

Β' Τεύχος

8ο Κεφάλαιο

2ο ΘΕΜΑ

51. «Το ιδανικό φάρμακο», είπε ο πρωτοπόρος Γερμανός γιατρός Ehrlich, «πρέπει να μπορεί να εξουδετερώνει τις μολύνσεις χωρίς να προκαλεί παρενέργειες στον οργανισμό». Η φύση έχει φτιάξει ένα «τέλειο φάρμακο», τα αντισώματα. Τα αντισώματα είναι πρωτεϊνικά μόρια, που παράγονται από τα Β-λεμφοκύτταρα του ανοσοποιητικού μας συστήματος, όταν ένα αντιγόνο (πχ παθογόνος μικροοργανισμός) προσβάλλει τον οργανισμό. Τα αντισώματα αντιδρούν με το αντιγόνο και το εξουδετερώνουν.

α. Ένας συμμαθητής σας υποστηρίζει στο μάθημα Βιολογίας ότι «ο οργανισμός μας είναι ικανός να παράγει διαφορετικά είδη αντισωμάτων» για ένα συγκεκριμένο αντιγόνο πχ ένα βακτήριο. Να δικαιολογήσετε γιατί η άποψη του συμμαθητή σας είναι ορθή (μονάδες 3). Σε ποια περίπτωση θα χαρακτηρίζατε τα αντισώματα μονοκλωνικά (μονάδες 3);

β. Να περιγράψετε την μέθοδο παραγωγής μονοκλωνικών αντισωμάτων (μονάδες 6).

Μονάδες 12

α. Η άποψη του συμμαθητή μας είναι ορθή διότι στην πραγματικότητα, ένα αντίσωμα αναγνωρίζει μόνο μία περιοχή του αντιγόνου, η οποία ονομάζεται αντιγονικός καθοριστής. Ένα μεγάλο αντιγόνο, π.χ. ένας μικροοργανισμός (βακτήριο), έχει πολλούς αντιγονικούς καθοριστές γι' αυτό παράγονται πολλά είδη αντισωμάτων εναντίον του. Κάθε είδος αντισώματος που αναγνωρίζει έναν αντιγονικό καθοριστή παράγεται από μια ομάδα όμοιων Β-λεμφοκυττάρων, που αποτελούν έναν κλώνο. Τα αντισώματα που παράγονται από έναν κλώνο Β-λεμφοκυττάρων ονομάζονται μονοκλωνικά.

β. Ένα επιλεγμένο αντιγόνο χορηγείται με ένεση σε ποντίκι και προκαλεί ανοσολογική αντίδραση με αποτέλεσμα να αρχίσει η παραγωγή αντισωμάτων από εξειδικευμένα Β-λεμφοκύτταρα. Ύστερα από δύο εβδομάδες αφαιρείται ο σπλήνας και απομονώνονται τα Β-λεμφοκύτταρα. Τα κύτταρα αυτά συντήκονται με καρκινικά κύτταρα και παράγονται τα υβριδώματα που παράγουν μονοκλωνικά αντισώματα. Τα υβριδώματα μπορούν να φυλάσσονται για μεγάλα χρονικά διαστήματα στην κατάψυξη (-80°C) και να παράγουν οποιαδήποτε στιγμή το συγκεκριμένο μονοκλωνικό αντίσωμα σε μεγάλες ποσότητες.

84. Η κυστική ίνωση οφείλεται σε μεταλλάξεις ενός γονιδίου, το οποίο κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη, τη CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), που είναι απαραίτητη για τη σωστή λειτουργία των επιθηλιακών κυττάρων των πνευμόνων και άλλων οργάνων. Κύριο χαρακτηριστικό της νόσου είναι η εμφάνιση ιδιαίτερα παχύρρευστων και αφυδατωμένων εκκρίσεων από διάφορα όργανα και αδένες του σώματος. Το 1993, εφαρμόστηκε πρώτη φορά *in vivo* γονιδιακή θεραπεία για τη θεραπεία της νόσου.

α. Να εξηγήσετε γιατί επιλέχθηκε *in vivo* γονιδιακή θεραπεία και όχι *ex vivo* (μονάδες 4) και να γράψετε μια γενετική ασθένεια για τη θεραπεία της οποίας θα μπορούσαμε να επιλέξουμε *ex vivo* γονιδιακή θεραπεία (μονάδες 2).

