub>.
- Κατάργηση των φυτικών ογκογενετικών γονιδίων του πλασμιδίου T<sub>i</sub> και τροποποίησή του ώστε να είναι δυνατή η επιλογή των μετασχηματισμένων με αυτό φυτικών κυττάρων.
- Απομόνωση από τον οργανισμό δότη του επιθυμητού γονιδίου.
- Ανασυνδυασμός του πλασμιδίου T<sub>i</sub> με το επιθυμητό ετερόλογο γονίδιο, με τη χρήση κατάλληλων περιοριστικών ενδονουκλεάσεων.
- Μετασχηματισμός των φυτικών σωματικών κυττάρων.
- Επιλογή των μετασχηματισμένων φυτικών κυττάρων.
- Καλλιέργεια *in vitro* των μετασχηματισμένων φυτικών κυττάρων.
- Ανάπτυξη *in vitro* των διαγονιδιακών φυτών.
- Καλλιέργεια των διαγονιδιακών φυτών σε σπορεία.
- Καλλιέργεια των διαγονιδιακών φυτών στα κτήματα.  
(Βλέπε και Υποδειγματικά απαντημένες ερωτήσεις, ερώτ. 10).



Εικ. 9.8: Τεχνικές μετασχηματισμού.



Εικ. 9.9: Αναγέννηση φυτού *in vitro* από φυτικό κύτταρο.



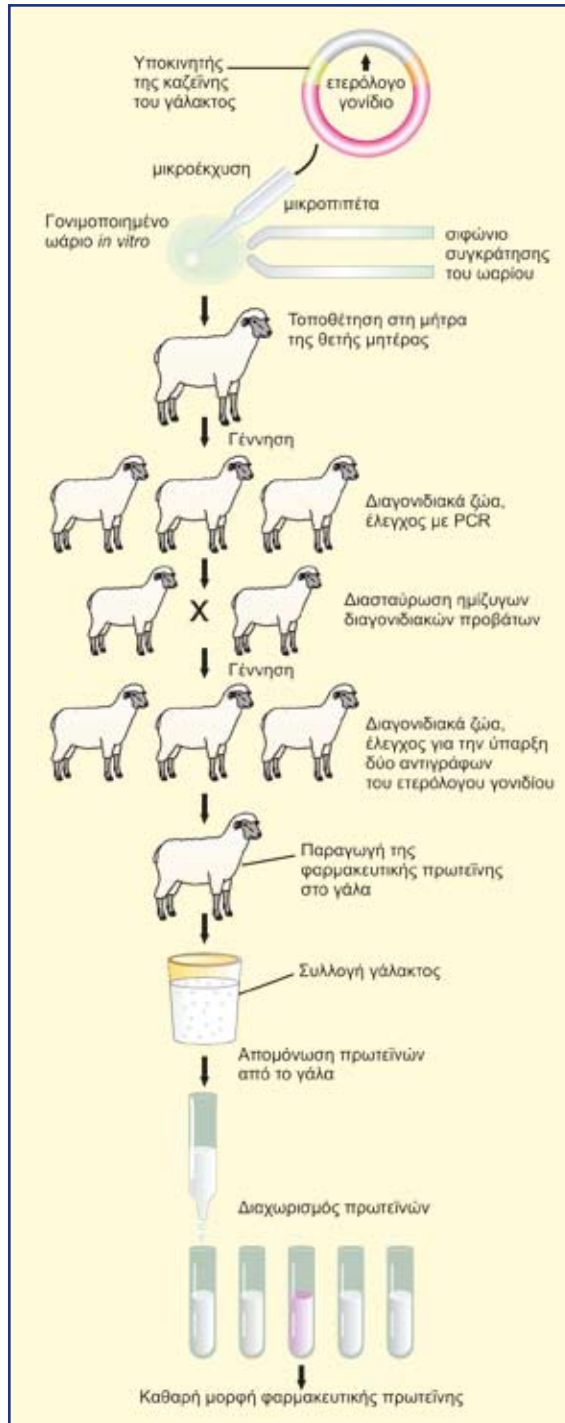
Εικ. 9.10: Δημιουργία διαγονιδιακού φυτού.



## ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΩΝ ΖΩΩΝ (GENE FARMING)

Η μέθοδος δημιουργίας διαγονιδιακών ζώων, περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

- Απομόνωση του ανθρώπινου γονιδίου που κωδικοποιεί τη φαρμακευτική πρωτεΐνη που μας ενδιαφέρει.
- Κλωνοποίηση του επιθυμητού ανθρώπινου γονιδίου με PCR.
- Εισαγωγή με μικροέγχυση του επιθυμητού ανθρώπινου γονιδίου στον πυρήνα, *in vitro* γονιμοποιημένου ωαρίου του ζώου, του οποίου επιδιώκεται η γενετική τροποποίηση.
- Επιχειρείται η γενετική τροποποίηση μικρού αριθμού γονιμοποιημένων ωαρίων ώστε να αυξηθεί η πιθανότητα επιτυχίας της μεθόδου.
- Το ετερόλογο DNA ενσωματώνεται σε κάποιο από τα χρωμοσώματα του πυρήνα του ζυγωτού του ζώου.
- Τοποθέτηση του γενετικά τροποποιημένου ζυγωτού στη μήτρα ενήλικου θηλυκού ζώου για κυοφορία.
- Γέννηση και εντοπισμός των διαγονιδιακών ζώων. Τα διαγονιδιακά ζώα αναμένετε να είναι ημίζυγα (φέρουν ένα αντίγραφο) ως προς το επιθυμητό γονίδιο.
- Επιλεκτικές διασταυρώσεις μεταξύ των διαγονιδιακών ζώων της πρώτης γενεάς (ημίζυγα ζώα) με σκοπό να περάσει η ετερόλογη γενετική πληροφορία στους απογόνους. Στόχος είναι να δημιουργηθούν άτομα με δύο αντίγραφα για το επιθυμητό γονίδιο.
- Παραγωγή, συλλογή, απομόνωση και καθαρισμός της φαρμακευτικής πρωτεΐνης από το γάλα των ζώων. (Βλέπε και Υποδειγματικά απαντημένες ερωτήσεις, ερώτ. 11).

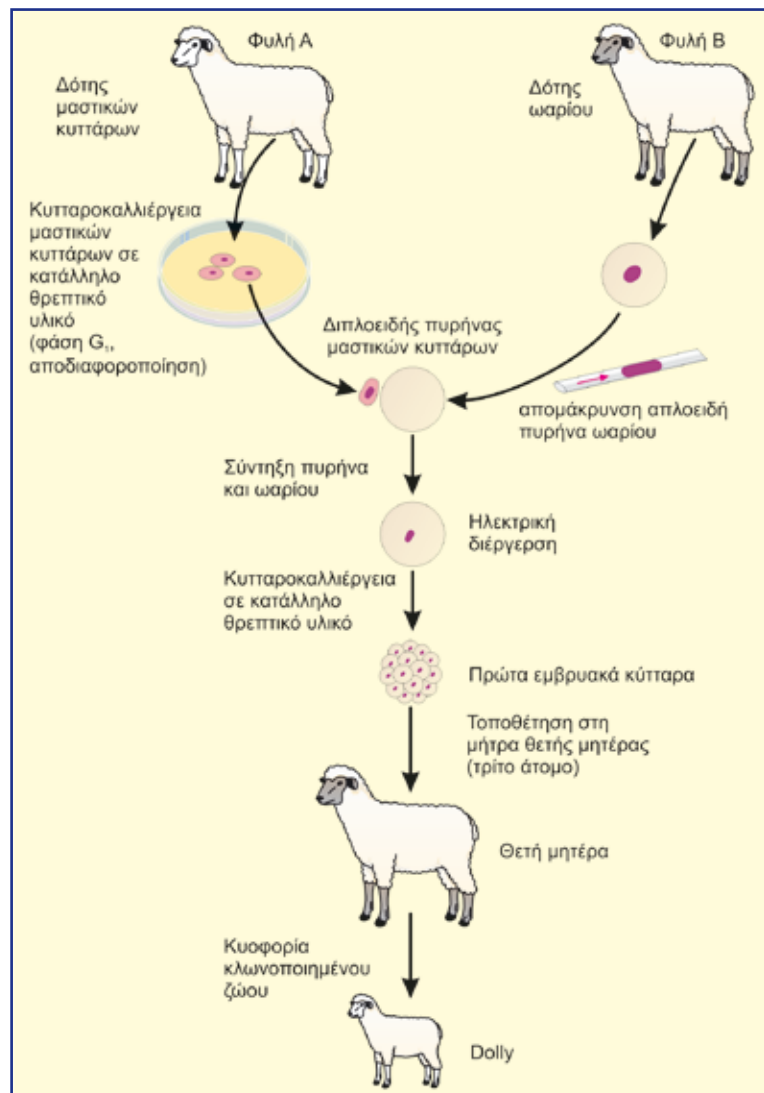


Εικ. 9.11: Δημιουργία διαγονιδιακών ζώων και παραγωγή φαρμακευτικής πρωτεΐνης.

## ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ ΕΝΗΛΙΚΩΝ ΘΗΛΑΣΤΙΚΩΝ

Η μέθοδος κλωνοποίησης θηλαστικών περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

- Παραλαμβάνουμε κύτταρα από τους μαστικούς αδένες ενός ενήλικου ζώου (π.χ. προβάτου).
- Τα αναπτύσσουμε σε κυτταροκαλλιέργεια *in vitro*.
- Απομακρύνουμε ένα ωάριο από ένα άλλο ζώο του ίδιου είδους, από το οποίο αφαιρούμε τον πυρήνα με κατάλληλες μεθόδους.
- Ο πυρήνας του κυττάρου του μαστικού αδένα, συντήκεται με το απύρνηνο ωοκύτταρο.
- Στο διπλοειδές κύτταρο που σχηματίζεται επάγεται η κυτταροδιαίρεση μετά από ηλεκτρική διέγερση.
- Το αποδιαφοροποιημένο, ικανό να διαιρείται κύτταρο, αναπτύσσεται σε κυτταροκαλλιέργεια *in vitro* για μικρό αριθμό διαιρέσεων.
- Το σύνολο των κυττάρων που σχηματίστηκαν, μετά από τις *in vitro* μιτωτικές διαιρέσεις του αρχικού κυττάρου, αποτελούν τα πρώτα κύτταρα του νέου οργανισμού. Αυτά εμφυτεύονται στη μήτρα θετής μητέρας του ίδιου είδους.
- Μετά από μερικούς μήνες κυοφορίας, αναλόγως το είδος του ζώου, γεννιέται το κλωνοποιημένο ζώο.



Εικ. 9.12: Κλωνοποίηση ενήλικου ζώου.

## ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΟΙ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ (GMO's)

Οι έρευνες των Αμερικανών γενετιστών S. Cohen και H. Bayer το 1972, είχαν ως αποτέλεσμα τον ανασυνδυασμό πλασμιδίων με ετερόλογα τμήματα DNA.

Αυτή η ανακάλυψη σηματοδότησε την γένεση της Γενετικής Μηχανικής.

Συγκεκριμένα το 1973 οι S. Cohen και H. Bayer κατασκεύασαν το πρώτο διαγονιδιακό βακτήριο με φορέα κλωνοποίησης πλασμίδιο. Αυτός ο οργανισμός ήταν ο πρώτος γενετικά ανασυνδυασμένος οργανισμός που κατασκευάστηκε *in vitro* και έφερε γονίδια από ένα διαφορετικού είδους οργανισμό.

Το πρώτο διαγονιδιακό ζώο ήταν ένα ποντίκι που κατασκευάστηκε από τον Rudolf Jaenisch το 1974. Ο Dr. Jaenisch, πέτυχε την εισαγωγή ενός ετερόλογου τμήματος DNA σε εμβρυακά κύτταρα ποντικού. Αποτέλεσμα ήταν το ετερόλογο γονίδιο να εκφράζεται σε όλους τους ιστούς του ποντικού.

