

-ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΜΗΧΑΝΙΚΗ  
-ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟΙ  
ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ  
-ΓΟΝΙΔΙΑΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ



*Αβντόλη Σερένα  
Κορρέ Βαλεντίνα*

# ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΜΗΧΑΝΙΚΗ

- Χρονολογία εφεύρεσης: 1972
- Ορισμός: νέος κλάδος των φυσικών επιστημών που ασχολείται με τροποποιήσεις του γενετικού υλικού.
- Πιο αναλυτικά γενετική μηχανική **ονομάζεται το σύνολο των τεχνικών μεθόδων χειρισμού του DNA ή άλλου νουκλεϊκού οξέος με σκοπό την τροποποίηση του γονιδιώματος** (το σύνολο του γενετικού υλικού που βρίσκεται σ' ένα κύτταρο ή φέρεται σ' ένα άτομο) **ενός οργανισμού και, κατα επέκταση, των γενετικών χαρακτήρων ενός πληθυσμού.** Σήμερα αυτός ο όρος αναφέρεται στην τεχνολογία **ανασυνδυασμού του DNA** και

Η γενετική μηχανική επιτρέπει την απομόνωση, αποκοπή, ένωση και μεταφορά ενός απλού γονιδίου ή πολλαπλών γονιδίων ανάμεσα σε συνολικά άσχετους οργανισμούς, σπάζοντας ταυτόχρονα και τους φραγμούς που βάζει η φύση, η οποία δεν επιτρέπει την αναπαραγωγή μη κοντινών στην εξέλιξη ειδών. . Το μεγαλύτερο μέρος της αφορά στην εισαγωγή ξένων γονιδίων στα

Τα πλασμίδια είναι μικροί δακτύλιοι DNA, που δεν αποτελούν μέρος του χρωματοσώματος του βακτηρίου, όμως ελέγχουν την σύνδεση πρωτεϊνών και μεταβιβάζονται στους απογόνους όπως τα χρωματοσώματα. Το μέγεθος των πλασμιδίων ποικίλλει από 2.000-2.000.000 αζωτούχες βάσεις. Τα πλασμίδια παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον, γιατί έχουν τη δυνατότητα να «φιλοξενήσουν» τμήμα DNA άλλου κυττάρου. Τα πλασμίδια μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως οχήματα μεταφοράς γενετικού υλικού. Άλλα τέτοια οχήματα είναι το **DNA διαφόρων ιών.**