β. Να περιγράψετε την πειραματική διαδικασία που ακολουθούμε για την *in vivo* γονιδιακή

α. Στην περίπτωση της κυστικής ίνωσης, που πρέπει να τροποποιηθούν τα επιθηλιακά κύτταρα των πνευμόνων (δεν είναι δυνατόν να απομονωθούν), τα φυσιολογικά γονίδια ενσωματώνονται σε “έξυπνους” φορείς, που εισάγονται κατευθείαν στον οργανισμό. Αυτός ο τύπος θεραπείας ονομάζεται *in vivo* γονιδιακή θεραπεία.

Στον τύπο της γονιδιακής θεραπείας που ονομάζεται *ex vivo*, τα κύτταρα τροποποιούνται έξω από τον οργανισμό και εισάγονται πάλι σ' αυτόν. Τα κύτταρα του αιμοποιητικού συστήματος μπορούν να τροποποιούνται γενετικά, να αναπτύσσονται σε κυτταροκαλλιέργειες και να εισάγονται με ενδοφλέβια ένεση στον οργανισμό όπως στην περίπτωση της ανεπάρκειας του ανοσοποιητικού συστήματος που οφείλεται στην έλλειψη του ενζύμου απαμινάση της αδενοσίνης (ADA) (ή εναλλακτικά για τη θεραπεία κάποιας αιμοσφαιρινοπάθειας).

β. Η διαδικασία της *in vivo* γονιδιακής θεραπείας περιλαμβάνει την ενσωμάτωση του φυσιολογικού γονιδίου σε έναν αδενοϊό. Ο ανασυνδυασμένος ιός εισάγεται στον οργανισμό με ψεκασμό με τη βοήθεια βρογχοσκοπίου ώστε να μολύνει τα κύτταρα του αναπνευστικού συστήματος. Μετά την εισαγωγή του στα κύτταρα, το φυσιολογικό γονίδιο ενσωματώνεται στο γονιδίωμα τους και εκφράζει το φυσιολογικό προϊόν που χρειάζεται για την λειτουργία των κυττάρων.

90. Η ανακάλυψη του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου κατά τη δεκαετία του 1950, έφερε μια πραγματική επανάσταση στην επιστήμη της Βιολογίας, αφού ένας άγνωστος, έως τότε, κόσμος, ο κόσμος των ιών, άρχισε να ξετυλίγεται μπροστά στα μάτια των επιστημόνων. Έτσι, από την μελέτη μιας οικογένειας ιών, ανακαλύφθηκε το ένζυμο “αντίστροφη μεταγραφάση”. Επιπλέον μελετήθηκαν ιοί που αξιοποιούνται σήμερα από τη βιοτεχνολογία στην παραγωγή εμβολίων ή προκειμένου να γίνει γενετική διόρθωση γενετικά καθοριζόμενων ασθενειών.

α. Να αναφέρετε την οικογένεια των ιών από την οποία απομονώθηκε η αντίστροφη μεταγραφάση (μονάδα 1) και να εξηγήσετε τον λόγο για τον οποίο η παραπάνω ανακάλυψη θεωρήθηκε κρίσιμη για την διατύπωση του Κεντρικού Δόγματος της Μοριακής Βιολογίας (μονάδες 3). Να εξηγήσετε τον τρόπο με τον οποίο το παραπάνω ένζυμο χρησιμοποιείται σήμερα στην τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA (μονάδες 2).

β. Να εξηγήσετε τους τρόπους με τους οποίους η βιοτεχνολογία χρησιμοποιεί σήμερα τους ιούς στην προσπάθεια της πρόληψης (μονάδες 3), αλλά και της αντιμετώπισης καθορισμένων ασθενειών (μονάδες 4).

