

9^ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ

Εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας στην Γεωργία και την Κτηνοτροφία

Εισαγωγή

- *Ποιοί είναι οι παραδοσιακοί τρόποι βελτίωσης της φυτικής και ζωικής παραγωγής;*
Οι παραδοσιακοί τρόποι βελτίωσης της φυτικής και ζωικής παραγωγής είναι οι ελεγχόμενες από τον άνθρωπο διασταυρώσεις φυτών και ζώων. Πραγματοποιούνται με την επιλογή φυτών και ζώων, που πλεονεκτούν για κάποια συγκεκριμένα χαρακτηριστικά, τα οποία διασταυρώνονται με σκοπό τη δημιουργία απογόνων με επιθυμητές ιδιότητες. Οι ελεγχόμενες διασταυρώσεις οδηγούν σε τροποποίηση της γενετικής σύστασης των οργανισμών.
- *Ποιά είναι η συμβολή της Γενετικής Μηχανικής στην βελτίωση των φυτών και των ζώων;*
Η χρήση των σύγχρονων τεχνικών της Γενετικής Μηχανικής παρέχει τη δυνατότητα προσθήκης νέων γονιδίων απευθείας στον οργανισμό.
- *Τι είναι τα διαγονιδιακά φυτά και ζώα;*
Τα φυτά και τα ζώα που έχουν υποστεί γενετική αλλαγή με τις τεχνικές της Γενετικής Μηχανικής ονομάζονται διαγονιδιακά ή γενετικά τροποποιημένα. Οι προσπάθειες των ερευνητών επικεντρώνονται στη δημιουργία γενετικά τροποποιημένων οργανισμών, όπως:
- *Πού επικεντρώνονται οι προσπάθειες των ερευνητών όσον αφορά την δημιουργία διαγονιδιακών φυτών και ζώων;*
Οι προσπάθειες των ερευνητών επικεντρώνονται στη δημιουργία γενετικά τροποποιημένων οργανισμών, όπως:
 - α) Φυτών και ζώων με ανθεκτικότητα σε ασθένειες.
 - β) Φυτών με ανθεκτικότητα σε έντομα και ζιζανιοκτόνα.
 - γ) Φυτών των οποίων τα προϊόντα έχουν μεγαλύτερη «διάρκεια ζωής», μέχρι να φτάσουν στον καταναλωτή.
 - δ) Ζώων ικανών να παράγουν φαρμακευτικές πρωτεΐνες,
- *Ποιά είναι τα πλεονεκτήματα των τεχνικών της Γενετικής Μηχανικής έναντι των ελεγχόμενων διασταυρώσεων;*

Ελεγχόμενες από τον άνθρωπο διασταυρώσεις

- 1) Αποτελούν χρονοβόρες και επίπονες διαδικασίες διότι χρειάζονται συνεχείς διασταυρώσεις.
- 2) Οι απόγονοι φέρουν συνήθως ορισμένους από τους επιθυμητούς χαρακτήρες σε συνδυασμό με άλλες μη επιθυμητές ιδιότητες.

Διαγονιδιακά φυτά και ζώα

- 1) Η παραγωγή βελτιωμένων φυτών και ζώων επιτυγχάνεται σε πιο σύντομο χρονικό διάστημα σχετικά με αυτό που απαιτούσαν οι παραδοσιακές τεχνικές.
- 2) Επιτυγχάνονται επιλογή και προσθήκη μόνο επιθυμητών ιδιοτήτων με ταυτόχρονη διατήρηση των παλαιών επιθυμητών χαρακτηριστικών.

Διαγονιδιακά φυτά

- *Ποιά φυτά έχουν τροποποιηθεί γενετικά και για ποιες ιδιότητες;*
Οι προσπάθειες των ερευνητών επικεντρώνονται στη δημιουργία γενετικά τροποποιημένων φυτών τα οποία θα δίνουν τη δυνατότητα στους αγρότες:
 - 1) Να προφυλάσσουν αποτελεσματικά τις καλλιέργειες από τα έντομα και τα ζιζάνια.

2) Να παράγουν προϊόντα τα οποία έχουν μεγαλύτερη «διάρκεια ζωής» από το χωράφι έως τον καταναλωτή.

Τα κυριότερα φυτά τα οποία έχουν τροποποιηθεί για τις παραπάνω ιδιότητες είναι:

- α) η σόγια,
- β) το καλαμπόκι (για τροφή των ζώων),
- γ) το βαμβάκι,
- δ) ο καπνός και
- ε) η ελαιοκράμβη.