## ΕΞΕΛΙΞΗ

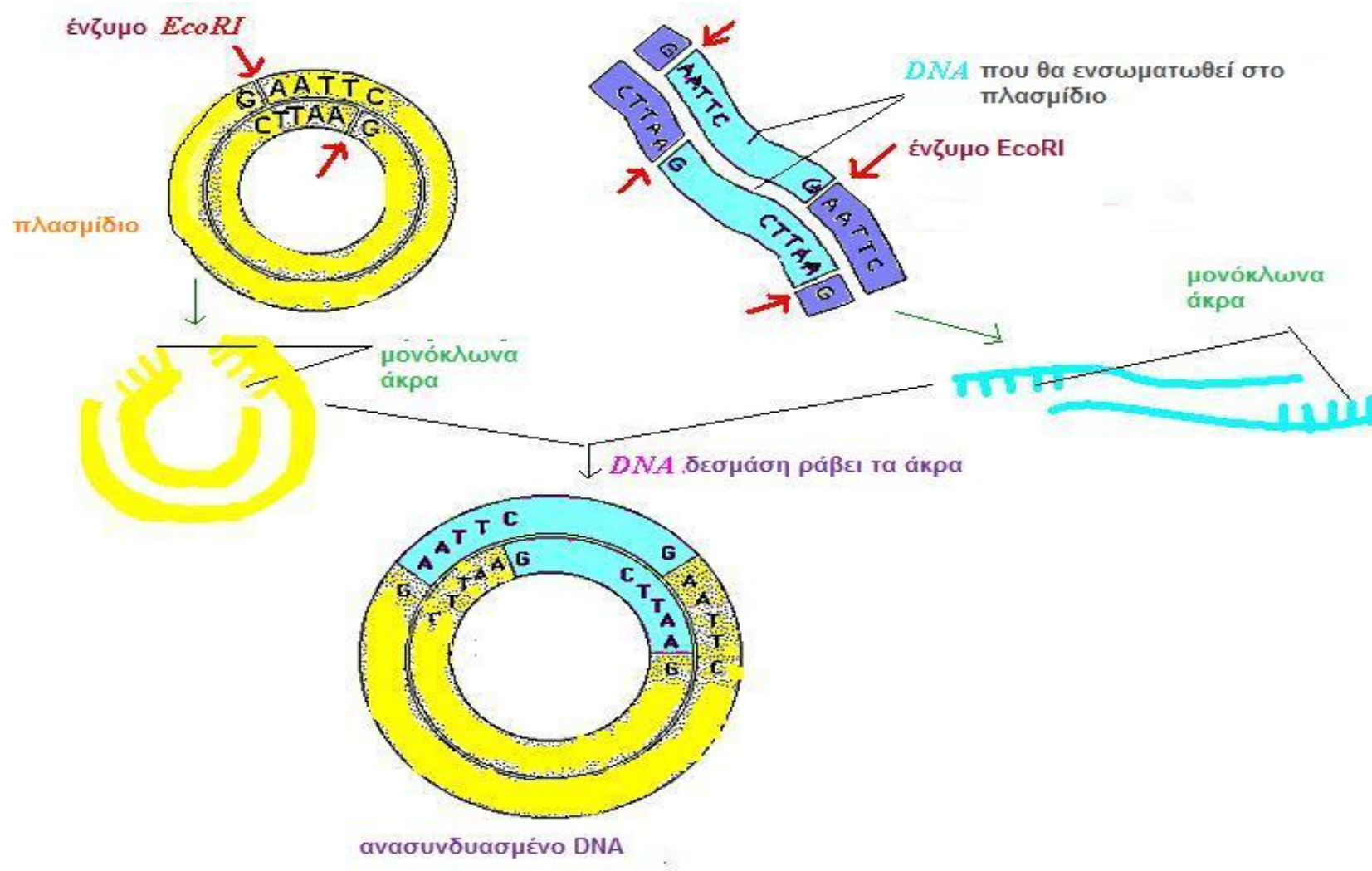
**1968:** ανακάλυψη των περιοριστικών ενζύμων, τύπου 1 (διασπά το DNA σε τυχαία σημεία), τύπου 2, (διασπά το DNA σε ειδικές θέσεις): πολύ σημαντικός ο ρόλος τους στην ανάπτυξη της γενετικής μηχανικής.

**1972:** έγινε δυνατό να διαμελισθεί το DNA σε μεμονωμένα τμήματα με τη βοήθεια ενζύμων, των ονομαζόμενων γονιδιακών ψαλιδιών, τα οποία διαχωρίζουν το γενετικό υλικό σε καθορισμένες θέσεις. Σήμερα είναι γνωστά περισσότερα από 200 γονιδιακά ψαλίδια. Τα μεμονωμένα τμήματα του DNA μπορούν να τοποθετηθούν μετά σε άλλες θέσεις του γενετικού υλικού ή να μεταφερθούν σε άλλους οργανισμούς. Σ' αυτό βοηθά ένας γονιδιακός συγκολλητής, η **λιγάση**.

**1972** :επίσης απομονώθηκαν από το γενετικό υλικό και αναλύθηκαν αρκετά γονίδια (με τη βοήθεια πλασμιδίων). Συγκεκριμένα, αφού με ορισμένες τεχνικές ανοίξουν το πλασμίδιο, στη συνέχεια ενσωματώνουν σε αυτό ένα τμήμα DNA που προέρχεται από άλλο κύτταρο. Το τμήμα αυτό του DNA που ενσωματώνεται στο πλασμίδιο έχει επιλεγεί με τέτοιο τρόπο, ώστε να περιέχει το γονίδιο ή τα γονίδια που είναι υπεύθυνα για το χαρακτηριστικό που μας ενδιαφέρει. Καθώς το πλασμίδιο αντιγράφεται στο βακτηριακό κύτταρο, αναπαράγεται ταυτόχρονα και το νέο DNA με πολύ γρήγορους ρυθμούς. Το DNA που προκύπτει με αυτό τον τρόπο λέγεται **ανασυνδυασμένο DNA**.