## ΤΟ ΧΡΟΝΙΚΟ ΤΩΝ ΠΙΟ ΣΗΜΑΝΤΙΚΩΝ ΑΝΑΚΑΛΥΨΕΩΝ ΣΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ	ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΑΣ/-ΕΣ	ΑΝΑΚΑΛΥΨΗ ΣΤΑΘΜΟΣ ΣΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ
1859	C. Darwin	Δημοσίευση της θεωρίας της εξέλιξης.
1865	G. Mendel	Διατύπωση των δύο νόμων του Mendel.
1869	F. Miescher	Ανακάλυψη του DNA.
1900	H. de Vries, C. Correns, E.von Tschermak.	Επαναανακάλυψη των νόμων του Mendel.
1902	A. Garrod	Πρώτη υπόθεση για τη γενετική βάση των ασθενειών.
1902	W. Sutton, T. Boveri	Προτείνεται η χρωμοσωμική θεωρία.
1908	G.H. Hardy, W. Weinberg	Διατύπωση της αρχής των Hardy-Weinberg.
1910-1916	T.H. Morgan, C. Bridges	Ανακάλυψη του ρόλου των χρωμοσωμάτων ως φορέων των γονιδίων.
1913	A.H. Sturtevant	Κατασκευή του πρώτου γενετικού χάρτη.
1927	H.J. Muller	Δημιουργία μεταλλάξεων με ακτίνες X.
1931	H. Greighton, B. Mc Clintock	Παρατήρηση του φυσικού ανασυνδυασμού γονιδίων.
1941	G. Beadle, E. L. Tatum	Υπόθεση ότι ένα γονίδιο παράγει ένα ένζυμο.
1944	O. Avery, C. McLeod, M. Mc Carty	Απόδειξη ότι το DNA είναι το γενετικό υλικό.
1953	J. Watson, F. Crick, R. Franklin, M. Wilkins	Προσδιορισμός της δομής του DNA.
1958	M. Meselson, F. Stahl	Προσδιορισμός του ημισυντηρητικού τρόπου αντιγραφής του DNA.

1961	S. Brenner, F. Jacob,	Ανακάλυψη του mRNA.
1966	M. Nirenberg, M. Meselson G. Khorana	Αποκρυπτογράφηση του γενετικού κώδικα.
1970	H. Smith	Ανακάλυψη των περιοριστικών ενδονουκλεασών.
1972	P. Berg	Κατασκευή του πρώτου ανασυνδυασμένου DNA, <i>in vitro</i> .
1973	H. Boyer, S. Cohen	Πρώτη χρήση πλασμιδίων ως φορέων κλωνοποίησης.
1977	W. Gilbert, F. Sanger	Ανάπτυξη μεθόδου προσδιορισμού της αλληλουχίας των βάσεων του DNA.
1977	F. Sanger	Προσδιορισμός νουκλεοτιδικής αλληλουχίας ενός τμήματος ιικού DNA (φ 174)
1977	P. Sharp, R. Roberts, <i>et. al</i>	Ανακάλυψη των εσωνίων στα γονίδια των ευκαρυωτικών οργανισμών.
1990	L. G. Tsui, F. Collins, J. Riordan	Ανακάλυψη του γονιδίου της κυστικής ίνωσης.
1990	Ομάδες ερευνητών	Έναρξη του προγράμματος του ανθρώπινου γονιδιώματος.
1996	Ομάδες ερευνητών	Προσδιορισμός της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας του γονιδιώματος του <i>S. cerevisiae</i> .
1997	F. Blattner <i>et. al.</i>	Προσδιορισμός της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας του γονιδιώματος του <i>E. coli</i> .
1997	I. Wilmut <i>et al.</i>	Κλωνοποίηση θηλαστικού από κύτταρα ενήλικου ζώου.
1999	Ομάδες ερευνητών	Προσδιορισμός της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας του χρωμοσώματος 22 του ανθρώπου.
2000	Ομάδα ερευνητών	Προσδιορισμός της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας της <i>D. melanogaster</i> .
2000	Ομάδες ερευνητών	Προσδιορισμός της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας του γονιδιώματος του φυτού <i>A. thaliana</i> .
2000	A. Fischer <i>et al.</i>	Πρώτη εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας <i>ex vivo</i> .
2000	Ομάδες ερευνητών	Ανακοίνωση της πρώτης φάσης ολοκλήρωσης του προγράμματος του ανθρώπινου γονιδιώματος.
2006	A. Fire, C. Mello	Ανακάλυψη του RNAi (παρεμβατικό RNA).



## ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ ΕΚΜΑΘΗΣΗΣ ΤΗΣ ΘΕΩΡΙΑΣ

1. Για ποιο λόγο κρίνεται απολύτως αναγκαία η αύξηση της φυτικής και της ζωικής παραγωγής;  
(Απ.: Ο πληθυσμός ... ζωικής παραγωγής. σελ. 131)
2. Να αναφέρετε ένα τρόπο βελτίωσης της φυτικής και της ζωικής παραγωγής.  
(Απ.: Ένας τρόπος ... με επιθυμητά χαρακτηριστικά. σελ. 131)
3. Αναφέρετε τα μειονεκτήματα της βελτίωσης της φυτικής και ζωικής παραγωγής με επιλεκτικές διασταυρώσεις.  
(Απ.: Αυτός ο τρόπος ... ιδιότητες. σελ. 131)
4. Ποιοι οργανισμοί ονομάζονται διαγονιδιακοί ή γενετικά τροποποιημένοι; Ποια είναι τα πλεονεκτήματά τους και ποιους προβληματισμούς εγύρουν;  
(Απ.: Η Γενετική Μηχανική ... Βιοηθικής. 131)
5. Τι γνωρίζετε για το βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens*, που ζει στο έδαφος;  
(Απ.: Το βακτήριο ... factor). σελ. 131)
6. Ποιες συνέπειες έχει η ένθεση του πλασμίδιου *Ti* στο γενετικό υλικό φυτικών κυττάρων;  
(Απ.: Το πλασμίδιο *Ti* ... των φυτών. σελ. 131)
7. Περιγράψτε τη διαδικασία δημιουργίας διαγονιδιακών φυτών.  
(Απ.: Οι ερευνητές ... στους απογόνους τους. σελ. 131-132  
βλέπε και αντίστοιχο ένθετο κεφ. 9 του παρόντος βιβλίου)
8. Πού επικεντρώνονται οι προσπάθειες των ερευνητών της Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας όσον αφορά στις ιδιότητες των γενετικά τροποποιημένων φυτών;  
(Απ.: Οι προσπάθειες ... τον καταναλωτή. σελ. 132)
9. Ποια φυτά γνωρίζετε που έχουν τροποποιηθεί γενετικά;  
(Απ.: Τα κυριότερα φυτά ... ελαιοκράμβη. σελ. 132)
10. Με ποιους χημικούς και φυσικούς τρόπους μπορεί ο άνθρωπος να ελέγξει τους πληθυσμούς των φυτοφάγων εχθρών, όπως των εντόμων;  
(Απ.: Τα έντομα ... πολλά εντομοκτόνα. και Το βακτήριο ... των εντόμων. σελ. 132-133)
11. Ποια είναι τα μειονεκτήματα των χημικών μεθόδων φυτοπροστασίας που εφαρμόζε και εφαρμόζει ο άνθρωπος, για τον έλεγχο των εχθρών και των ασθενειών των φυτών;  
(Απ.: Με την πάροδο ... του προβλήματος. σελ. 132)
12. Πώς εφαρμόζεται η φυσική μέθοδος φυτοπροστασίας που γνωρίζετε και ποια μειονεκτήματα έχει;  
(Απ.: Αρχικά ... ψεκασμοί. σελ. 133)
13. Ποιες ποικιλίες φυτών ονομάζονται Bt;  
(Απ.: Το πρώτο φυτό ... Bt. σελ. 133)



14. Με ποιον τρόπο δημιουργούνται γενετικά τροποποιημένα φυτά ανθεκτικά στα έντομα;  
(Απ.: Το βακτήριο ... Βt. σελ. 133)
15. Ποια ζώα ονομάζονται διαγονιδιακά;  
(Απ.: Διαγονιδιακά ... από κάποιο άλλο είδος. σελ. 133)
16. Περιγράψτε τη μέθοδο της μικροέγχυσης.  
(Απ.: Υπάρχουν ... το έμβρυο. σελ. 133)
17. Ποια διαγονιδιακά ζώα γνωρίζετε που δημιουργούνται με τη μέθοδο της μικροέγχυσης;  
(Απ.: Η μικροέγχυση ... και αιγών. σελ. 133)
18. Ποια μειονεκτήματα παρουσιάζει η παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών από βακτήρια;  
(Απ.: Τα διαγονιδιακά ... οργανισμοί. σελ. 135)
19. Τι σημαίνει ο όρος gene pharming;  
(Απ.: Μια πολλά υποσχόμενη ... (gene pharming) σελ. 135)
20. Τι προκαλεί η έλλειψη της AAT στον άνθρωπο;  
(Απ.: Η πιο επιτυχημένη ... στο εμφύσημα. σελ. 135)
21. Περιγράψτε τη διαδικασία παραγωγής ανθρώπινης AAT από πρόβατα.  
(Απ.: Για την παραγωγή ... wάριο προβάτου. σελ. 135)
22. Εκτός από την AAT ποια άλλη ανθρώπινη πρωτεΐνη γνωρίζετε που παράγεται από διαγονιδιακά ζώα;  
(Απ.: Εκτός ... αιμορροφιλία Β. σελ. 135)
23. Πώς ονομάστηκε το διαγονιδιακό ζώο που παρήγαγε ανθρώπινη α<sub>1</sub>-αντιθρυψίνη στο γάλα του; Το ζώο αυτό μεταβίβασε την ιδιότητα αυτή στους απογόνους του;  
(Απ.: Το πρόβατο ... πολύ μεγάλες. σελ. 135)
24. Περιγράψτε συνοπτικά τα βήματα που χρειάζονται για την παραγωγή μίας ανθρώπινης πρωτεΐνης από διαγονιδιακά ζώα.  
(Απ.: Συνοψίζοντας, ... πρωτεΐνης. σελ. 135  
βλέπε και αντίστοιχο ένθετο κεφ. 9 του παρόντος βιβλίου)
25. Συγκρίνετε τις δύο μεθόδους γενετικής βελτίωσης ζώων και φυτών που μάθατε.  
(Απ.: Είναι φανερό ... τεχνικές. σελ. 135)
26. Περιγράψτε τα βήματα που απαιτούνται για την κλωνοποίηση ενός ενήλικου προβάτου.  
(Απ.: Το 1997 ... τη Dolly. σελ.136,  
βλέπε και αντίστοιχο ένθετο κεφ. 9 του παρόντος βιβλίου)
27. Για ποιο λόγο η κλωνοποίηση προβάτου δεν προξένησε έκπληξη στους ειδικούς επιστήμονες;  
(Απ.: Η δημιουργία της ... θηλαστικών. σελ. 136)
28. Ποιες μπορεί να είναι οι εφαρμογές της κλωνοποίησης;  
(Απ.: Η κλωνοποίηση ... είδος ζώου. σελ. 136)



## ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ ΚΛΕΙΣΤΟΥ ΤΥΠΟΥ

Να βάλετε σε κύκλο το γράμμα που αντιστοιχεί στη σωστή απάντηση ή στη φράση που συμπληρώνει σωστά τη πρόταση:

**1. Ποιοι οργανισμοί ονομάζονται διαγονιδιακοί;**

- A. Οι οργανισμοί που προέρχονται από ελεγχόμενες διασταυρώσεις.
- B. Οι οργανισμοί στους οποίους έχουν εισαχθεί διάφορες ορμόνες.
- Γ. Οι οργανισμοί που έχουν υποστεί γενετική αλλαγή με τις τεχνικές της Γενετικής Μηχανικής.
- Δ. Οι οργανισμοί που έχουν εμβολιαστεί με το κατάλληλο αντιγόνο *in vitro*.

**2. Το βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens***

- A. είναι ένα επικίνδυνο βακτήριο για την υγεία του ανθρώπου.
- B. παράγει μια ισχυρή τοξίνη, δραστική στα πρόβατα.
- Γ. χρησιμοποιείται για τη δημιουργία διαγονιδιακών φυτών.
- Δ. ζει κυρίως στο νερό, κάτω από αερόβιες συνθήκες.

**3. Το πλασμίδιο Ti**

- A. προέρχεται από το βακτήριο *Bacillus thuringiensis*.
- B. είναι ένα κυκλικό DNA του βακτηρίου *E. coli*.
- Γ. ενσωματώνεται στο γενετικό υλικό των ζώων.
- Δ. απομονώνεται από το *Agrobacterium tumefaciens*.

**4. Για να τροποποιηθούν γενετικά τα φυτά, χρησιμοποιούνται**

- A. πλασμίδια από οποιοδήποτε βάκιλο.
- B. τεχνητά μόρια DNA.
- Γ. πλασμίδια ιοειδούς.
- Δ. πλασμίδια Ti του *Agrobacterium tumefaciens*.

**5. Το πλασμίδιο Ti**

- A. είναι παράγοντας ανθεκτικότητας ενός βακτηρίου.
- B. προκαλεί όγκους στα φυτά τα οποία έχει μολύνει.
- Γ. παράγει τοξίνες που καταστρέφουν το φυτό.
- Δ. φυσιολογικά εισάγεται με μικροέγχυση στα κύτταρα των φυτών.