α. Η αντίστροφη μεταγραφάση απομονώθηκε από την κατηγορία των ρετροϊών. Η παραπάνω ανακάλυψη θεωρήθηκε κρίσιμη για την επιστήμη της Βιολογίας, αφού έως τότε το Κεντρικό Δόγμα της Βιολογίας (ΚΔΜΒ) υποστήριζε την μονόδρομη πορεία από το DNA προς το RNA και από το RNA προς τις πρωτεΐνες. Επομένως, μετά την ανακάλυψη της αντίστροφης μεταγραφάσης, για πρώτη φορά οι επιστήμονες διαπίστωσαν ότι και το μόριο RNA μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως καλούπι για την σύνθεση συμπληρωματικού κλώνου DNA, με την παρουσία του κατάλληλου ενζύμου που καταλύει την σχετική αντίδραση. Έτσι, το ΚΔΜΒ συμπληρώθηκε με την παραπάνω αντίδραση που ονομάστηκε αντίστροφη μεταγραφάση. Η αντίστροφη μεταγραφάση χρησιμοποιείται σήμερα στην βιοτεχνολογία στα πλαίσια της κατασκευής cDNA βιβλιοθηκών. Σε αρχικό στάδιο της διαδικασίας αυτής και μετά την απομόνωση των ώριμων μορίων mRNA από το κυτταρόπλασμα των κατάλληλων κυττάρων, το ένζυμο αυτό, συνθέτει, με κατεύθυνση 5'→3', τις συμπληρωματικές αλυσίδες cDNA ώστε αυτά στη συνέχεια να μετατραπούν σε δί-

κλωνα DNA μόρια.

β. Στην προσπάθεια της πρόληψης ορισμένων ασθενειών, η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA συνέβαλε στην ανάπτυξη μιας νέας γενιάς εμβολίων. Σε αυτά περιλαμβάνονται τα εμβόλια από ζωντανούς γενετικά τροποποιημένους ιούς. Στην περίπτωση αυτών των εμβολίων, γονίδια από επικίνδυνο ιό ή άλλο μικροοργανισμό ενσωματώνονται σε άλλο ιό, που είναι αβλαβής για τον άνθρωπο, όπως ο ιός της δαμαλίτιδας. Ο γενετικά τροποποιημένος ιός που προκύπτει εξακολουθεί να είναι αβλαβής, αλλά επειδή παράγει την αντιγονική πρωτεΐνη του επικίνδυνου ιού ή του μικροοργανισμού, εισάγεται στο σώμα και προκαλεί έντονη ανοσολογική αντίδραση. Όσον αφορά στη θεραπεία πολύ σοβαρών γενετικών ασθενειών, με γονιδιακή θεραπεία, η βιοτεχνολογία χρησιμοποιεί διάφορους ιούς ως μεταφορείς φυσιολογικών γονιδίων σε ασθενείς, που λόγω γενετικών μεταλλάξεων δεν παράγουν τα προϊόντα των γονιδίων αυτών. Στην περίπτωση αυτή, ο ιός που επιλέγεται, αρχικά τροποποιείται ώστε να γίνει αβλαβής και στη συνέχεια σε αυτόν εισάγεται το επιθυμητό γονίδιο με τις τεχνολογίες του ανασυνδυασμένου DNA. Σε οποιοδήποτε τύπο γονιδιακής θεραπείας και αν επιλεγεί (είτε *ex vivo* θεραπεία, όπως στην περίπτωση ασθενειών του αιμοποιητικού συστήματος, είτε *in vivo* θεραπεία), ο γενετικά τροποποιημένος ιός προσβάλλει τα κύτταρα-στόχους του ασθενούς εισάγοντας σε αυτά το επιθυμητό γονίδιο, το οποίο στη συνέχεια ενσωματώνεται στο γονιδίωμά τους, οπότε παράγεται το φυσιολογικό προϊόν (εναλλακτικά: στον τομέα της θεραπείας, η χρήση ιών για την ενεργοποίηση κυττάρων προκειμένου να απομονωθούν από αυτά ώριμα mRNA ιντερφερονών στα πλαίσια της βιοτεχνολογικής παραγωγής τους σε ευρεία κλίμακα).

92. Τα τελευταία 40 χρόνια είναι γεγονός ότι η βιοτεχνολογία έχει να επιδείξει θεαματικά αποτελέσματα σε πολλούς και σημαντικούς τομείς που ενδιαφέρουν τον άνθρωπο, όπως σε εκείνους της Κτηνοτροφίας, της Γεωργίας, της Βιομηχανίας, της Προστασίας του Περιβάλλοντος και της Ιατρικής. Αναφορικά με την τελευταία, η βιοτεχνολογία έχει συμβάλει αποτελεσματικά σε τρεις βασικούς στόχους της Ιατρικής, που είναι: η έγκαιρη διάγνωση, η πρόληψη και η αποτελεσματική θεραπεία μιας ασθένειας.