• *Ποιός είναι ο φορέας μεταφοράς επιθυμητών γονιδίων στα φυτά*

Είναι το πλασμίδιο που ονομάζεται Ti που φυσιολογικά υπάρχει βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens*. Το βακτήριο αυτό ζει στο έδαφος, διαθέτει τη φυσική ικανότητα να μολύνει φυτικά κύτταρα μεταφέροντας σε αυτά το πλασμίδιο Ti (tumor inducing factor).

Το πλασμίδιο Ti ενσωματώνεται στο γενετικό υλικό των φυτικών κυττάρων και δημιουργεί εξογκώματα (όγκους) στα φυτά.

• *Ποιά είναι τα στάδια δημιουργίας διαγονιδιακών φυτών με τη βοήθεια του πλασμιδίου Ti;*

- 1) Απομόνωση και κλωνοποίηση του γονιδίου με την επιθυμητή ιδιότητα από το DNA του οργανισμού που έχει επιλεγεί
- 2) Απομόνωση του πλασμιδίου Ti από το *Agrobacterium tumefaciens*
- 3) Απενεργοποίηση των γονιδίων που δημιουργούν τους όγκους, η οποία επιτυγχάνεται με την τοποθέτηση στο πλασμίδιο του γονιδίου που θα προσδώσει στο φυτό μια επιθυμητή ιδιότητα. Η τροποποίηση του πλασμιδίου το καθιστά ακίνδυνο για το φυτικό κύτταρο χωρίς να του στερεί τη δυνατότητα να εισάγεται σε αυτό.
- 4) Εισαγωγή του ανασυνδυασμένου πλασμιδίου σε φυτικά κύτταρα που αναπτύσσονται σε ειδικές καλλιέργειες στο εργαστήριο και ενσωμάτωση του σε τυχαίο σημείο του γονιδιώματος.
- 5) Δημιουργία ενός νέου φυτικού οργανισμού που αποτελεί προϊόν της ανάπτυξης των τροποποιημένων κυττάρων, στα οποία εισήλθε και εκφράζεται το ξένο γονίδιο.

• *Ποια είναι η σημαντική ιδιότητα των διαγονιδιακών φυτών;*

Τα διαγονιδικά φυτά έχουν την ικανότητα να μεταβιβάζουν τις νέες ιδιότητες στους απογόνους τους.

• *Ποιά είναι η σημαντική διαφορά μεταξύ των μεθόδων της Γενετικής Μηχανικής που χρησιμοποιούν πλασμίδια ως φορείς γενετικού υλικού για παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών και της μεθόδου που χρησιμοποιεί το πλασμίδιο Ti για την δημιουργία διαγονιδιακών φυτών;*

Στην περίπτωση παραγωγής φαρμακευτικών πρωτεϊνών το πλασμίδιο εισάγεται σε βακτήρια και έχουμε μετασχηματισμό βακτηρίων (καλλιέργειών βακτηρίων) που θα παράγουν το επιθυμητό προϊόν.

Στην περίπτωση δημιουργίας διαγονιδιακών φυτών, μετασχηματισμένο πλασμίδιο Ti εισάγεται σε φυτικά κύτταρα (με τη βοήθεια του βακτηρίου *Agrobacterium tumefaciens* που μολύνει τα φυτά).

Το πλασμίδιο Ti ενσωματώνεται στο γενετικό υλικό των φυτών και έτσι, τα φυτά μπορούν να παράγουν μόνα τους το προϊόν του επιθυμητού γονιδίου

Σχηματικά έχουμε: επιθυμητό γονίδιο → πλασμίδιο Ti → φυτικά κύτταρα

- Πού βρίσκει εφαρμογές η μέθοδος της εισαγωγής του πλασμιδίου *Ti* για την δημιουργία διαγονιδιακών φυτών;

Οι ανάγκες σε τροφή συνεχώς μεγαλώνουν και για να καλυφθούν επαρκώς είναι απαραίτητη πρωτίστως η αύξηση της φυτικής παραγωγής. Έτσι δόθηκε έμφαση στην δημιουργία φυτών που παράγουν από μόνα τους εντομοκτόνες ουσίες. Και αυτό, επειδή τα έντομα προκαλούν μεγάλα προβλήματα στη γεωργία και οδηγούν σε σημαντική μείωση της φυτικής παραγωγής.