## 6. Τα διαγονιδιακά ζώα

- A. προέρχονται από τη διασταύρωση επιλεγμένων ζώων.
- B. προέρχονται από τα ζώα των οποίων το ζυγωτό έχει υποστεί γενετική τροποποίηση.
- Γ. μοιάζουν με τη «θετή» μητέρα, στη μήτρα της οποίας αναπτύχθηκαν.
- Δ. μοιάζουν μόνο με τη μητέρα από την οποία προήλθε το ωάριο.

## 7. Για να τροποποιηθεί το γενετικό υλικό μιας αγελάδας εισάγεται «ξένο» γονίδιο σε

- A. ωάριο του θηλυκού ζώου.
- B. σπερματοζωάριο.
- Γ. ζυγωτό.
- Δ. μαστικά κύτταρα.

Να χαρακτηρίσετε με Σ (σωστό) ή με Λ (λάθος) τις παρακάτω προτάσεις:

	Σ	Λ
1. Οι οργανισμοί που προέρχονται από διασταυρώσεις ονομάζονται διαγονιδιακοί.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Τα φυτά που έχουν υποστεί γενετική τροποποίηση ονομάζονται διαγονιδιακά.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Το πλασμίδιο Τί περιέχεται στο βακτήριο <i>Agrobacterium tumefaciens</i> .	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Τα διαγονιδιακά φυτά δεν μεταβιβάζουν τις νέες ιδιότητες στους απογόνους.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Η εισαγωγή ξένου DNA στα κύτταρα ενός ζώου επιτυγχάνεται με τη μέθοδο της μικροέγχυσης στα ωάρια ενός ζώου.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Το διαγονιδιακό ζώο μοιάζει με τη «θετή» μητέρα, στην οποία αναπτύχθηκε το έμβρυο.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Τα διαγονιδιακά ζώα μπορούν να παράγουν ανθρώπινες πρωτεΐνες.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Το πλασμίδιο Τί ενσωματώνεται στο γενετικό υλικό των φυτικών κυττάρων.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. Έχουν παραχθεί ντομάτες που αντέχουν σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10. Έχουν εισαχθεί γονίδια στα φυτά, που τα καθιστούν ανθεκτικά στα ζιζανιοκτόνα.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**Να συμπληρώσετε με τους κατάλληλους όρους τα κενά στις παρακάτω προτάσεις:**

1. Τα φυτά τα οποία έχουν υποστεί γενετική τροποποίηση ονομάζονται .....
2. Το *Agrobacterium tumefaciens* παρασιτεί στα φυτά καθώς τους μεταφέρει ένα μικρό κυκλικό μόριο DNA, .....
3. Μία από τις σημαντικότερες μεθόδους εισαγωγής «ξένου» DNA στα κύτταρα ζώου είναι η .....
4. Οι ανθρώπινες πρωτεΐνες που παράγονται από τα βακτήρια δεν είναι ακριβώς ίδιες με αυτές που παράγει ο ίδιος ο άνθρωπος, γιατί τα βακτήρια δε διαθέτουν τους μηχανισμούς ..... των ευκαρυωτικών οργανισμών.
5. Οι διαγονιδιακές αγελάδες δημιουργούνται με ..... στο ζυγωτό κύτταρο.
6. Τα γενετικά τροποποιημένα φυτά είναι ..... σε διάφορα έντομα.

**Να αντιστοιχίσετε τους όρους που αναγράφονται στη στήλη I με τις έννοιες ή τις φράσεις που αναγράφονται στη στήλη II. Για το σκοπό αυτό να γράψετε δίπλα από κάθε γράμμα της στήλης I τον αριθμό που ταιριάζει από τη στήλη II. (π.χ. A-1)**

I	II
A. ___ Μικροέγχυση	1. Πρωτεΐνη που ρυθμίζει τη γλυκόζη του αίματος.
B. ___ Ζυγωτό	2. Μέθοδος εισαγωγής ξένου γονιδίου σε ένα κύτταρο.
Γ. ___ <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	3. Κυκλικό DNA προερχόμενο από το <i>Agrobacterium tumefaciens</i> .
Δ. ___ Πλασμίδιο Ti	4. Βακτήριο του εδάφους.
E. ___ Ινσουλίνη	5. Γονιμοποιημένο ωάριο.
Z. ___ Ιντερφερόνη	







## ΥΠΟΔΕΙΓΜΑΤΙΚΑ ΑΠΑΝΤΗΜΕΝΕΣ ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

### A. Να απαντήσετε σε καθεμία από τις παρακάτω ερωτήσεις:

#### 1. Τι γνωρίζετε για το πλασμίδιο που χρησιμοποιείται για τη δημιουργία διαγονιδιακών φυτών;

Το βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens* διαβιεί στο έδαφος, είναι φυτοπαθογόνο και έχει αναπτύξει έναν πολύ πρωτότυπο τρόπο παρασιτισμού των φυτών. Συγκεκριμένα τα τοξικά στελέχη του βακτηρίου *A. tumefaciens* περιέχουν ένα μεγάλο πλασμίδιο, το πλασμίδιο Ti (Tumor inducing factor) το μέγεθος του οποίου κυμαίνεται από 140 έως 235 χιλιάδες ζεύγη βάσεων (kb). Το πλασμίδιο αυτό, λόγω των γονιδίων που διαθέτει μπορεί να μεταφέρεται από το βακτήριο στο φυτικό κύτταρο και να ενθέτει ένα συνεχές και ενιαίο τμήμα του, 13-20 kb, στο γονιδίωμα των φυτικών κυττάρων. Το τμήμα αυτό του πλασμιδίου Ti ονομάζεται T-DNA. Το T-DNA μετά την τυχαία ένθεσή του σε κάποιο χρωμόσωμα στο φυτικό γονιδίωμα αποκτά όλες τις κύριες ιδιότητες του DNA του φυτού, όπως μεταγραφή και αντιγραφή. Μετά την ένθεση του, το T-DNA τμήμα του Ti πλασμιδίου, επάγει τον καρκινικό πολλαπλασιασμό των φυτικών κυττάρων που έχει μολύνει. Τα φυτικά κύτταρα πολλαπλασιάζονται αυτόνομα χωρίς κάποιο πρότυπο κυτταρικής οργάνωσης. Αποτέλεσμα είναι η δημιουργία μιας άμορφης μάζας κυττάρων (κορονωτός κάλλος).

Ένα άλλο ουσιαστικό χαρακτηριστικό των μολυσμένων φυτικών κυττάρων του κάλλου, είναι η παραγωγή και η έκκριση ασυνήθιστων αμινοξέων και παράγωγων σακχάρων. Τα αμινοξέα και τα σάκχαρα αυτά δε συντίθενται ούτε από τα φυσιολογικά φυτικά κύτταρα, ούτε όμως και από το *Agrobacterium*. Τα συστατικά αυτά συντίθενται μόνο από τα φυτικά κύτταρα του κάλλου και γενικά ονομάζονται οπίνες.

Οι οπίνες αποτελούν πηγή άνθρακα και αζώτου για τα *Agrobacterium*. Μάλιστα, τα ένζυμα που απαιτούνται για τον καταβολισμό των οπίνων από τα βακτήρια, κωδικοποιούνται από γονίδια που εδράζονται στο πλασμίδιο Ti.

Οι ιδιότητες του πλασμιδίου Ti να εισέρχεται στα φυτικά κύτταρα, να ενθέτει ένα τμήμα DNA του στο DNA των φυτικών κυττάρων και να ελέγχει τη μεταγραφή και την αντιγραφή τους, το καθιστούν κατάλληλο εργαλείο της Γενετικής Μηχανικής για την επίτευξη της γενετικής τροποποίησης των φυτών.

Οι ερευνητές αφού απομόνωσαν το πλασμίδιο Ti από το βακτήριο *A. tumefaciens*, κατόρθωσαν να απενεργοποιήσουν τα γονίδια που δημιουργούν τους όγκους τοποθετώντας στο πλασμίδιο, το γονίδιο που θα προσδώσει στα φυτά την επιθυμητή ιδιότητα. Το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο εισάγεται, είτε μέσω του *A. tumefaciens* στο οποίο επανατοποθετείται, είτε με άλλους τρόπους (εικ. 9.8), στα φυτικά κύτταρα. Ο τρόπος εισαγωγής του Ti πλασμιδίου εξαρτάται από το είδος του φυτού στο οποίο ανήκουν τα φυτικά κύτταρα. Συγκεκριμένα,

το βακτήριο *A. tumefaciens* μπορεί και μολύνει μόνο δικότυλα φυτά (π.χ σόγια, φασολιά κ.ά.), επομένως αυτός ο τρόπος δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τα μονοκότυλα φυτά (π.χ. αραβόσιτος).

Τα φυτικά κύτταρα που δέχτηκαν το πλασμίδιο Ti αναπτύσσονται *in vitro* σε ειδικές κυτταροκαλλιέργειες δίνοντας τελικά ένα νέο φυτό (Βλέπε ένθετο σελ. 177, Σχολικό βιβλίο) που εκφράζει το ετερόλογο γονίδιο και μπορούν να το μεταβιβάσουν στις επόμενες γενεές.

## **2. Σε ποια κύτταρα εφαρμόζεται η μικροέγχυση;**

Υπάρχουν αρκετές μέθοδοι, οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την είσοδο του ετερόλογου DNA στα κύτταρα ενός οργανισμού (βλέπε εικόνα 9.8). Μια από αυτές είναι η μικροέγχυση.

Η μέθοδος της μικροέγχυσης αρχικά αναπτύχθηκε στα ζωικά κύτταρα, σήμερα όμως χρησιμοποιείται και για τα φυτικά κύτταρα όπως και για κυτταρικά οργανίδια (μιτοχόνδρια, πυρήνες). Η μικροέγχυση στηρίζεται στη χρήση μίας ειδικής μικροβελόνας, που χρησιμοποιείται ως σύριγγα για την εισαγωγή του DNA μέσα στα κύτταρα. Η μικροβελόνα έχει διάμετρο 0,5-1,0 μm στο άκρο της, που της επιτρέπει τη διείσδυσή της μέσω της πλασματικής μεμβράνης στο κυτταρόπλασμα και στον πυρήνα του κυττάρου χωρίς να καταστρέφεται το κύτταρο. Όταν το ετερόλογο DNA εισέλθει στον πυρήνα ενσωματώνεται συνήθως σε κάποιο από τα χρωμοσώματά του.

Η μικροέγχυση αποτελεί τη μοναδική μέθοδο δημιουργίας διαγονιδιακών αγελάδων, προβάτων, χοίρων και αιγών. Για τη δημιουργία των διαγονιδιακών ζώων η μικροέγχυση του ετερόλογου γονιδίου γίνεται σε γονιμοποιημένο *in vitro* ωάριο του ζώου. Έτσι, το ετερόλογο DNA υπάρχει σε όλα τα κύτταρα του ζώου και είναι δυνατή η μεταβίβασή του στις επόμενες γενεές. Το ζυγωτό που προκύπτει μετά τη μικροέγχυση, στη συνέχεια τοποθετείται στη μήτρα θετής μητέρας ώστε να αναπτυχθεί το έμβρυο και κατόπιν να γεννηθεί το διαγονιδιακό ζώο.

## **3. Τι σημαίνει διαγονιδιακός οργανισμός;**

Διαγονιδιακός οργανισμός ονομάζεται εκείνος ο οργανισμός του οποίου έχει τροποποιηθεί το γενετικό υλικό του με την προσθήκη ετερόλογου DNA (συνήθως γονιδίων) από κάποιο άλλο είδος οργανισμού με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής (βλέπε και ορολογία αντίστοιχο όρο).

## **4. Να ονομάσετε ένα βακτήριο, που χρησιμοποιείται στις μεθόδους παραγωγής διαγονιδιακών φυτών.**

Το βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens*, το οποίο ζει στο έδαφος, διαθέτει τη φυσική ικανότητα να μολύνει φυτικά κύτταρα μεταφέροντας σ' αυτά ένα πλασμίδιο Ti (Ti = tumor inducing factor = ογκογενετικός παράγοντας). Αυτή η αλληλεπίδραση του *A. tumefaciens* με το φυτικό κύτταρο είναι το μοναδικό γνωστό παράδειγμα στη φύση που συμβαίνει μεταφορά DNA μεταξύ βακτηρίων και φυτών. Το πλασμίδιο Ti ενσωματώνεται στο γενετικό υλικό των φυτικών κυττάρων και δημιουργεί όγκους στο σώμα των φυτών (βλέπε ερώτηση 1). Το πλασμίδιο του *A. tumefaciens* χρησιμοποιείται για τη γενετική τροποποίηση των φυτικών κυττάρων και τη δημιουργία διαγονιδιακών φυτών.