α. Να επισημάνετε δύο προϋποθέσεις που απαιτούνται για την αποτελεσματική θεραπεία γενετικά των ασθενειών (μονάδες 2) και να αναφέρετε παραδείγματα σύγχρονων θεραπευτικών μεθόδων, που έχουν αναπτυχθεί και στηριχθεί στη τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA (μονάδες 4).

β. Να αναφέρετε τι προϋποθέτει η έγκαιρη διάγνωση μιας ασθένειας (μονάδες 3), καθώς και τι απαιτείται για την πρόληψη σοβαρών ασθενειών με την επαγωγή της ενεργητικής ανοσίας (μονάδες 4).

Μονάδες 13

α. Η αποτελεσματική θεραπεία μιας ασθένειας προϋποθέτει την κατανόηση των βιοχημικών μηχανισμών και του γενετικού υπόβαθρου της ασθένειας, έτσι ώστε να εφαρμοστεί η κατάλληλη θεραπεία, είτε με φαρμακευτική αγωγή, είτε ακόμη και με «γενετική διόρθωση» της βλάβης. Μερικές θεραπείες που έχουν αναπτυχθεί και στηριχθεί στις τεχνικές της βιοτεχνολογίας είναι:

i) τα μονοκλωνικά αντισώματα, τα οποία μπορούν, είτε να «γίνουν μεταφορείς» ισχυρών αντικαρκινικών φαρμάκων, καθώς όταν εισαχθούν στον οργανισμό βρίσκουν και προσβάλλουν τα καρκινικά κύτταρα-στόχους, είτε χρησιμοποιούνται ως εξειδικευμένα φάρμακα έναντι παθογόνων μικροοργανισμών.

ii) η παραγωγή και χορήγηση φαρμακευτικών πρωτεϊνών, όπως π.χ. της ινσουλίνης, που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία του διαβήτη, iii) η παραγωγή αντιβιοτικών, καθώς και iv) η γονιδιακή θεραπεία πολλών σοβαρών γενετικών ασθενειών, όπως της κυστικής ίνωσης, του

συνδρόμου επίκτητης ανοσολογικής ανεπάρκειας (AIDS) και διαφόρων τύπων καρκίνου.

β. Η έγκαιρη διάγνωση μιας ασθένειας απαιτεί την ανάπτυξη ευαίσθητων τεχνικών που μπορούν: 1. να εντοπίσουν την ασθένεια στα αρχικά της στάδια, πριν να εμφανιστούν τα συμπτώματά της στον οργανισμό, 2. να ανιχνεύσουν κάποια μόλυνση από παθογόνους οργανισμούς ή 3. να διαπιστώσουν την ύπαρξη κάποιας κληρονομικής ασθένειας.

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

94. Η γονιδιακή θεραπεία αποτελεί μια σημαντική θεραπευτική προσέγγιση σε σοβαρές ασθένειες που οφείλονται σε βλάβες σε γονίδια. Οι βλάβες αφορούν κυρίως αλλαγές σε αζωτούχες βάσεις του DNA των οργανισμών και όταν είναι κληρονομικές εμφανίζονται συνήθως σε μικρή ηλικία οδηγώντας σε ποικίλα νοητικά και αναπτυξιακά προβλήματα.

α. Είναι βασικό να τονιστεί ότι, παρόλο που η γονιδιακή θεραπεία παρουσιάζεται ως πανάκεια στην Ιατρική, η εφαρμογή της, τουλάχιστον στο άμεσο μέλλον, θα είναι περιορισμένη επειδή δεν έχουν ακόμη ξεπεραστεί προβλήματα όπως αυτά που αφορούν τη χρήση των «έξυπνων» φορέων. Να γράψετε ποιο θεωρείτε ότι είναι το βασικό πρόβλημα που σχετίζεται με την χρήση των φορέων αυτών (μονάδες 3). Να αναφέρετε δύο επιπρόσθετες δυσκολίες που αφορούν στην εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας (μονάδες 4).

β. Κάποιοι υποστηρίζουν την άποψη ότι «η γονιδιακή θεραπεία επηρεάζει τους απογόνους των ατόμων στα οποία έχει εφαρμοστεί». Συμφωνείτε με την άποψη αυτή (μονάδα 1); Να δικαιολογήσετε την απάντησή σας (μονάδες 3).

γ. Να ονομάσετε δύο ασθένειες για τις οποίες έχει εφαρμοστεί η γονιδιακή θεραπεία (μονάδες 2).