**1973:** πρώτη κατάτμηση του DNA, η επανασύνδεση διαφορετικών τεμαχίων και η εισαγωγή των νέων γονιδίων σε κολοβακτηρίδια (*escherichia coli*), που εν συνεχεία αναπαράγονταν.

Σταθμό στη γενετική μηχανική αποτελεί η μεταφορά ανθρώπινου γονιδίου σε ένα βακτήριο το 1977. Πρόκειται για το **γονίδιο της ινσουλίνης**. Σήμερα η ανθρώπινη ινσουλίνη παράγεται βιομηχανικά με τη γενετική μηχανική με μεγάλη καθαρότητα και διατίθεται σε χαμηλές τιμές.



## ΧΡΗΣΙΜΟΤΗΤΑ

Με τεχνικές ανασυνδυασμού του DNA, δημιουργήθηκαν βακτήρια ικανά να συνθέσουν ανθρώπινη ινσουλίνη, αυξητική ορμόνη, α-ιντερφερόνη και εμβόλιο κατά της ηπατίτιδας Β.

Παρήχθησαν φυτά ικανά να δεσμεύουν άζωτο και προωθείται η διόρθωση γενετικών νόσων, με την αντικατάσταση "κακών" γονιδίων "φυσιολογικά".

Η μεταφορά και έκφραση γονιδίων ευκαρυωτικών οργανισμών σε βακτήρια ήταν το εντυπωσιακότερο επίτευγμα της τελευταίας εικοσαετίας, που άνοιξε το δρόμο για τη μεταφορά γονιδίων μεταξύ των ευκαρυωτικών οργανισμών και τη δημιουργία διαγονιδιακών ή γενετικά τροποποιημένων φυτών και ζώων.

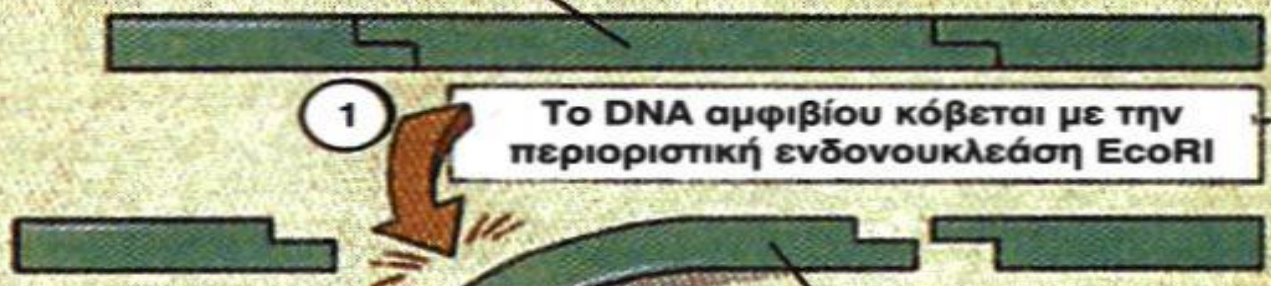


Δίκλωνο μόριο DNA αμφιβίου

Γονίδιο rRNA

1

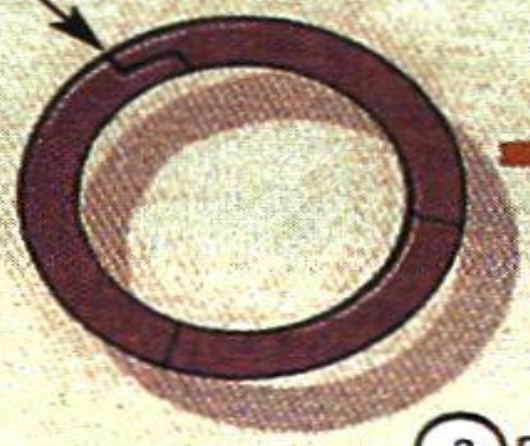
Το DNA αμφιβίου κόβεται με την περιοριστική ενδονουκλεάση EcoRI



2

Το πλασμίδιο κόβεται με το ένζυμο EcoRI

Σημείο που κόβεται το DNA



3

Το πλασμίδιο συνδέεται με το τμήμα DNA του αμφιβίου

Γονίδιο rRNA



Ανασυνδυασμένο πλασμίδιο

# ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΟΙ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ

**Ορισμός:** Γενετικά Τροποποιημένοι Οργανισμοί (ΓΤΟ) ή Μεταλλαγμένοι Οργανισμοί: 1) είναι γενικά οι οργανισμοί που προκύπτουν με διαδικασία τροποποίησης της κληρονομικής σύστασης ενός κυττάρου, η οποία έχει ως αποτέλεσμα τη γενετική αλλαγή οργανισμού ή πληθυσμού κυττάρων.