**5. Να αναφέρετε τα ένζυμα τα οποία συμμετέχουν στην προετοιμασία του ανασυνδυασμένου πλασμιδίου, που θα εισαχθεί στα φυτικά κύτταρα.**

Για τη γενετική τροποποίηση των φυτών θα χρησιμοποιηθεί το πλασμίδιο Tι του βακτηρίου *A. tumefaciens*, το οποίο ενσωματώνεται στο γενετικό υλικό των φυτικών κυττάρων.

Στο πλασμίδιο Tι πρέπει αρχικά να απενεργοποιηθούν τα γονίδια που δημιουργούν τους όγκους στα φυτά, τοποθετώντας στο πλασμίδιο το ετερόλογο γονίδιο με την επιθυμητή ιδιότητα. Για την απενεργοποίηση των ογκογενετικών γονιδίων του πλασμιδίου Tι και την ένθεση σε αυτά του ετερόλογου επιθυμητού γονιδίου απαιτείται η χρήση περιοριστικών ενδονουκλεασών και DNA δεσμάσης.

**6. Τι είναι το ζυγωτό;**

Ζυγωτό είναι το κύτταρο που είναι προϊόν της γονιμοποίησης, δηλαδή της σύντηξης των δύο γαμετών (αρσενικού και θηλυκού) κατά την αμφιγονική αναπαραγωγή. Το ζυγωτό κύτταρο είναι διπλοειδές και αποτελεί το πρώτο κύτταρο του νέου οργανισμού. (Βλέπε Α΄ τόμος, σελ. 17)

**7. Ποια κληρονομικά χαρακτηριστικά προσφέρει στα διαγονιδιακά ζώα ή στα κλωνοποιημένα ζώα η «θετή» μητέρα στην οποία αναπτύχθηκε το έμβρυο;**

Η θετή μητέρα ενός διαγονιδιακού ζώου που το κυοφορεί δεν προσφέρει κανένα γενετικό χαρακτηριστικό στο έμβρυο, αφού το ωάριο από το οποίο προήλθε το έμβρυο δεν είναι δικό της, όπως δεν είναι δικό της ούτε το ετερόλογο γονίδιο που υπάρχει ενσωματωμένο σε κάποιο χρωμόσωμα του εμβρύου.

Η θετή μητέρα ενός κλωνοποιημένου ζώου που το κυοφορεί, ομοίως δεν προσφέρει κανένα γενετικό χαρακτηριστικό στο έμβρυο που κυοφορεί, αφού ούτε το ωάριο, ούτε ο πυρήνας από τα οποία σχηματίστηκε το “ζυγωτό” του εμβρύου δεν ήταν δικά της.

**ΣΧΟΛΙΟ:** Βέβαια δεν έχει ακόμα αποσαφηνιστεί αν το έμβρυο επηρεάζεται και πόσο από το περιβάλλον της μήτρας στην οποία αναπτύσσεται. Αλλά ακόμη και αν αυτό συμβαίνει, κάτι τέτοιο δεν είναι κληρονομήσιμο προς τους απογόνους του.

**8. Γιατί θεωρήθηκε επικίνδυνη η χρήση των χημικών εντομοκτόνων;**

Μετά το Β΄ Παγκόσμιο πόλεμο χρησιμοποιήθηκαν πολλά χημικά εντομοκτόνα προκειμένου να αυξηθεί η φυτική παραγωγή. Με την πάροδο των χρόνων όμως έγινε κατανοητό ότι ήταν επικίνδυνα για την υγεία του ανθρώπου και προκαλούσαν μεγάλη οικολογική καταστροφή.

Τα χημικά εντομοκτόνα είναι από τους πιο τοξικούς ρυπαντές στη βιόσφαιρα. Οι χημικές αυτές ουσίες δε διασπώνται (μη βιοδιασπώμενες ουσίες) από τους οργανισμούς, με αποτέλεσμα, ακόμη και αν βρίσκονται σε χαμηλές συγκεντρώσεις, να συσσωρεύονται στους κορυφαίους καταναλωτές του οικοσυστήματος, ένας από τους οποίους είναι και ο άνθρωπος.

Τα χημικά φυτοπροστατευτικά προϊόντα είναι μη βιοδιασπώμενα, απορροφώνται από τους οργανισμούς και περνούν από τον ένα κρίκο της τροφικής αλυσίδας στον επόμενο. Καθώς δεν μεταβολίζονται και δε διασπώνται, συσσωρεύονται στους ιστούς και φυσικά δεν αποβάλλονται με τις απεκκρίσεις, με αποτέλεσμα να μειώνουν τη βιωσιμότητα των οργανισμών (βλέπε και Βιολογία Γενικής Παιδείας Γ΄ Λυκείου).

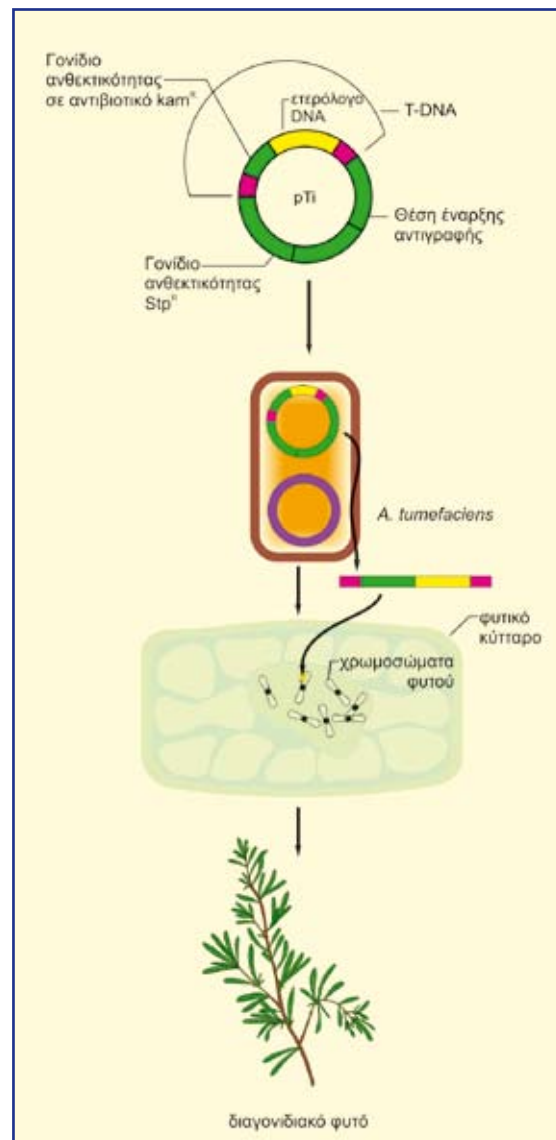
### 9. Πού αναπτύσσεται το ζυγωτό μετά τη μικροέγχυση;

Στη μέθοδο της μικροέγχυσης χρησιμοποιούνται ωάρια του ζώου που έχουν γονιμοποιηθεί στο εργαστήριο. Σε αυτά γίνεται εισαγωγή του ετερόλογου DNA με ειδική μικροβελόνα. Το ετερόλογο DNA ενσωματώνεται συνήθως σε κάποιο από τα χρωμοσώματα του πυρήνα του ζυγωτού. Το ζυγωτό τοποθετείται στη συνέχεια στη μήτρα της “θετής” μητέρας, ενός θηλυκού ζώου του ίδιου είδους με το ζυγωτό, στο οποίο θα αναπτυχθεί το έμβρυο. Τα ζωικά κύτταρα δεν μπορούν να καλλιεργηθούν *in vitro* σε κυτταροκαλλιέργειες, όπως τα φυτικά κύτταρα και να αναγεννήσουν ένα νέο οργανισμό. Για την ανάπτυξη των ζωικών εμβρύων είναι αναγκαία η κυοφορία τους στη μήτρα ενός θηλυκού ζώου του ίδιου είδους.

### 10. Να περιγράψετε τη μέθοδο με την οποία μπορούμε να παράγουμε φυτά ανθεκτικά στα έντομα.

Για να δημιουργήσουμε διαγονιδιακά φυτά ανθεκτικά στις εντομολογικές προσβολές ακολουθούμε τα παρακάτω βήματα:

Δημιουργούμε τη γονιδιωματική βιβλιοθήκη του βακτηρίου *Bacillus thuringiensis*, το οποίο παράγει μία ισχυρή τοξίνη που μπορεί να θανατώσει πολλά είδη εντόμων και είναι 80.000 φορές πιο ισχυρή από πολλά χημικά εντομοκτόνα. Από τη βιβλιοθήκη του *Bacillus thuringiensis* απομονώνουμε το γονίδιο της τοξίνης και το ενισχύουμε με PCR ώστε να το έχουμε σε πολλά αντίγραφα. Στη συνέχεια, αφού έχουμε απομονώσει από το βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens* το πλασμίδιο Ti, απενεργοποιούμε τα ογκογενετικά γονίδια του πλασμιδίου πέπτοντάς τα με περιοριστικές ενδονουκλεάσες και ενθέτοντας σε αυτά το γονίδιο της τοξίνης με τη βοήθεια της DNA δεσμάσης. Στη συνέχεια το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο Ti εισάγεται σε αδιαφοροποίητα σωματικά κύτταρα φυτών που αναπτύσσονται σε ειδικές κυτταροκαλλιέργειες στο εργαστήριο. Τα γενετικώς τροποποιημένα φυτικά κύτταρα μετά από κατάλληλη καλλιέργεια *in vitro*, δίνουν ένα νέο φυτικό οργανισμό που περιέχει και εκφράζει το γονίδιο της τοξίνης, οπότε καθίσταται ανθεκτικός πλέον στις εντομολογικές προσβολές.



Εικ. 9.13: Δημιουργία διαγονιδιακού φυτού.

## 11. Να περιγράψετε τα στάδια που απαιτούνται για την παραγωγή μιας φαρμακευτικής ανθρώπινης πρωτεΐνης από διαγονιδιακό ζώο.

Για τη δημιουργία ενός διαγονιδιακού ζώου που είναι ικανό να παράγει στο γάλα του μία ανθρώπινη φαρμακευτική πρωτεΐνη ακολουθούμε τα παρακάτω βήματα:

Από γονιδιωματική βιβλιοθήκη του ανθρώπου απομονώνουμε το φυσιολογικό επιθυμητό γονίδιο. Το γονίδιο αυτό κλωνοποιείται με PCR ώστε να το διαθέτουμε σε πολλά αντίγραφα. Παράλληλα έχουμε απομονώσει ωάρια και σπερματοζώαρια από ζώα του είδους που θέλουμε να καταστήσουμε διαγονιδιακό. Γίνεται τεχνητή γονιμοποίηση και προκύπτει το ζυγωτό του ζώου στον πυρήνα του οποίου με μικροέγχυση εισάγουμε το επιθυμητό ανθρώπινο γονίδιο. Μετά τη γενετική τροποποίηση ενός αριθμού γονιμοποιημένων ωαρίων του ζώου, τα ζυγωτά τοποθετούνται στη μήτρα θετής μητέρας για κυοφορία. Μετά τη γέννηση τα ζώα εξετάζονται για το αν είναι διαγονιδιακά και παράγουν το επιθυμητό προϊόν. Τα ζώα που είναι διαγονιδιακά μετά την ενηλικίωσή τους διασταυρώνονται μεταξύ τους ώστε να περάσει η ετερόλογη γενετική πληροφορία και στους απογόνους. Από τη διασταύρωση δύο διαγονιδιακών ζώων που δημιουργήθηκαν με μικροέγχυση και φέρουν από ένα ετερόλογο γονίδιο το καθένα, υπάρχει 25% πιθανότητα να προκύψουν απόγονοι που θα φέρουν από δύο αντίγραφα της ετερόλογης γενετικής πληροφορίας και θα παράγουν μεγαλύτερη ποσότητα της φαρμακευτικής πρωτεΐνης στο γάλα τους.

Το γάλα των διαγονιδιακών ζώων συλλέγεται και στη συνέχεια από αυτό απομονώνεται και καθαρίζεται η φαρμακευτική πρωτεΐνη ώστε να είναι σε μορφή κατάλληλη για χρήση από τους ασθενείς.

**ΣΗΜΕΙΩΣΗ:** Προκειμένου το ετερόλογο γονίδιο να εκφράζεται στα μαστικά κύτταρα των ζώων, είναι απαραίτητο αυτό να βρίσκεται υπό τον έλεγχο ενός υποκινητή ενός γονιδίου του ζώου που υπερεκφράζεται στα μαστικά κύτταρα. Ο υποκινητής αυτός θα πρέπει να προστεθεί πριν από το ανθρώπινο γονίδιο, πριν από την εφαρμογή της μικροέγχυσης στο ζυγωτό του ζώου.