Μονάδες 13

α. Στις περισσότερες περιπτώσεις ως φορείς των φυσιολογικών αλληλομόρφων για τη γονιδιακή θεραπεία χρησιμοποιούνται ιοί, που προσβάλλουν κύτταρα του ιστού που πάσχει, οι οποίοι αν και καθίστανται αβλαβείς, έχουν μικρή πιθανότητα να προκαλέσουν παρενέργειες και σε ορισμένες περιπτώσεις καρκίνο. Έτσι λοιπόν η ανάπτυξη πιο κατάλληλων φορέων είναι ο επόμενος στόχος για τη βελτίωση των μεθόδων της γονιδιακής θεραπείας. Άλλα μειονεκτήματα της γονιδιακής θεραπείας είναι ότι μπορεί να εφαρμοστεί μόνο σε συγκεκριμένες περιπτώσεις ασθενειών, δηλαδή ασθενειών που είναι μονογονιδιακές και που τα κύτταρα που χρειάζεται να τροποποιηθούν μπορούν να απομονωθούν και να εισαχθούν ξανά στον οργανισμό (όπως στην περίπτωση της έλλειψης της ADA) ή μπορούν να τροποποιηθούν στο εσωτερικό του οργανισμού, αν μπορούμε να τα προσεγγίσουμε (όπως στην περίπτωση της κυστικής ίνωσης). Επίσης, στην περίπτωση της ex vivo θεραπείας τα τροποποιημένα κύτταρα δε ζουν για πάντα μέσα στον οργανισμό - δηλαδή η θεραπεία δεν είναι μόνιμη - και χρειάζεται συνεχής έγχυση τέτοιων κυττάρων (εναλλακτικά: μειονέκτημα αποτελεί το γεγονός ότι δεν μπορούμε να αντικαταστήσουμε το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο, άρα δεν μπορούμε να διορθώσουμε με τις τεχνικές που αναφέρονται στο σχολικό εγχειρίδιο, ασθένειες που οφείλονται σε επικρατή αλληλόμορφα).

β. Δεν είναι δικαιολογημένη η άποψη αυτή, διότι με τις μεθόδους της γονιδιακής θεραπείας δε γίνεται αντικατάσταση του μεταλλαγμένου γονιδίου στα κύτταρα του οργανισμού αλλά ενσωμάτωση του φυσιολογικού αντιγράφου του στο γονιδίωμα συγκεκριμένων σωματικών κυττάρων. Συνεπώς, εφόσον δεν τροποποιούνται άωρα γεννητικά κύτταρα ή γαμέτες, δεν μεταβιβάζεται το φυσιολογικό αλληλόμορφο στους απογόνους.

γ. Δύο ασθένειες για τις οποίες έχει εφαρμοστεί γονιδιακή θεραπεία είναι οι εξής:
Η ανεπάρκεια ανοσοποιητικού συστήματος λόγω έλλειψης της ADA.
Η κυστική ίνωση.

108. Η χαρτογράφηση του ανθρώπινου γονιδιώματος και η ανάλυση της αλληλουχίας των βάσεων όλων των γονιδίων και των ρυθμιστικών περιοχών του αποτελεί ένα από τα μεγαλύτερα εγχειρήματα στην ιστορία της βιολογίας, με σημαντικό όφελος στον τομέα της ιατρικής. Παράλληλα όμως, αξιοποιήθηκαν δεδομένα και από την χαρτογράφηση άλλων πρότυπων οργανισμών (συγκριτική γονιδιωματική).

α. Να περιγράψετε πως συνέβαλε η ανάλυση του ανθρώπινου γονιδιώματος στον τομέα της ιατρικής (μονάδες 6).

β. Να εξηγήσετε ποιο είναι το όφελος από τη συγκριτική χαρτογράφηση πρότυπων οργανισμών και του ανθρώπου (μονάδες 7).

Μονάδες 13

α. Η ανάλυση του ανθρώπινου γονιδιώματος συνέβαλε στην ανάπτυξη μεθοδολογίας για τη διάγνωση και τη θεραπεία των ασθενειών με τον προσδιορισμό της θέσης και της αλληλουχίας των γονιδίων που έχουν μεταλλαχθεί και σχετίζονται με διάφορες ασθένειες. Μάλιστα, η χαρτογράφηση των γονιδίων και η επακόλουθη κλωνοποίηση ορισμένων από αυτά αποτέλεσε προϋπόθεση για την εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας ασθενειών. Τέλος, ενίσχυσε τη μαζική παραγωγή προϊόντων, με τις μεθόδους που χρησιμοποιεί η Βιοτεχνολογία, μετά την απομόνωση των γονιδίων, τα οποία είναι χρήσιμα στη φαρμακοβιομηχανία.