- Γιατί οδηγηθήκαμε στη λύση αυτή (τη δημιουργία διαγονιδιακών φυτών);

Αρχικά η λύση δόθηκε με τη χρησιμοποίηση μεγάλων ποσοτήτων χημικών εντομοκτόνων. Διαπιστώθηκε όμως ότι τα εντομοκτόνα αυτά ήταν επικίνδυνα για την υγεία του ανθρώπου και επιπλέον προκαλούν μεγάλη οικολογική καταστροφή

Εναλλακτικός τρόπος αποτέλεσε το βακτήριο *Bacillus thuringiensis*, που ζει στο έδαφος και παράγει μια ισχυρή τοξίνη, η οποία είναι ικανή να καταστρέψει πολλά είδη εντόμων και σκωλήκων, είναι δε κατά 80.000 φορές πιο ισχυρή από αρκετά εντομοκτόνα. Τα βακτήρια αυτά χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση των εντόμων. Αρχικά πολλαπλασιάζονται στο εργαστήριο και στη συνέχεια ψεκάζονται στον αγρό. Όμως η τεχνική αυτή είναι αρκετά δαπανηρή, επειδή τα βακτήρια δεν επιβιώνουν για μεγάλο χρονικό διάστημα επάνω στα φυτά και κατά συνέπεια απαιτούνται συνεχείς ψεκασμοί.

- Πώς ακριβώς δημιουργούνται τα διαγονιδιακά φυτά που παράγουν εντομοκτόνο ουσία;

Το γονίδιο του βακτηρίου *Bacillus thuringiensis*, το οποίο παράγει την τοξίνη, απομονώθηκε και μετά φέρθηκε σε φυτά. Η μεταφορά έγινε με τη βοήθεια του πλασμιδίου *Ti* του *Agrobacterium tumefaciens*. Τα τροποποιημένα γενετικά φυτά είναι ανθεκτικά στα έντομα. Το πρώτο φυτό στο οποίο ενσωματώθηκε το γονίδιο ανθεκτικότητας στα έντομα του *Bacillus thuringiensis* ήταν το καλαμπόκι. Τα γενετικά τροποποιημένα φυτά αυτού του τύπου (περιέχουν το γονίδιο της τοξίνης) αποτελούν τις ποικιλίες Bt.

Διαγονιδιακά ζώα

- Ποιά ζώα ονομάζονται διαγονιδιακά;

Διαγονιδιακά ονομάζονται τα ζώα των οποίων το γενετικό υλικό έχει τροποποιηθεί με την προσθήκη γονιδίων που συνήθως προέρχονται από κάποιο άλλο είδος.

- Ποιά είναι η κυριότερη μέθοδος δημιουργίας διαγονιδιακών ζώων;

Η κυριότερη μέθοδος για την είσοδο «ξένου» DNA στα κύτταρα ενός ζώου είναι η μικροέγχυση.

- Ποιά είναι τα στάδια της διαδικασίας της μικροέγχυσης;

Η διαδικασία που ακολουθείται είναι η εξής:

- 1) Απομόνωση και κλωνοποίηση του γονιδίου με την επιθυμητή ιδιότητα από το DNA του οργανισμού-δότη.
- 2) Απομόνωση ωαρίων του ζώου και τεχνητή γονιμοποίηση τους στο εργαστήριο.
- 3) Εισαγωγή του ξένου DNA στα γονιμοποιημένα ωάρια με ειδική μικροβελόνα.
- 4) Ενσωμάτωση (συνήθως) του ξένου γενετικού υλικού σε κάποιο τυχαίο χρωμόσωμα του πυρήνα του ζυγωτού.
- 5) Τοποθέτηση του ζυγωτού στη μήτρα «θετής» μητέρας ενός ζώου, όπου θα αναπτυχθεί το έμβρυο.

- *Ποιά ζώα έχουν τροποποιηθεί γενετικά με τη μέθοδο της μικροέγχυσης;*
Η μικροέγχυση αποτελεί τη μοναδική μέθοδο δημιουργίας διαγονιδιακών αγελάδων, προβάτων, χοίρων και αιγών.
- *Ποιές είναι οι σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαδικασιών των μεθόδων της Γενετικής Μηχανικής που χρησιμοποιούν φορείς γενετικού υλικού και της μικροέγχυσης;*
1) Το DNA μεταφέρεται κατευθείαν στον πυρήνα χωρίς τη μεσολάβηση φορέα κλωνοποίησης.
2) Τα διαγονιδιακά ζώα είναι εκείνα που παράγουν την επιθυμητή πρωτεΐνη και όχι οι βακτηριακές καλλιέργειες.
- *Πώς παράγεται η επιθυμητή πρωτεΐνη από τα διαγονιδιακά ζώα ;*
Η επιθυμητή πρωτεΐνη παράγεται από κύτταρα των μαστικών αδένων των διαγονιδικών ζώων που είναι γαλακτοφόρα (αγελάδες, πρόβατα), στη συνέχεια εκκρίνεται στο γάλα των ζώων και συλλέγεται από αυτό. Με αυτόν τον τρόπο παράγονται πρωτεΐνες παρόμοιες με αυτές του ανθρώπου και σε μεγάλες ποσότητες. Η μέθοδος παραγωγής ονομάζεται παραγωγή ανθρώπινων πρωτεϊνών από διαγονιδιακά ζώα (gene pharming).