## 12. Να γράψετε τα πλεονεκτήματα από τη χρήση των διαγονιδιακών οργανισμών.

Τα φυτά και τα ζώα που έχουν υποστεί γενετική αλλαγή με τη χρήση των τεχνικών της Γενετικής Μηχανικής ονομάζονται διαγονιδιακά ή γενετικώς τροποποιημένα.

Η χρησιμοποίηση διαγονιδιακών φυτών και ζώων παρουσιάζει σημαντικά πλεονεκτήματα, τα οποία είναι:

- Η Γενετική Μηχανική δίνει τη δυνατότητα προσθήκης νέων γονιδίων απ' ευθείας στον οργανισμό.
- Καθιστά δυνατή σε σύντομο χρονικό διάστημα τη δημιουργία των φυτών ή των ζώων με τους επιθυμητούς χαρακτήρες, ακόμη και όταν αυτοί οι χαρακτήρες ελέγχονται από γονίδια διαφορετικών ειδών οργανισμών και είναι αδύνατη η φυσική μεταφορά τους στον επιθυμητό οργανισμό.
- Επιλογή και προσθήκη μόνο επιθυμητών ιδιοτήτων, οι οποίες είναι και κληρονομήσιμες, με ταυτόχρονη διατήρηση των παλαιών επιθυμητών χαρακτηριστικών.
- Ταχύτατη παραγωγή βελτιωμένων ποικιλιών και φυλών φυτών και ζώων αντίστοιχα, σε σχέση με τις παραδοσιακές τεχνικές.



- ΣΗΜΕΙΩΣΗ:** Όπως ήταν αναμενόμενο, η παραγωγή και η χρήση των διαγονιδιακών οργανισμών, δημιουργεί διάφορους ηθικούς προβληματισμούς που αφορούν τις επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου καθώς και στο περιβάλλον.

**13. Να περιγράψετε τα στάδια της μεθόδου για την παραγωγή διαγονιδιακής αγελάδας.** Βλέπε ερώτηση 11, όπου διαγονιδιακό ζώο να γίνει αγελάδα ή ένθετο, Δημιουργία διαγονιδιακών ζώων (*Gene Farming*).

**14. Να γράψετε ορισμένες φαρμακευτικές πρωτεΐνες, που παράγονται από διαγονιδιακά ζώα.**

Τα διαγονιδιακά ζώα χρησιμοποιούνται για την παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών σε μεγάλη ποσότητα κυρίως από τα μαστικά τους κύτταρα. Με αυτόν τον τρόπο είναι δυνατή η συλλογή της πρωτεΐνης από το γάλα των ζώων (*gene farming*).

Η πιο επιτυχημένη εφαρμογή *gene farming* αφορά την παραγωγή της ανθρώπινης α<sub>1</sub>-αντιθρυψίνης (AAT = alpha antitrypsin) από πρόβατα. Εκτός από την AAT και άλλες χρήσιμες πρωτεΐνες παράγονται με τον ίδιο τρόπο, όπως οι αντιαιμορροφιλικοί παράγοντες IX και VIII που χορηγούνται σε άτομα που πάσχουν από αιμορροφιλία B και A αντίστοιχα. Ακόμη παράγονται από διαγονιδιακά ζώα οι παρακάτω ανθρώπινες πρωτεΐνες:

Ινσουλίνη για τη θεραπεία του σακχαρώδη διαβήτη, ο ενεργοποιητής πλασμινογόνου (tPA) για τη διάλυση των θρόμβων στην κυκλοφορία του αίματος, ιντερφερόνες ως αντικαρκινικά φάρμακα, η πρωτεΐνη, η έλλειψη της οποίας ευθύνεται για την κυστική ίνωση, ο παράγοντας CD4 κατά του AIDS, η αυξητική ορμόνη για τη θεραπεία της αχονδροπλασίας κ.ά.

**15. Τι εννοούμε με τους όρους κλώνος και κλωνοποίηση; Περιγράψτε τη διαδικασία δημιουργίας ενός ζώου κλώνου ενός άλλου ενήλικου ζώου.**

Με τον όρο κλώνο εννοούμε έναν πληθυσμό κυττάρων ή οργανισμών που είναι γενετικά όμοια και παράγονται από ένα μόνο αρχικό κύτταρο ή πληθυσμό κυττάρων με επαναλαμβανόμενες-μη αμφιγονικές-διαιρέσεις. Στη φύση οι κλώνοι παράγονται με αγενή πολλαπλασιασμό, π.χ. με τη χρήση μοσχευμάτων στα φυτά ή με παρθενογένεση στα κατώτερα ζώα. Στα ζώα επίσης, τα μονοζυγωτικά δίδυμα είναι το ένα κλώνος του άλλου (βλέπε και Α' τόμος, κεφ. 4 καθώς και κεφ. 5, παρόντος τόμου, αντίστοιχος όρος).

Με τον όρο κλωνοποίηση εννοούμε: τη διαδικασία δημιουργίας πολλών κλώνων (αντιγράφων) ενός κυττάρου ή οργανισμού (βλέπε και Α' τόμος, κεφ. 4 αντίστοιχο όρο καθώς και ορολογία παρόντος κεφαλαίου).

- ΣΗΜΕΙΩΣΗ:** Οι ίδιοι όροι χρησιμοποιούνται και για μόρια π.χ. DNA ή RNA. Για παράδειγμα η δημιουργία βιβλιοθηκών και η μέθοδος PCR είναι τρόποι κλωνοποίησης μορίων DNA για τη δημιουργία πολλών αντιγράφων (κλώνων).

Η διαδικασία κλωνοποίησης ενός ενήλικου ζώου π.χ. προβάτου, περιλαμβάνει τα εξής βήματα:

Από το ζώο του οποίου θέλουμε να δημιουργήσουμε τον κλώνο του, απομονώνουμε σω-

ματικά κύτταρα (μαστικά κύτταρα) και τα καλλιεργούμε σε κυτταροκαλλιέργειες. Από ένα άλλο θηλυκό ζώο του ίδιου είδους απομονώνουμε ωάρια, των οποίων αφαιρούμε τον πυρήνα τους με τη βοήθεια κατάλληλης μικροπιπέτας. Από τα σωματικά κύτταρα που αναπτύσσονται σε κυτταροκαλλιέργεια απομονώνουμε τον πυρήνα τους. Συντήκουμε τον πυρήνα του μαστικού κυττάρου με το απύρηνο ωάριο που έχουμε δημιουργήσει. Στο κύτταρο που προκύπτει, μετά από κατάλληλη ηλεκτρική διέγερση επάγεται η κυτταροδιαίρεσή του. Το έμβρυο αναπτύσσεται για μικρό αριθμό διαιρέσεων σε κατάλληλο θρεπτικό υλικό *in vitro* και στη συνέχεια μεταφέρεται σε “θετή” μητέρα του ίδιου είδους για κυοφορία. Μετά από τον απαιτούμενο χρόνο κυοφορίας για το ζώο, γεννιέται ένα ζώο κλώνος του ενήλικου ζώου από το οποίο απομονώθηκε ο πυρήνας των σωματικών του κυττάρων. Το ζώο κλώνος, φέρει όλα τα πυρηνικά γονίδια του ζώου του οποίου απομονώνουμε τον πυρήνα των σωματικών κυττάρων του και όλα τα μιτοχονδριακά γονίδια του ζώου του οποίου απομονώνουμε το ωάριο (βλέπε και ένθετο, *Κλωνοποίηση ενήλικων θηλαστικών*).

**16. Να αναφέρετε σε ποιες περιπτώσεις χρησιμοποιείται η υβριδοποίηση κατά τη διαδικασία παραγωγής διαγονιδιακών φυτών.**

Υβριδοποίηση είναι η διαδικασία που περιλαμβάνει τη σύνδεση μονόκλωνων συμπληρωματικών αλυσίδων DNA ή συμπληρωματικών μονόκλωνων μορίων DNA-RNA. Η υβριδοποίηση είναι μια πολύ σημαντική ιδιότητα του DNA που μας δίνει τη δυνατότητα αν έχουμε ένα γνωστό μόριο DNA, να το χρησιμοποιήσουμε ως ανιχνευτή για τον εντοπισμό του συμπληρωματικού του όταν το τελευταίο βρίσκεται μαζί με χιλιάδες άλλα τμήματα.

Η διαδικασία της υβριδοποίησης ακολουθείται για την απομόνωση ενός συγκεκριμένου γονιδίου από μία γονιδιωματική ή cDNA βιβλιοθήκη. Γι' αυτό το σκοπό χρησιμοποιείται και κατά τη διαδικασία παραγωγής διαγονιδιακών φυτών.

Με τη χρήση ιχνηθετημένων ανιχνευτών μορίων DNA ή RNA που περιέχουν αλληλουχίες συμπληρωματικές προς το επιθυμητό γονίδιο που θέλουμε να εισάγουμε στο φυτό που θα καταστήσουμε διαγονιδιακό, επιλέγουμε από μία βιβλιοθήκη του οργανισμού που φέρει το επιθυμητό γονίδιο, το τμήμα DNA που αντιστοιχεί σε αυτό το γονίδιο. Έτσι, εντοπίζεται η βακτηριακή αποικία της βιβλιοθήκης και απομονώνεται το επιθυμητό γονίδιο, το οποίο στη συνέχεια θα χρησιμοποιηθεί για να προσδώσει στο φυτό μια ετερόλογη ιδιότητα. Υβριδοποίηση συμβαίνει επίσης και κατά τον ανασυνδυασμό του T<sub>i</sub> πλασμιδίου από το ετερόλογο γονίδιο, όπου υβριδίζουν τα μονόκλινα συμπληρωματικά άκρα του ετερόλογου γονιδίου και του T<sub>i</sub> πλασμιδίου που δημιουργήθηκαν από τη δράση της περιοριστικής ενδονουκλεάσης. Τέλος, υβριδοποίηση μπορεί να συμβαίνει κατά την ένθεση του T-DNA τμήματος του T<sub>i</sub> πλασμιδίου στο γονιδίωμα του φυτικού κυττάρου.

## **B. ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ - ΕΡΓΑΣΙΕΣ**

«Η διασταύρωση ανάμεσα στο ψάρι κυπρίνος και στο ψάρι πέστροφα είναι πολύ σπάνια στη φύση χωρίς την παρέμβαση του ανθρώπου. Οι γενετιστές του ινστιτούτου John Hopkins των Η.Π.Α. κατάφεραν να εισαγάγουν σε ένα αυγό κυπρίνου ένα γονίδιο της πέστροφας που ρυθμίζει την αύξηση τον βάρους του σε σημαντικό βαθμό. Το βάρος του κυπρίνου, ο οποίος προήλθε από αυτό το αυγό, αυξήθηκε πολύ γρήγορα λόγω της ορμόνης που προερχόταν από την πέστροφα. Ένα χρόνο μετά τη γέννησή του το ψάρι ζύγιζε 20% παραπάνω από τα αδέρφια του. Οι βιολόγοι βρήκαν ακόμη ότι ένα μέρος του χρωμοσώματος ενός θηλαστικού μπορεί να εισαχθεί σε ένα άλλο είδος και να τροποποιήσει τον μεταβολισμό του. Αξίζει επίσης να αναφερθεί μια ιστορική απόφαση για τον κλάδο της Βιοτεχνολογίας: Δόθηκε η άδεια από την επιτροπή δεοντολογίας και ηθικής να απελευθερωθούν διαγονιδιακά ζώα στη λίμνη Τσεζάπικ του Καναδά». Κείμενο από την εφημερίδα «Εξπρές» των Η.Π.Α. (21 Απριλίου 1989).