β. Το πρόγραμμα του ανθρώπινου γονιδιώματος συνέβαλε στη μελέτη της εξέλιξης του ανθρώπινου γονιδιώματος. Για το σκοπό αυτό διενεργήθηκαν και συγκρίθηκαν παράλληλα προγράμματα προσδιορισμού της αλληλουχίας άλλων ειδών, τα οποία συνέβαλαν στην αποκάλυψη των εξελικτικών σχέσεων που υπάρχουν μεταξύ των ειδών. Τέτοια είδη είναι το πρόβατο, ο σκύλος, η αγελάδα, διάφορα έντομα, ο γεωσκώληκας, καθώς και πολλοί μικροοργανισμοί.

109. Η cDNA βιβλιοθήκη αποτελεί μια βιβλιοθήκη έκφρασης με την οποία μπορεί να παραχθεί το προϊόν ενός κλωνοποιημένου γονιδίου σε μεγάλη ποσότητα με τη βοήθεια βακτηριακών καλλιιεργειών.

α. Να δώσετε τον ορισμό αυτής της βιβλιοθήκης (μονάδες 3) και να γράψετε ποιες περιπτώσεις γονιδίων (που κωδικοποιούν πρωτεΐνες) μπορούν να εκφραστούν σε αυτή (μονάδες 3).

β. Να εξηγήσετε γιατί οι επιστήμονες ανέπτυξαν τη cDNA βιβλιοθήκη για την έκφραση κλωνοποιημένων γονιδίων σε βακτήρια και δεν χρησιμοποίησαν την γονιδιωματική βιβλιοθήκη για τον ίδιο σκοπό (μονάδες 6).

Μονάδες 12

α. Το σύνολο των βακτηριακών κλώνων που περιέχει αντίγραφα των ώριμων mRNA (και συγκεκριμένα μόνο των εξωνίων αυτών) όλων των γονιδίων που εκφράζονται σε συγκεκριμένα είδη κυττάρων αποτελεί μια cDNA βιβλιοθήκη. Σε αυτή, μπορούν να περιλαμβάνονται όλα τα γονίδια που κωδικοποιούν για πρωτεΐνες (όχι τα γονίδια rRNA, tRNA, snRNA) που εκφράζονται σε έναν κυτταρικό τύπο, μία δεδομένη χρονική στιγμή ή/και σε ένα κατάλληλο αναπτυξιακό στάδιο, τα οποία θεωρητικά μπορούν όλα να εκφραστούν. Ωστόσο, στα βακτηριακά κύτταρα δεν μπορούν να γίνουν οι πρωτεϊνικές τροποποιήσεις των ευκαρυωτικών κυττάρων. Στην περίπτωση της ινσουλίνης, για παράδειγμα, το λειτουργικό μόριο παράγεται με κατάλληλη ενζυμική κατεργασία *in vitro*, όμως για να επιτευχθούν πιο σύνθετες τροποποιήσεις, η έκφραση

των πρωτεϊνών πρέπει να γίνει σε ευκαρυωτικά και όχι βακτηριακά κύτταρα (π.χ. διαγονιδιακά ζώα ή καλλιέργειες ευκαρυωτικών κυττάρων).

β. Οι κλώνοι μιας cDNA βιβλιοθήκης περιέχουν ολόκληρα γονίδια (χωρίς εσώνια) που εκφράζονται σε πρωτεΐνες, ενώ μια γονιδιωματική βιβλιοθήκη περιέχει έναν τεράστιο αριθμό από κλωνοποιημένα κομμάτια χρωμοσωμικού DNA. Ορισμένα από τα κομμάτια αυτά περιέχουν ολόκληρα γονίδια, άλλα περιέχουν κομμάτια γονιδίων και άλλα τμήματα DNA που δεν κωδικοποιούν πρωτεΐνες. Συνεπώς δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί το κλωνοποιημένο DNA μια γονιδιωματικής βιβλιοθήκης για την παραγωγή πρωτεϊνών.