2) είναι, ειδικότερα, οι οργανισμοί που προκύπτουν από αφαίρεση γονιδίων, μεταβολή της λειτουργίας του γονιδίου ή ακόμα χειρότερα με προσθήκη γονιδίων ή από άλλους οργανισμούς μη συγγενικού είδους που ποτέ δε θα "συναντιότουσαν εξελικτικά στη φύση". **Γενετικές τροποποιήσεις γίνονται στα βακτήρια, στα φυτά και στα ζώα.**



## **ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ:**

**Γενετική τροποποίηση** των οργανισμών είναι η απομόνωση από έναν οργανισμό (ζώικο, φυτικό, έντομο ή μικρόβιο) ή από έναν ιό και η με τεχνικό τρόπο εισαγωγή αυτών των γονιδίων σε ίδιο ή εντελώς διαφορετικό οργανισμό, με σκοπό τη δημιουργία ειδών με νέες ιδιότητες. Ακόμη η γενετική τροποποίηση μπορεί να γίνει όχι μόνο με την προσθήκη, αλλά και με την αφαίρεση ή την αλλοίωση ενός ή περισσότερων γονιδίων. Χρησιμοποιείται στη γεωργία, στην ιατρική, στα τρόφιμα, στο βιοκαθαρισμό περιβάλλοντος και στη βιομηχανική παραγωγή.

- **ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ Γ.Τ.Ο**

(ανάλογα με την επικινδυνότητά τους στον άνθρωπο και στο περιβάλλον)

- 1) Εκείνοι που δημιουργούνται για να παραμείνουν μέσα στα **εργαστήρια** με τις ανάλογες προδιαγραφές ασφαλείας για την αποτροπή της διαφυγής τους στο περιβάλλον. Χρησιμοποιούνται τόσο στην προαγωγή της έρευνας, όσο και στην παραγωγή χρήσιμων βιοτεχνολογικών προϊόντων (φάρμακα, έμβολια κ.ά). Έχουν ως σκοπό να βοηθήσουν στην πρόληψη ή την θεραπεία ασθενειών.
- 2) Εκείνοι που έχουν σκοπό να αφεθούν στη **φύση** ή σε περιορισμένους χώρους (σε θερμοκήπια, ενθιμοτροφεία κλπ.)



Εικ. 6.3 Ντομάτες γενετικά τροποποιημένες (α) και μη (β).



# ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΦΥΤΑ

Γενετικά τροποποιημένα φυτά (Genetically Modified Crops), εν συντομία ΓΤΦ, είναι καλλιεργούμενα φυτά στα οποία έγινε κατάλληλη τροποποίηση του γενετικού τους υλικού (με μεθόδους γενετικής μηχανικής και ιδιαίτερα με μεταφορά και ενσωμάτωση ξένου γενετικού υλικού, από άλλα είδη φυτών ή από βακτήρια, μύκητες κ.λ.π.) ώστε να αποκτήσουν κάποιο επιζητούμενο επιθυμητό χαρακτηριστικό. Τα ΓΤΦ, δηλαδή, έχουν ενσωματωμένο στο γενετικό τους υλικό ένα μέρος από το γενετικό υλικό (γονίδια) ενός ή περισσότερων άλλων ειδών ή γενικότερα οργανισμών. Για το λόγο αυτό μια πιο σωστή ονομασία τους είναι **Διαγονικά φυτά** (transgen).



Στη γενετική μηχανική χρησιμοποιούνται τροποποιημένα βακτήρια από τα οποία έχουν αφαιρεθεί τα ογκογόνα γονίδια και έχουν προστεθεί τα προς μεταφορά επιθυμητά γονίδια (άλλου οργανισμού).