- α) Να περιγράψετε συνοπτικά τη διαδικασία που ακολούθησαν για να εισάγουν το γονίδιο της πέστροφας στον κυπρίνο.**
- β) Στο άρθρο αναφέρεται: «...ένα μέρος του χρωμοσώματος...» τι ακριβώς εννοεί ο δημοσιογράφος;**
- γ) Να ορίσετε σε τι διαφέρουν οι οργανισμοί που απελευθερώθηκαν στη λίμνη από αυτούς που υπάρχουν φυσιολογικά στη λίμνη.**
- δ) Ποια είναι η γνώμη σας για αυτή την απελευθέρωση των διαγονιδιακών οργανισμών στη λίμνη;**
- ε) Γιατί, κατά τη γνώμη σας, υπάρχει και ηθική επιτροπή για την απελευθέρωση τέτοιων οργανισμών στη φύση;**
  - α) Απομόνωση και κλωνοποίηση του γονιδίου της πέστροφας, που ρυθμίζει την αύξηση του βάρους. Μικροέγχυση του γονιδίου στον πυρήνα ενός γονιμοποιημένου ωαρίου του κυπρίνου. Γέννηση του διαγονιδιακού ψαριού (βλέπε και ερώτ. 4).
  - β) Ο δημοσιογράφος εννοεί ένα ή περισσότερα γονίδια του θηλαστικού που συμμετέχουν στα βιοχημικά μονοπάτια ρύθμισης του μεταβολισμού του. Τα χρωμοσώματα είναι οι φορείς των γονιδίων.
  - γ) Τα διαγονιδιακά ψάρια που απελευθερώθηκαν στη λίμνη Τσεζάπικ του Καναδά, διαφέρουν από εκείνα που υπάρχουν φυσιολογικά στη λίμνη, διότι τα διαγονιδιακά ψάρια φέρουν γονίδια από άλλο είδος που θα ήταν αδύνατο ή πολύ σπάνιο να συμβεί στη φύση χωρίς την παρέμβαση του ανθρώπου με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής.
  - δ) Τα διαγονιδιακά ζώα που απελευθερώθηκαν στη λίμνη είναι δυνατό να ζευγαρώσουν με τους φυσικούς πληθυσμούς του ίδιου είδους και να μεταβιβάσουν στους απογόνους τους την ετερόλογη γενετική πληροφορία, διαταράσσοντας έτσι τη σύσταση της γονιδιακής δεξαμενής της λίμνης με απρόβλεπτα αποτελέσματα στους πληθυσμούς των ζωντανών οργανισμών που ζουν σε αυτήν καθώς και του οικοσυστήματός της.  
Η απελευθέρωση διαγονιδιακών οργανισμών στο περιβάλλον ακόμη και για ερευνητικούς σκοπούς πρέπει να γίνεται μετά από ώριμη επιστημονική σκέψη, με σύνεση και με επίγνωση των πιθανών συνεπειών για το περιβάλλον και τον άνθρωπο.

ε) Όπως αναφέρθηκε και στις προηγούμενες ερωτήσεις, η απελευθέρωση γενετικά τροποποιημένων οργανισμών στο περιβάλλον εγκυμονεί κινδύνους για τους φυσικούς πληθυσμούς και τα οικοσυστήματά τους, για το λόγο αυτό είναι απολύτως αναγκαίο τέτοιου είδους αποφάσεις να λαμβάνονται από ειδικούς επιστήμονες.





## ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ ΚΑΤΑΝΟΗΣΗΣ

1. Από την εποχή της Γεωργικής επανάστασης το 10.000 π.Χ. επιδίωξη του ανθρώπου ήταν η βελτίωση της φυτικής και ζωϊκής παραγωγής.
  - α. Σε ποιούς τομείς στοχεύει η βελτίωση αυτή;
  - β. Με ποιούς τρόπους μπορεί να επιτευχθεί αυτή η βελτίωση;
2. Η μέθοδος των επιλεκτικών διασταυρώσεων αποτέλεσε για χιλιάδες χρόνια τον μοναδικό τρόπο, αλλά συνεχίζει ακόμη και σήμερα να αποτελεί έναν ουσιαστικό τρόπο βελτίωσης της φυτικής και ζωϊκής παραγωγής.
  - α. Σε ποιους νόμους στηρίζεται η μέθοδος των επιλεκτικών διασταυρώσεων;
  - β. Συγκρίνετε την μέθοδο των επιλεκτικών διασταυρώσεων με τις μεθόδους της Γενετικής Μηχανικής που χρησιμοποιούνται σήμερα για τη βελτίωση της φυτικής και ζωϊκής παραγωγής.
3. Πέρα από τη γενετική βελτίωση απαραίτητη προϋπόθεση για την υψηλή παραγωγή φυτικών προϊόντων είναι η προστασία των καλλιεργειών από εχθρούς και ασθένειες των φυτών (φυτοπροστασία). Με ποιούς τρόπους είναι δυνατή σήμερα η φυτοπροστασία;
4. Ένα από τα μεγαλύτερα προβλήματα της εφαρμοσμένης Γεωπονίας είναι η ανάπτυξη ανθεκτικότητας των φυτοπαθογόνων οργανισμών στη δράση των χημικών φυτοπροστατευτικών προϊόντων.

Οι M. Delbrück και S. Luria, στο κλασικό τους πείραμα (1942) απέδειξαν, ότι η ανάπτυξη ανθεκτικότητας οφείλεται σε τυχαίες μεταλλάξεις που προϋπήρχαν σε ορισμένα άτομα του πληθυσμού πριν από την εφαρμογή της δραστικής ουσίας που χρησιμοποιήθηκε για την καταπολέμησή τους. Εξηγήστε για ποιο λόγο απαγορεύεται η αλόγιστη χρήση αντιβιοτικών και χημικών φυτοπροστατευτικών προϊόντων.
5. Η γενετική τροποποίηση των φυτών είναι πλέον μία δυνατότητα της επιστήμης. Ποιες ιδιότητες ζωντανών οργανισμών και ποιες γνώσεις έδωσαν αυτή τη δυνατότητα στον άνθρωπο;
6. Συχνά χρησιμοποιείται από πολλούς ο όρος “μεταλλαγμένοι οργανισμοί” αντί του γενετικά τροποποιημένοι οργανισμοί, για να περιγραφούν εκείνοι οι οργανισμοί που έχουν δεχθεί στο γονιδίωμά τους ένα ετερόλογο γονίδιο με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής. Πιστεύετε ότι είναι δόκιμος αυτός ο όρος;



7. Ένα διαγονιδιακό φυτό πόσων οργανισμών γενετικές πληροφορίες φέρει;
8. Με ποιους τρόπους είναι δυνατό να διαπιστωθεί αν ένα φυτό έχει υποστεί γενετική τροποποίηση;
9. Στο γονιδίωμα της πυγολαμπίδας (*Photinus pyralis*) υπάρχει ένα γονίδιο που είναι υπεύθυνο για την βιοφωταύγεια στην κοιλιά του εντόμου. Στη Βιοτεχνολογία φυτών χρησιμοποιείται αυτό το γονίδιο ως τρόπος επιλογής των φυτών που φέρουν το ετερόλογο γονίδιο. Με ποιον τρόπο μπορεί να γίνει αυτή η επιλογή;
10. Ένας από τους σημαντικότερους εχθρούς της πατάτας (*Solanum tuberosum*) είναι ο χρυσονηματώδης σκώληκας (*Globodera rostochiensis*). Βρέθηκε μία ποικιλία πατάτας που εμφανίζει ανθεκτικότητα στην προσβολή από το νηματώδη αυτό σκώληκα αλλά έχει μικρή ανάπτυξη και παραγωγικότητα. Προτείνετε δύο τρόπους για τη δημιουργία μίας εμπορικής ποικιλίας πατάτας με ανθεκτικότητα στην προσβολή από νηματώδη.
11. Η γενετική τροποποίηση φυτών ακολουθεί διαφορετική μεθοδολογία από ότι η γενετική τροποποίηση ζώων. Εντοπίστε αυτές τις διαφορές.
12. Η Βιοτεχνολογία φυτών τροποποιεί σωματικά κύτταρα ενώ η Βιοτεχνολογία ζώων τροποποιεί υποχρεωτικά γονιμοποιημένα ωάρια ζώων. Γιατί συμβαίνει αυτό;
13. Σήμερα είναι εφικτή η γενετική τροποποίηση διάφορων οργανισμών, με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής. Ποιες κατηγορίες οργανισμών γνωρίζετε ότι έχουν τροποποιηθεί γενετικά, με ποιο τρόπο και για ποιο σκοπό;
14. Η γενετική τροποποίηση των οργανισμών πρέπει να γίνεται με τέτοιο τρόπο ώστε να είναι δυνατή η μεταβίβαση της ετερόλογης επιθυμητής ιδιότητας και στις επόμενες γενεές. Πώς καθίσταται εφικτό κάτι τέτοιο;
15. Πόσων διαφορετικών ατόμων γενετικές πληροφορίες εκφράζει ένα διαγονιδιακό ζώο;
16. Έχουν δημιουργηθεί διαγονιδιακά ζώα που παράγουν το ετερόλογο προϊόν στα ούρα τους αντί για το γάλα τους. Ποια πιστεύετε ότι μπορεί να είναι τα πλεονεκτήματα της παραγωγής της φαρμακευτικής πρωτεΐνης στα ούρα σε σχέση με το γάλα;
17. Με ποιους τρόπους μπορεί να γίνει παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών; Να τους συγκρίνετε μεταξύ τους.
18. Με ποιο τρόπο πραγματοποιείται η κλωνοποίηση ενός γονιδίου, ενός κυττάρου και ενός ανώτερου πολυκύτταρου οργανισμού;

19. Πώς μπορεί να γίνει δυνατή η δημιουργία διδύμων που η ημερομηνία γέννησής τους θα διαφέρει κατά μία δεκαετία;
20. Από ποια άτομα φέρει γενετικές πληροφορίες ένα κλωνοποιημένο ζώο;
21. Σε τι διαφέρει η Dolly από τα προγενέστερα πειράματα κλωνοποίησης ανώτερων ζώων; Πού εμφανίζονται οι ιδιαίτερες δυσκολίες για τη δημιουργία της που την καθιστούν ξεχωριστό επιστημονικό επίτευγμα;
22. Ποιες είναι οι διαφορές μεταξύ των ζυγωτών κυττάρων που έδωσαν την Tracy και την Dolly αντίστοιχα;
23. Ποιες μπορεί να είναι οι εφαρμογές της κλωνοποίησης των ανώτερων θηλαστικών;
24. Αναφέρετε τους τρόπους με τους οποίους μπορεί να γίνει η μεταβίβαση της ετερόλογης επιθυμητής ιδιότητας ενός διαγονιδιακού ζώου σε άλλα ζώα του ίδιου είδους.
25. “Από όλες τις λειτουργίες του σώματος, η αναπαραγωγή είναι η μόνη που πραγματοποιείται με ένα όργανο που το κάθε άτομο έχει κατά το ήμισι.” *F. Jacob*.  
Γιατί πιστεύετε ότι έχει επικρατήσει η αμφιγονική αναπαραγωγή στους ανώτερους ευκαρυωτικούς οργανισμούς; Για ποιο λόγο να μην επικρατήσει η παρθενογένεση (κλωνοποίηση) ως φυσικός τρόπος αναπαραγωγής;





## ΑΠΑΝΤΗΣΕΙΣ ΣΧΟΛΙΚΟΥ ΒΙΒΛΙΟΥ

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

Για τη μεταφορά γονιδίων:

- Στα φυτά χρησιμοποιείται το πλασμίδιο T<sub>i</sub>, που απομονώνεται από το βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens*.
- Στα ζώα χρησιμοποιείται κατά κανόνα η τεχνική της μικροέγχυσης.

2. Αναφέρατε τις εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας στη φυτική παραγωγή.

Οι εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας στη φυτική παραγωγή στόχο έχουν κυρίως την αύξηση του φυτικού κεφαλαίου. Οι εφαρμογές αυτές είναι οι εξής:

- Δημιουργία διαγονιδιακών φυτών, ανθεκτικών σε μολύνσεις από ιούς, βακτήρια και μύκητες.
- Δημιουργία διαγονιδιακών φυτών, ανθεκτικών σε προσβολές από φυτοφάγους εχθρούς (έντομα, σκώληκες κ.ά.).
- Δημιουργία διαγονιδιακών φυτών, ανταγωνιστικών των ζιζανίων και ανθεκτικών στα ζιζανιοκτόνα.
- Δημιουργία διαγονιδιακών φυτών, ανθεκτικών σε δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες, όπως π.χ. ο παγετός, η ξηρασία και αλατότητα του εδάφους.
- Δημιουργία γενετικά τροποποιημένων φυτών με μεγάλο μέγεθος καρπού και με πλουσιότερη συγκομιδή.
- Δημιουργία γενετικά τροποποιημένων φυτών με βελτιωμένα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του βρώσιμου τμήματός τους και με μεγάλο μετασυλλεκτικό χρόνο διατήρησης των χαρακτηριστικών τους, όπως είναι η γεύση, το άρωμα, η υγρασία κ.ά.

3. Περιγράψτε τη μέθοδο με την οποία χρησιμοποιούνται βακτήρια με στόχο την εξολόθρευση βλαβερών για τις αγροτικές καλλιέργειες εντόμων.