- *Σε ποιές περιπτώσεις βρίσκουν εφαρμογή οι μέθοδοι της Γενετικής Μηχανικής που χρησιμοποιούν φορείς γενετικού υλικού και σε ποιές η παραγωγή ανθρώπινων πρωτεϊνών από διαγονιδιακά ζώα;*

Μέθοδοι της Γενετικής Μηχανικής που χρησιμοποιούν φορείς γενετικού υλικού

Τα βακτήρια χρησιμοποιούνται σήμερα για την παραγωγή αρκετών ανθρώπινων πρωτεϊνών (πχ. ινσουλίνη, ανθρώπινη αυξητική ορμόνη). Στις περισσότερες όμως περιπτώσεις οι πρωτεΐνες αυτές δεν είναι ακριβώς ίδιες με τις πρωτεΐνες του ανθρώπου, επειδή τα βακτήρια δεν διαθέτουν τους μηχανισμούς τροποποίησης των πρωτεϊνών που διαθέτουν οι ευκαρυωτικοί οργανισμοί.

Παραγωγή ανθρώπινων πρωτεϊνών από διαγονιδιακά ζώα

Η επιθυμητή πρωτεΐνη παράγεται από κύτταρα των μαστικών αδένων των διαγονιδικών ζώων (γαλακτοφόρων: προβάτων, αγελάδων). Στις περισσότερες περιπτώσεις οι πρωτεΐνες αυτές είναι ακριβώς ίδιες με τις πρωτεΐνες του ανθρώπου.

- *Ποιά είναι η πιο χαρακτηριστική εφαρμογή της παραγωγής ανθρώπινων πρωτεϊνών από διαγονιδιακά ζώα;*

Η πιο επιτυχημένη εφαρμογή αφορά την παραγωγή της ανθρώπινης α_1 -αντιθρυψίνης (AAT= α_1 antitrypsin) από πρόβατα.

- *Ποιός είναι ο ρόλος της α_1 -αντιθρυψίνης;*

Η πρωτεΐνη αυτή παράγεται στο ήπαρ του ανθρώπου και η απουσία της, που είναι αποτέλεσμα μετάλλαξης του γονιδίου, έχει ως αποτέλεσμα γενετική ασθένεια, που οδηγεί στο εμφύσημα.

- *Πώς πραγματοποιήθηκε η παραγωγή α_1 -αντιθρυψίνης από διαγονιδιακά ζώα ;*

Πρώτα από όλα απομονώθηκε το φυσιολογικό γονίδιο της AAT του ανθρώπου και στη συνέχεια με μικροέγχυση τοποθετήθηκε σε γονιμοποιημένο ωάριο προβάτου. Το πρόβατο που γεννήθηκε από το γονιμοποιημένο αυτό ωάριο ήταν η Tracy, της οποίας οι απόγονοι συνεχίζουν να έχουν το ξένο γονίδιο και να παράγουν την AAT.

- Ποιά είναι τα στάδια της παραγωγή της ανθρώπινης α_1 -αντιθρυψίνης αλλά και άλλων χρήσιμων πρωτεϊνών;
 - 1) Απομόνωση του φυσιολογικού γονιδίου της AAT (και γενικά κάθε ανθρώπινου γονιδίου που κωδικοποιεί πρωτεΐνη που μας ενδιαφέρει).
 - 2) Μικροέγχυση του γονιδίου στον πυρήνα ενός γονιμοποιημένου ωαρίου του ζώου.
 - 3) Τοποθέτηση του γενετικά τροποποιημένου ζυγωτού στη μήτρα ενήλικου ζώου για κυοφορία.
 - 4) Γέννηση του διαγονιδιακού ζώου.
 - 5) Διασταυρώσεις με σκοπό να περάσει η τροποποιημένη γενετική πληροφορία στους απογόνους.
 - 6) Παραγωγή, απομόνωση και καθαρισμός της φαρμακευτικής πρωτεΐνης.
- Ποιές άλλες πρωτεΐνες παράγονται με τη μέθοδο της παραγωγής ανθρώπινων πρωτεϊνών από διαγονιδιακά ζώα;

Εκτός από την AAT, και άλλες χρήσιμες πρωτεΐνες παράγονται με τον ίδιο τρόπο, όπως ο παράγοντας IX, μία πρωτεΐνη που συμμετέχει στο μηχανισμό πήξης του αίματος και χορηγείται σε άτομα που πάσχουν από αιμορροφιλία Β.