Η δημιουργία **γενετικά τροποποιημένων φυτών επιτυγχάνεται με τη βοήθεια ενός βακτηρίου**, του *Agrobacterium tumefaciens*, που προκαλεί όγκους στην περιοχή του βλαστού που έρχεται σε επαφή με το έδαφος. Το βακτήριο διαθέτει ένα **μεγάλο πλασμίδιο** που ονομάζεται **Ti**, το οποίο μεταφέρεται στο φυτικό κύτταρο και ενσωματώνεται στο φυτικό DNA μετασχηματίζοντας τα φυτικά κύτταρα και παρασκευάζοντας ταυτόχρονα ουσίες χρήσιμες για το βακτήριο, που ονομάζονται **οπίνες**. Το βακτήριο αυτό έχει από μόνο του την ικανότητα να μεταφέρει και να ενσωματώνει στα φυτικά κύτταρα ένα μέρος από το δικό του DNA .

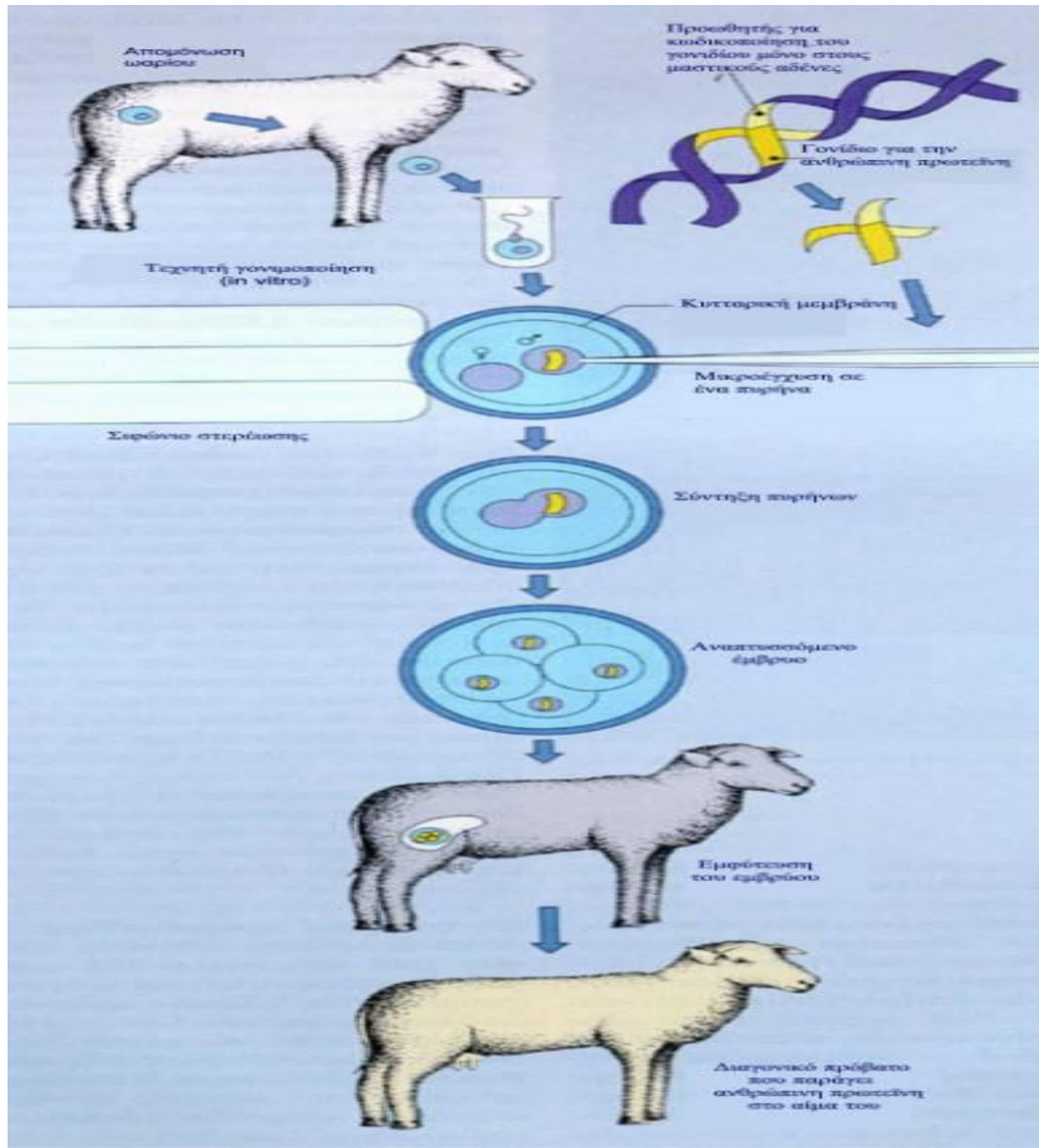
Τα τροποποιημένα φυτικά κύτταρα τελικά δίνουν ένα νέο οργανισμό, που περιέχει και εκφράζει το ξένο γονίδιο. Τέτοια γονίδια μεταφέρουν ιδιότητες όπως την παραγωγή τοξίνης που σκοτώνει τα έντομα, την αντοχή στα ζιζανιοκτόνα, στα αντιβιοτικά, στους ιούς, στα βακτήρια, στους μύκητες και στον παγετό, καθώς και την καθυστέρηση ωρίμανσης και την παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών .

## ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΑ ΖΩΑ

Τα διαγονιδιακά ζώα δημιουργούνται με μια τεχνική που ονομάζεται **μικροέγχυση** (εισαγωγή του DNA με ειδική μικροβελόνα στον πυρήνα του ωοκυττάρου).

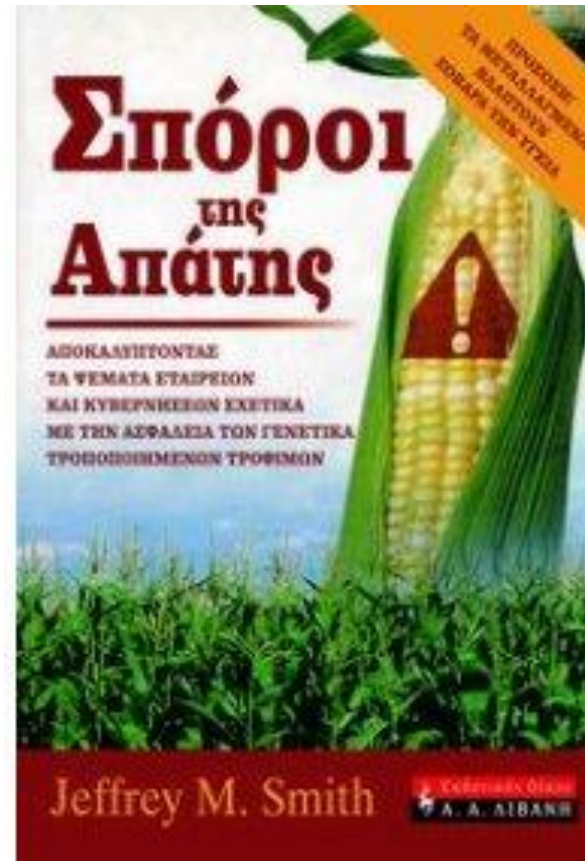
Στην μέθοδο αυτή χρησιμοποιούνται ωάρια του ζώου που έχουν γονιμοποιηθεί στο εργαστήριο. Στο στάδιο του ενός κυττάρου μικρή ποσότητα του ξένου γονιδίου μικροεγχύεται στον πυρήνα του ωοκυττάρου. Το γονιμοποιημένο ωάριο εμφυτεύεται στη μήτρα της «θετής μητέρας», όπου αναπτύσσεται το έμβρυο. Στη συνέχεια γίνεται έλεγχος των απογόνων για την ύπαρξη του ξένου γονιδίου και διασταυρώσεις για να περάσει η τροποποιημένη γενετική πληροφορία στους απογόνους. Το ξένο γονίδιο υπάρχει πλέον σε κάθε κύτταρο του διαγονιδικού ζώου. Έτσι η νέα ιδιότητα είναι κληρονομήσιμη.





## ΚΙΝΔΥΝΟΙ

- 1)** Α-φυσική τεχνολογία- η φυσική γενετική αρχιτεκτονική διακόπτεται.
- 2)** τυχαία διαδικασία που δεν εξαρτάται από τις ικανότητες του επιστήμονα που εκτελεί το πείραμα: το ξένο γονίδιο μπορεί να ενσωματωθεί σε ενεργή ή ανενεργή περιοχή χρωματίνης, τη στιγμή που ενσωματώνεται.
- 3)** κίνδυνος να διαταράξει της οργανωμένης έκφρασης και λειτουργίας των ενδογενών γονιδίων, εμποδίζοντάς το να εκφραστεί.



# ΓΟΝΙΔΙΑΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ

Γονιδιακή θεραπεία είναι η παρεμβολή γονιδίων σε κύτταρα και ιστούς για τη θεραπεία μιας ασθένειας, όπως μια κληρονομική ασθένεια, στην οποία ένα επιβλαβές μεταλλαγμένο αλληλόμορφο αντικαθίσταται με μια λειτουργιά ενός ατόμου. Με τη Γονιδιακή Θεραπεία γίνεται εισαγωγή γενετικού υλικού (π.χ. αντίγραφο φυσιολογικού γονιδίου) στα κύτταρα ενός οργανισμού με σκοπό την αποκατάσταση μιας παθολογικής κυτταρικής λειτουργίας. Για τη μεταφορά του θεραπευτικού γονιδίου στα κύτταρα χρησιμοποιούνται κυρίως απενεργοποιημένοι, μη λοιμογόνοι ιοί στους οποίους αντικαθίσταται σημαντικό μέρος του γενετικού τους υλικού με το φυσιολογικό β-γονίδιο. Οι απενεργοποιημένοι ιοί που μεταφέρουν τη σωστή γενετική πληροφορία καλούνται τότε ιικοί φορείς. Οι ιικοί φορείς διαθέτοντας τη φυσική ιδιότητα να μεταφέρουν γενετικό υλικό στα κύτταρα που εισέρχονται, μεταφέρουν με αυτόν τον τρόπο το θεραπευτικό γονίδιο.

# ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

*Στην γονιδιακή θεραπεία επιδιώκεται η μεταφορά ενός φυσιολογικού γονιδίου στον ασθενή, το οποίο θα αντικαταστήσει το παθολογικό γονίδιο που προκαλεί την ασθένεια. Τα θεραπευτικά γονίδια μεταφέρονται με 2 τρόπους*

*A) ενδοσωματική (in vivo) γονιδιακή μεταφορά με τη χρήση ειδικών “οχημάτων” τα οποία μπορεί να είναι συγκεκριμένοι ιοί, σφαιρίδια από λίπος (λιποσώματα), ή ειδικές πρωτεΐνες. είτε με B) εξωσωματική (ex vivo) γονιδιακή μεταφορά. με την αφαίρεση κυττάρων από τον πάσχοντα ιστό, τη γενετική τους επιδιόρθωση και την επανεισαγωγή τους στον ασθενή. Το γενετικό υλικό θα μπορεί να χορηγηθεί στους ασθενείς με διάφορους τρόπους, όπως είναι με απευθείας ένεση στο όργανο-στόχο, με εισπνοές από τη μύτη, ακόμη και με σταγόνες στα μάτια*

## ΠΡΟΥΠΟΘΕΣΕΙΣ:

- επιλογή του κατάλληλου φορέα, ώστε να μεταφέρεται σταθερά η γενετική πληροφορία σε όλα τα κύτταρα-απογόνους και να μην εξαλείφεται στη διάρκεια των αλληπάλληλων διαιρέσεων των κυττάρων.
- αυστηρή ρύθμιση έκφρασης μεταφερόμενου γονιδίου, δηλ. να παράγεται θεραπευτικό ποσό πρωτεΐνης από τα κατάλληλα κύτταρα-στόχους (π.χ αιμοσφαιρίνη από τα ερυθρά αιμοσφαίρια, στη μεσογειακή αναιμία)

## Γενετικές ασθένειες:

Η γονιδιακή θεραπεία βρίσκει πεδίο εφαρμογής σε διάφορες ασθένειες όπως είναι

Η αιμορροφιλία, η κυστική ίνωση,

η νόσος Alzheimer, ο διαβήτης, η νόσος Parkinson,

η μεσογειακή αναιμία, η δρεπανοκυτταρική αναιμία,

Η ρευματοειδής αρθρίτιδα, το AIDS και κυρίως ο καρκίνος.

Ενδεικτικά αναφέρεται ότι περίπου το 70% των ιατρικών ερευνών πάνω στη γονιδιακή θεραπεία έχουν επικεντρωθεί στον καρκίνο.