Το βακτήριο *Bacillus thuringiensis* παράγει μία τοξίνη, η οποία είναι ισχυρά τοξική για πολλά είδη εντόμων. 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 T<sub>i</sub> του *Agrobacterium tumefaciens*. Τα γενετικά τροποποιημένα φυτά απέκτησαν ανθεκτικότητα στις προσβολές από έντομα και μπορούσαν να μεταβιβάσουν την ιδιότητα αυτή και στους απογόνους τους. Το πρώτο φυτό, στο οποίο ενσωματώθηκε το γονίδιο της ανθεκτικότητας στα έντομα από το *Bacillus thuringiensis*, ήταν το καλαμπόκι.

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

Η σωστή απάντηση είναι η β.

- Ένα μηρυκαστικό (πρόβατο, κασίκα, αγελάδα) που θα παράγει τον ανθρώπινο αντιπηκτικό παράγοντα ΙΧ στο γάλα του, δε θα ήταν δυνατό να προκύψει με τη μέθοδο των επιλεκτικών διασταυρώσεων, αφού τα μηρυκαστικά δεν παράγουν φυσιολογικά τον ανθρώπινο αντιπηκτικό παράγοντα ΙΧ.
- Ένα μηρυκαστικό που θα παράγει τον ανθρώπινο αντιπηκτικό παράγοντα ΙΧ στο γάλα του, θα ήταν δυνατό να προκύψει μόνο με τις μεθόδους της Γενετικής Μηχανικής. Συνοπτικά η πορεία που ακολουθούμε είναι: Απομονώνουμε το ανθρώπινο γονίδιο που παράγει τον αντιπηκτικό παράγοντα ΙΧ. Με μικροέγχυση το τοποθετούμε στον πυρήνα ενός γονιμοποιημένου ωάριου μηρυκαστικού. Τοποθετούμε το γενετικά τροποποιημένο ζυγωτό στη μήτρα ενήλικου μηρυκαστικού για κυοφορία και αυτό μετά από ορισμένους μήνες γεννάει το διαγονιδιακό ζώο, που παράγει τον ανθρώπινο αντιπηκτικό παράγοντα ΙΧ στο γάλα του.

**ΣΗΜΕΙΩΣΗ:** Τα μηρυκαστικά ζώα είναι θηλαστικά και παράγουν και αυτά αντιαιμορροφιλικές πρωτεΐνες. Προφανώς η ερώτηση αναφέρεται στον ανθρώπινο αντιπηκτικό παράγοντα ΙΧ που μπορούν να παράγουν μόνο τα κατάλληλα διαγονιδιακά ζώα.

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

Τα οικόσιτα ζώα έχουν τεράστια οικονομική σημασία για τον άνθρωπο αφού εκτρέφονται με σκοπό την παραγωγή όλων των ζωικών προϊόντων της διατροφής μας (κρέας, γάλα) αλλά και άλλων προϊόντων όπως π.χ. το μαλλί, το δέρμα κ.λ.π.

Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA χρησιμοποιείται στην κτηνοτροφία με στόχους:

- Τη δημιουργία ζώων ανθεκτικών σε ασθένειες.
- Τη δημιουργία ζώων με αυξημένη σωματική ανάπτυξη (κρεοπαραγωγή).
- Τη δημιουργία ζώων που παράγουν μεγάλες ποσότητες γάλακτος (γαλακτοπαραγωγή).
- Τη δημιουργία ζώων που παράγουν βελτιωμένα ζωικά προϊόντα.

Επιπλέον, με την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA μπορεί να δημιουργήσουμε διαγονιδιακά ζώα τα οποία μπορούν να παράγουν φαρμακευτικές πρωτεΐνες.



## ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΓΙΑ ΤΗ ΛΥΣΗ ΤΩΝ ΑΣΚΗΣΕΩΝ

Για να λύσουμε τις ασκήσεις αυτού του κεφαλαίου πρέπει να έχουμε κατά νου τα εξής:

### Α. ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΦΥΤΑ

- α.** Ορισμένα φυτικά σωματικά κύτταρα (π.χ. τα κύτταρα των οφθαλμών) μπορούν να αναγεννήσουν ένα ολόκληρο φυτό, όταν καλλιεργηθούν *in vitro*. Έτσι για τη δημιουργία διαγονιδιακών φυτών, τροποποιούνται σωματικά φυτικά κύτταρα.
- β.** Το ετερόλογο γονίδιο θα βρίσκεται στο γονιδίωμα κάθε σωματικού κυττάρου ενός διαγονιδιακού φυτού. Επομένως το ετερόλογο γονίδιο θα βρίσκεται και στο γονιδίωμα των μειοκυττάρων του φυτού.  
Θεωρούμε ότι κάθε διαγονιδιακό φυτό που δημιουργείται *in vitro* φέρει ένα μόνο αντίγραφο του ετερόλογου γονιδίου εκτός και αν από τα δεδομένα της άσκησης συνάγεται κάτι διαφορετικό.
- γ.** Η γενετική τροποποίηση των φυτών πραγματοποιείται μέσω του βακτηριακού πλασμίδιου *Ti*. Τμήμα του πλασμίδιου *Ti* που φέρει το ετερόλογο γονίδιο, ενθέτεται στο γονιδίωμα του φυτικού κυττάρου. Έτσι η ετερόλογη ιδιότητα κληρονομείται ως απλός Μενδελικός χαρακτήρας.
- δ.** Το πλασμίδιο *Ti* που χρησιμοποιείται ως φορέας του ετερόλογου γονιδίου στα φυτά, τροποποιείται γενετικά με κατάλληλα γονίδια (συνήθως ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά) ώστε να επιλέγονται εύκολα τα μετασχηματισμένα φυτικά κύτταρα.
- ε.** Πολλά φυτά έχουν τη δυνατότητα της αυτογονιμοποίησης. Έτσι, όπως και με τις επιλεκτικές διασταυρώσεις, είναι δυνατή η δημιουργία διαγονιδιακών φυτών, με περισσότερα του ενός, αντίγραφα του ετερόλογου γονιδίου.



## Β. ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΖΩΑ

- α.** Τα ζωικά κύτταρα αδυνατούν να καλλιεργηθούν περισσότερο από το όριο των 50-70 διαιρέσεων τους, *in vitro*. Επίσης, τα ζωικά κύτταρα αδυνατούν να αναγεννήσουν ένα νέο οργανισμό. Έτσι, για να είναι δυνατή η έκφραση και η μεταβίβαση της ετερόλογης ιδιότητας από ένα διαγονιδιακό ζώο, θα πρέπει αυτό να προκύψει από ένα γενετικά τροποποιημένο ζυγωτό.  
Η γενετική τροποποίηση λοιπόν, πραγματοποιείται σε γονιμοποιημένο ωάριο *in vitro*, με την τεχνική της μικροέγχυσης. Κατόπιν, το ζυγωτό αυτό τοποθετείται στη μήτρα ενός θηλυκού ζώου του ίδιου είδους, για την κυοφορία και τη γέννηση του διαγονιδιακού ζώου.
- β.** Το ετερόλογο γονίδιο βρίσκεται στο γενετικό υλικό κάθε σωματικού κυττάρου ενός διαγονιδιακού ζώου, επομένως βρίσκεται και στο DNA των μειοκυττάρων. Θεωρούμε ότι κάθε διαγονιδιακό ζώο που δημιουργείται με μικροέγχυση φέρει ένα μόνο αντίγραφο του ετερόλογου γονιδίου, εκτός και αν από τα δεδομένα της άσκησης συνάγεται κάτι διαφορετικό.
- γ.** Η γενετική τροποποίηση του γονιμοποιημένου ωαρίου του ζώου πραγματοποιείται με την τεχνική της μικροέγχυσης χωρίς τη χρήση φορέα κλωνοποίησης, απ' ευθείας στον πυρήνα. Το ετερόλογο γονίδιο ενθέτεται στο γονιδίωμα του ζώου, σε τυχαία θέση, σε ένα τυχαίο χρωμόσωμα. Έτσι, η ετερόλογη ιδιότητα κληρονομείται ως απλός Μενδελικός χαρακτήρας.
- δ.** Είναι δυνατή η δημιουργία διαγονιδιακών ζώων που παράγουν μεγαλύτερη ποσότητα του ετερόλογου προϊόντος μετά από επιλεκτικές διασταυρώσεις μεταξύ διαγονιδιακών ζώων για την ίδια ετερόλογη ιδιότητα. Τα διαγονιδιακά ζώα που διασταυρώνονται συνήθως φέρουν το ετερόλογο γονίδιο σε διαφορετικό χρωμόσωμα το καθένα.  
Επίσης, είναι δυνατή η δημιουργία διαγονιδιακών ζώων που μπορούν να παράγουν περισσότερα από ένα διαφορετικά ετερόλογα προϊόντα. Τα ζώα αυτά μπορούν να προκύψουν ως απόγονοι επιλεκτικών διασταυρώσεων μεταξύ διαγονιδιακών ζώων που φέρουν διαφορετικές ετερόλογες ιδιότητες.



- α.** Για την έκφραση ενός ετερόλογου γονιδίου σε ένα διαγονιδιακό οργανισμό (ξενιστή) είναι απαραίτητο το ετερόλογο γονίδιο να βρίσκεται μετά από έναν υποκινητή κάποιου γονιδίου που εκφράζεται ισχυρά στον οργανισμό ξενιστή. Αυτό είναι απαραίτητο ώστε ο ξενιστής να διαθέτει τους κατάλληλους μεταγραφικούς παράγοντες που αναγνωρίζουν αυτόν τον υποκινητή.  
**Δηλαδή ο υποκινητής πρέπει να ανήκει σε γονίδιο του ξενιστή ή σε κάποιο μολυσματικό παράγοντα όπως ιό ή πλασμίδιο T1 (για φυτά) που διαθέτει υποκινητή που αναγνωρίζεται από τους μεταγραφικούς παράγοντες του ξενιστή.**

Εάν το ετερόλογο προϊόν θέλουμε να παράγεται αποκλειστικά σε έναν ορισμένο ιστό ή όργανο του ξενιστή, εφόσον είναι πολυκύτταρος, τότε ο υποκινητής που θα επιλέξουμε θα πρέπει να ανήκει σε ένα φυσιολογικό γονίδιο του ξενιστή που υπερεκφράζεται σε αυτόν τον ιστό ή το όργανο ή να ανήκει σε κάποιο ιό που μολύνει αποκλειστικά αυτόν τον ιστό ή το όργανο. Μην ξεχνάτε ότι οι ιοί εμφανίζουν και ιστο-εξειδίκευση προσβολής.

**Παράδειγμα:** Για να εκφράζεται η ανθρώπινη AAT στα μαστικά κύτταρα της Tracy, που παράγουν το γάλα, θα πρέπει μπροστά από το γονίδιο της ανθρώπινης AAT να υπάρχει (τον τοποθετούμε εμείς) ένας υποκινητής ενός γονιδίου του προβάτου που εκφράζεται ισχυρά αλλά και αποκλειστικά στα μαστικά του κύτταρα. Π.χ. θα μπορούσαμε να χρησιμοποιήσουμε τον υποκινητή του γονιδίου της καζεΐνης των προβάτων. Η καζεΐνη είναι μία πρωτεΐνη του γαλακτος.

- β.** Τα φυτά και τα ζώα είναι ανώτεροι ευκαρυωτικοί οργανισμοί και διαθέτουν όλους τους μηχανισμούς γονιδιακής ρύθμισης των ευκαρυωτικών οργανισμών.
- γ.** Θεωρούμε ότι το ετερόλογο γονίδιο ενθέτεται σε σημείο του φυτικού ή του ζωϊκού γονιδιώματος που δεν είναι γονίδιο, οπότε δεν επηρεάζει τη φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού του ξενιστή. Διαφορετικά, αν από τα δεδομένα της άσκησης συνάγεται κάτι διαφορετικό, πρέπει αυτό να λαμβάνεται υπόψη για τη φυσιολογική ανάπτυξη και λειτουργία του ξενιστή.
- δ.** Τα χαρακτηριστικά των φυτών ή των ζώων που θέλουμε να βελτιώσουμε με τη βοήθεια της Βιοτεχνολογίας θεωρούμε ότι ελέγχονται μονογονιδιακά.