Σημείωση: Υπάρχει και η αιμορροφιλία Α, κληρονομική ασθένεια που οφείλεται σε υπολειπόμενο φυλοσύνδετο γονίδιο, κατά την οποία δεν γίνεται κανονικά η πήξη του αίματος λόγω έλλειψης του παράγοντα VIII. (σελίδα 50, 5^ο Κεφάλαιο)

Κλωνοποίηση

- Ποιό είναι το πρώτο περιστατικό κλωνοποίησης θηλαστικού;

Είναι η κλωνοποίηση ενός προβάτου, της Dolly το 1997. Το πρόβατο Dolly δημιουργήθηκε, όταν ο πυρήνας ενός κυττάρου του μαστικού αδένος ενός εξάχρονου προβάτου τοποθετήθηκε στο ωάριο ενός άλλου προβάτου. Από το ωάριο είχε προηγουμένως αφαιρεθεί ο πυρήνας. Το έμβρυο το οποίο δημιουργήθηκε ύστερα από 3-4 διαιρέσεις εμφυτεύτηκε στη μήτρα θετής μητέρας-προβατίνας, η οποία γέννησε τη Dolly
- Ποιά άλλα ζώα έχουν κλωνοποιηθεί πριν από την Dolly;

Η κλωνοποίηση της Dolly δεν προξένησε έκπληξη επειδή είχε προηγηθεί κλωνοποίηση αμφιβίων από την αρχή της δεκαετίας του 1960. Παρόμοια τεχνική χρησιμοποιήθηκε και για την κλωνοποίηση θηλαστικών.
- Ποιά είναι τα στάδια της κλωνοποίησης του προβάτου Dolly;
 - 1) Παραλαβή κυττάρων από τους μαστικούς αδένες ενός εξάχρονου προβάτου και απομόνωση των πυρήνων τους.
 - 2) Παραλαβή ωαρίου από ένα άλλο πρόβατο και αφαίρεση του πυρήνα του.
 - 3) Τοποθέτηση ενός πυρήνα από μαστικό κύτταρο του εξάχρονου ζώου στο ωάριο.
 - 4) Επαγωγή διαίρεσης του κυττάρου που δημιουργήθηκε. Το κύτταρο διαιρείται 3-4 φορές και αρχίζει η ανάπτυξη ενός εμβρύου.
 - 5) Εμφύτευση του αναπτυσσόμενου εμβρύου στη μήτρα θετής μητέρας-προβατίνας.
 - 6) Γέννηση της Dolly.

- Πού βρίσκει χρησιμότητα η κλωνοποίηση;

A) Πολλαπλασιασμός διαγονιδιακών ζώων

Η κλωνοποίηση όμως είναι πολύ χρήσιμη στον πολλαπλασιασμό διαγονιδιακών ζώων. Η δημιουργία ενός διαγονιδιακού ζώου που παράγει τον ανθρώπινο παράγοντα πήξης του αίματος, για παράδειγμα, κοστίζει 1-2 εκατομμύρια ευρώ. Με κλωνοποίηση μπορούν εύκολα να παραχθούν πολλά πανομοιότυπα ζώα και έτσι ακόμη μεγαλύτερες ποσότητες του φαρμάκου.

B) Προστασία από την εξαφάνιση διάφορων ζώων

Η κλωνοποίηση μπορεί επίσης να συνεισφέρει στην προστασία από την εξαφάνιση διάφορων ζώων του πλανήτη μας. Στις καταψύξεις πολλών ζωολογικών κήπων υπάρχουν κατεψυγμένα ωάρια και σπερματοζωάρια ή έμβρυα ζώων που κινδυνεύουν να εξαφανιστούν. Πυρήνες από αυτά τα κύτταρα μπορούν να μεταφερθούν σε απύρηνα ωοκύτταρα του είδους που μας ενδιαφέρει και στη συνέχεια να κυοφορηθούν στο ίδιο ή σε συγγενικό είδος ζώου.