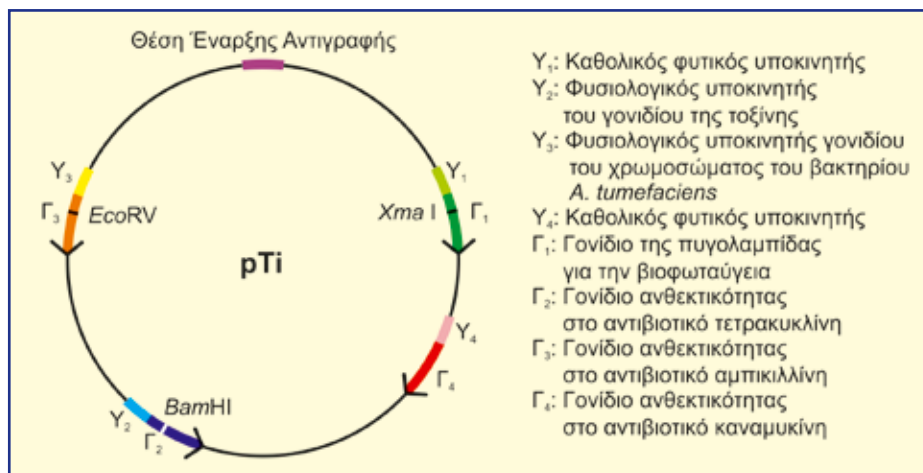
## ΑΣΚΗΣΕΙΣ - ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΓΙΑ ΛΥΣΗ

1. Στο εργαστήριο Βιοτεχνολογίας φυτών δημιουργήθηκαν διαγονιδιακά φυτά ελαιοκράμβης με τη χρήση του πλασμιδίου Ti. Το πλασμίδιο Ti που χρησιμοποιήθηκε είχε τροποποιηθεί κατάλληλα ώστε να φέρει ένα γονίδιο ανθεκτικότητας στο αντιβιοτικό καναμυκίνη για να είναι δυνατή η επιλογή των μετασχηματισμένων φυτικών κυττάρων. Δύο από τα διαγονιδιακά φυτά που δημιουργήθηκαν διασταυρώθηκαν με μη-διαγονιδιακά φυτά και πήραμε τα παρακάτω αποτελέσματα:

$P_A$ : [διαγονιδιακό φυτό A] x [φυσιολογικό φυτό]     $P_B$ : [διαγονιδιακό φυτό B] x [φυσιολογικό φυτό]  
 $F_1^A$ : 1 [διαγονιδιακά φυτά] : 1 [φυσιολογικά φυτά]     $F_2^B$ : 3 [διαγονιδιακά φυτά] : 1 [φυσιολογικά φυτά]  
Ποια μπορεί να είναι η διαφορά μεταξύ των δύο διαγονιδιακών φυτών A και B;

- ΣΗΜΕΙΩΣΗ:** Θεωρήστε ότι είναι δυνατή η εισαγωγή περισσότερων του ενός ετερόλογων γονιδίων στο γονιδίωμα ενός φυτικού κυττάρου.

2. Το φυτοπαθογόνο έντομο *Psylliodes affinis* (δορυφόρος) αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους εντομολογικούς εχθρούς της πατάτας (*Solanum tuberosum*). Ένας γεωπόνος-γενετιστής επιδιώκει τη δημιουργία μίας ανθεκτικής, στο έντομο αυτό, ποικιλίας πατάτας. Η ποικιλία αυτή έχει γονότυπο AAββ, ως προς τα αυτοσωμικά γονίδια A (A, a), με A>a και B (B, β) με B>β. Ο γεωπόνος διαθέτει δύο ποικιλίες πατάτας που είναι καθαρές σειρές ως προς τα γονίδια A και B. Η μία ποικιλία φέρει μόνο τα επικρατή χαρακτηριστικά και η άλλη ποικιλία μόνο τα υπολειπόμενα χαρακτηριστικά. Ποιες ήταν οι διασταυρώσεις που έκανε ο επιστήμονας για να δημιουργήσει την επιθυμητή ποικιλία;
3. Το πλασμίδιο Ti απομονώθηκε από το βακτήριο *A. tumefaciens* και τροποποιήθηκε *in vitro*, ώστε να χρησιμοποιηθεί ως φορέας του ετερόλογου γονιδίου της τοξίνης του *B. thuringiensis* για τη δημιουργία φυτών αραβοσίτου (*Zea mays*) Bt.



- α. Ποια περιοριστική ενδονουκλεάση απαιτείται για την ένθεση του γονιδίου της τοξίνης στο παραπάνω πλασμίδιο T1 και την έκφραση του στον αραβόσιτο;
- β. Με ποιο τρόπο θα επιλεγούν τα μετασχηματισμένα φυτικά κύτταρα;
- γ. Ποιος αναμένεται να είναι φαινότυπος, ως προς τις ετερόλογες ιδιότητες, ενός διαγονιδιακού φυτού που:
- Δέχθηκε το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο T1;
  - Δέχθηκε το μη ανασυνδυασμένο πλασμίδιο T1;
4. Φυτά Bt *Pisum sativum* που δημιουργήθηκαν *in vitro* στο εργαστήριο, αυτογονιμοποιούνται.
- Με ποια πιθανότητα οι απόγονοι θα είναι φυτά όμοια με τα μητρικά;
  - Με ποια πιθανότητα οι απόγονοι θα είναι φυτά μη-διαγονιδιακά;
  - Με ποια πιθανότητα οι απόγονοι θα φέρουν περισσότερα από ένα αντίγραφα του ετερόλογου γονιδίου;
  - Εξηγήστε γιατί τα άτομα του ερωτήματος γ είναι ομόζυγα για το ετερόλογο γονίδιο. Είναι δυνατό κάτι τέτοιο χωρίς αυτογονιμοποίηση;
5. Στο εργαστήριο Βιοτεχνολογίας ζώων γεννήθηκαν δύο διαγονιδιακά κατσικάκια, ένα αρσενικό και ένα θηλυκό. Και τα δύο φέρουν ένα αντίγραφο του ανθρώπινου γονιδίου της ινσουλίνης. Το κάθε ζώο φέρει το ανθρώπινο γονίδιο σε διαφορετικό χρωμόσωμα. Το αρσενικό ζώο φέρει το ετερόλογο γονίδιο στο 10<sup>ο</sup> ζεύγος των χρωμοσωμάτων. Το θηλυκό ζώο φέρει το ετερόλογο γονίδιο στα φυλετικά χρωμοσώματα. Μετά την ενηλικίωσή τους, τα ζώα αυτά διασταυρώνονται:
- Με ποια πιθανότητα οι απόγονοι θα φέρουν από δύο αντίγραφα του ετερόλογου γονιδίου; Ποιο θα είναι το φύλο αυτών των ζώων;
  - Με ποια πιθανότητα θα προκύψει απόγονος με τον γονότυπο του θηλυκού γονέα;
  - Με ποια πιθανότητα θα προκύψει απόγονος με τον γονότυπο του αρσενικού γονέα;
6. Μία ερευνητική ομάδα ενός γεωπονικού ερευνητικού ιδρύματος, δημιούργησε ένα διαγονιδιακό ζώο που παράγει στο γάλα του την ανθρώπινη AAT και στα ούρα του την ανθρώπινη αντιαιμορροφιλική πρωτεΐνη IX. Δεχόμενοι ότι κάθε γονιμοποιημένο ωάριο που μετασχηματίζεται με μικροέγχυση δεν μπορεί να δεχθεί περισσότερα από ένα ετερόλογα γονίδια, εξηγήστε πως προέκυψε αυτό το διαγονιδιακό ζώο. Ποια είναι η προϋπόθεση για την έκφραση του κάθε ετερόλογου γονιδίου σε διαφορετικό ιστό του σώματος του διαγονιδιακού ζώου;
7. Μία ερευνητική ομάδα κατάφερε να δημιουργήσει μετά από επιλεκτικές διασταυρώσεις μεταξύ απογόνων ενός διαγονιδιακού ζεύγους προβάτων, ένα διαγονιδιακό πρόβατο, το οποίο έφερε τέσσερα αντίγραφα του γονιδίου μίας φαρμακευτικής πρωτεΐνης στο γονιδίωμά του. Πώς έγινε εφικτό κάτι τέτοιο; Ποια είναι η προϋπόθεση για τη δημιουργία ενός τέτοιου ζώου;



## ΔΙΑΓΩΝΙΣΜΑ

### Ζήτημα 1ο

#### A. Να σημειώσετε τη σωστή απάντηση.

##### 1. Για τη θεραπεία της αιμορροφιλίας Β, χορηγείται:

- α. Ο αντιαιμορροφιλικός παράγοντας VIII.
- β. Ο αντιαιμορροφιλικός παράγοντας IX.
- γ. α<sub>1</sub>-αντιθρυψίνη.
- δ. Τα α και β.

##### 2. Το εμφύσημα προκαλείται από:

- α. Έλλειψη ADA.
- β. Έλλειψη ΑΤΤ.
- γ. Έλλειψη ΑΑΤ.
- δ. Έλλειψη CD4.

##### 3. Το βακτήριο *Bacillus thuringiensis*:

- α. Φέρει το πλασμίδιο T<sub>i</sub>.
- β. Δημιουργεί όγκους στα φυτά, όταν τα προσβάλλει.
- γ. Επάγει την προσβολή των φυτών από σκώληκες.
- δ. Αποτελεί μέρος της μικροχλωρίδας του εδάφους.

##### 4. Η Dolly αποτελεί κλώνο:

- α. Ενός έμβριου προβάτου.
- β. Ενός εννιάχρονου προβάτου.
- γ. Ενός εξάχρονου προβάτου.
- δ. Ενός ωαρίου προβάτου.

##### 5. Ένα διαγονιδιακό ζώο:

- α. Φέρει το ετερόλογο γονίδιο μόνο στα μαστικά του κύτταρα, όπου και το εκφράζει.
- β. Δεν μπορεί να μεταβιβάσει την ετερόλογη γενετική πληροφορία στους απογόνους.
- γ. Το ετερόλογο γονίδιο υπάρχει στο DNA όλων των κυττάρων του.
- δ. Τίποτα από τα παραπάνω.

(Μόρια 15)



**B. Να χαρακτηρίσετε με σωστό (Σ) ή λάθος (Λ) τις παρακάτω προτάσεις:**

- |  | <b>Σ</b>                 | <b>Λ</b>                 |
|--|--------------------------|--------------------------|
| 1. Στο γονιδίωμα ενός φυτού εντοπίστηκε με υβριδοποίηση τμήμα του πλασμιδίου T <sub>i</sub> . Συνεπώς το φυτό αυτό είναι διαγονιδιακό.               | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 2. Η μοναδική μέθοδος δημιουργίας διαγονιδιακών φυτών είναι η μικροέγχυση.   | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 3. Τα φυτικά κύτταρα στο γενετικό υλικό των οποίων ενθέεται το ανασυνδασμένο πλασμιδιο T <sub>i</sub> , αποκτούν την ιδιότητα να σχηματίζουν όγκους. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 4. Η ανθρώπινη ινσουλίνη που παράγεται από διαγονιδιακά ζώα δεν απαιτεί <i>in vitro</i> ενζυμική τροποποίηση για να καταστεί λειτουργική.            | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 5. Η Dolly έφερε γονίδια και από το ωάριο που χρησιμοποιήθηκε για την δημιουργία της.  | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

**(Μόρια 10)**

## **Ζήτημα 2ο**

**A. Να συγκρίνετε τους δύο τρόπους γενετικής βελτίωσης ζώων που γνωρίζετε.**

**(Μόρια 15)**

**B. Ποιοι είναι οι στόχοι της Βιοτεχνολογίας φυτών; Ποια είναι τα κυριότερα φυτά που έχουν τροποποιηθεί γενετικά;**

**(Μόρια 10)**

## **Ζήτημα 3ο**

**A. Να περιγράψετε τη διαδικασία που θα ακολουθήσετε για να δημιουργήσετε ένα διαγονιδιακό ζώο, το οποίο θα παράγει την αυξητική ορμόνη στο γάλα του.**

**(Μόρια 10)**

**B. Να περιγράψετε την αντίστοιχη διαδικασία για τη δημιουργία ενός γενετικά τροποποιημένου βακτηρίου που θα παράγει την ορμόνη αυτή. Να συγκρίνετε τις δύο αυτές μεθόδους παραγωγής φαρμακευτικών πρωτεϊνών ως προς το παραγόμενο προϊόν.**

**(Μόρια 15)**

## Ζήτημα 4ο

Ένα διαγονιδιακό πρόβατο εκκρίνει 4g ινσουλίνης/lit γάλακτος. Με δεδομένο ότι η μέση παραγωγή γάλακτος για τα πρόβατα είναι περίπου 300lit/έτος και βάση το γεγονός ότι κάθε ασθενής με διαβήτη χρειάζεται 200g φαρμακευτικής πρωτεΐνης/έτος για τον πληθυσμό των 60.000.000 ατόμων του πλανήτη που πάσχουν από διαβήτη, πόσα διαγονιδιακά ζώα πρέπει να υπάρχουν για να καλύψουν τις ανάγκες των ασθενών;

*(Μόρια 25)*

