

## Διαγονιδιακά είδη

Οι οργανισμοί στους οποίους έχει ενσωματωθεί στο γονιδίωμά τους ένα νέο γονίδιο όπως επίσης και αυτοί που το γονιδίωμά τους έχει υποστεί άλλη τροποποίηση με την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA λέγονται διαγονιδιακοί οργανισμοί (transgenic organisms). [1] Πρόκειται για γενετικά τροποποιημένους οργανισμούς ή γενετικά κατασκευασμένους στους οποίους το γενετικό υλικό έχει αλλαχθεί χρησιμοποιώντας τις τεχνικές της εφαρμοσμένης γενετικής μηχανικής. Αυτές οι τεχνικές, γενικά γνωστές ως ανασυνδυαζόμενη τεχνολογία DNA, χρησιμοποιούν μόρια DNA από διαφορετικές πηγές, τα συνδυάζουν σε ένα μόριο για να δημιουργήσουν ένα νέο σύνολο γονιδίων. Η γενετική τροποποίηση οργανισμών με ανασυνδυασμένο DNA περιλαμβάνει την εισαγωγή κλωνοποιημένων γονιδίων στο γονιδίωμα του κυττάρου του οργανισμού, την ανάπτυξη του και μετά την παρουσία του σε απογόνους του οργανισμού, ώστε να είναι δυνατή η διατήρηση διαγονιδιακών γενεών. [2]

### ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΖΩΑ

Η μεγαλύτερη πρόοδος έχει γίνει στα ποντίκια, με εισαγωγή με μικροένεση του κλωνοποιημένου γονιδίου στον προπυρήνα του αρσενικού ατόμου ενός γονιμοποιημένου ωού. Ακολουθεί μεταφορά σε δεκτικό θηλυκό άτομο και έλεγχος των απογόνων αναφορικά με το εάν έχουν στα κύτταρά τους το συγκεκριμένο γονίδιο. Διαγονίδια ενίονται (εισάγονται με μικροένεση) στον αρσενικό προπυρήνα γονιμοποιημένου ωού και το ωό μεταφέρεται σε

δεκτικό θηλυκό άτομο. Από τους απογόνους επιλέγονται τα κατάλληλα άτομα από τα οποία δημιουργούνται διαγονιδιακές σειρές.

Τα διαγενετικά ζώα χρησιμοποιούνται ως πειραματικά πρότυπα για να εκτελέσουν τις φαινοτυπικές δοκιμές με τα γονίδια η λειτουργία των οποίων είναι άγνωστη. Η γενετική τροποποίηση μπορεί επίσης να παράγει ζώα που είναι ευαίσθητα σε ορισμένες συστατικά και προωθεί την βιοϊατρική έρευνα. [3] Άλλες εφαρμογές περιλαμβάνουν την παραγωγή των ανθρώπινων ορμονών όπως η ινσουλίνη. Στη βιολογική έρευνα, οι διαγενετικές μύγες (*Drosophila melanogaster*) είναι πρότυποι οργανισμοί που χρησιμοποιούνται για να μελετηθούν τα αποτελέσματα των γενετικών αλλαγών στην ανάπτυξη. [4] Οι μύγες προτιμώνται συχνά πέρα από άλλα ζώα λόγω του κύκλου μικρής ζωής, των χαμηλών απαιτήσεων συντήρησης, και του σχετικά απλού γονιδιώματός τους έναντι πολλών σπονδυλωτών. Τα διαγενετικά ποντίκια χρησιμοποιούνται συχνά στην μελέτη της ανταπόκρισης των κυττάρων και των ιστών σε διάφορα νοσήματα. Αυτό είναι δυνατό δεδομένου ότι μπορούμε να δημιουργήσουμε ποντίκια τις ίδιες μεταλλάξεις που εμφανίζονται στις ανθρώπινες γενετικές διαταραχές. Η δημιουργία της ανθρώπινης ασθένειας σε αυτά τα ποντίκια κατόπιν επιτρέπει την μελέτη των πιθανών θεραπειών. [5]

Επίσης χρησιμοποιούνται για την παραγωγή πρωτεϊνών, όπως για παράδειγμα μονοκλωνικών αντισωμάτων. [2]

Τα διαγονιδιακά ζώα χρησιμοποιούνται και για την παρασκευή χρησίμων πρωτεϊνών σε μεγάλη ποσότητα. Πρωτεΐνες που παράγονται και από βακτήρια όπως η ινσουλίνη και η ανθρώπινη αυξητική ορμόνη. Επειδή τα βακτήρια δεν διαθέτουν τους μηχανισμούς τροποποίησης των πρωτεϊνών που διαθέτουν οι ευκαρυωτικοί οργανισμοί αυτές οι πρωτεΐνες δεν είναι ακριβώς ίδιες με αυτές του ανθρώπου. Μια ιδέα για τη λύση αυτού προβλήματος είναι η παραγωγή πρωτεϊνών από τα κύτταρα των μαστικών αδένων των προβάτων και των αγελάδων ώστε να είναι δυνατή η συλλογή της πρωτεΐνης από το γάλα των ζώων. Η πιο επιτυχημένη εφαρμογή αφορά την παραγωγή της ανθρώπινης α1-αντιθριψίνης (AAT) από

πρόβατα. Αυτή παράγεται στο ήπαρ του ανθρώπου και η απουσία της, λόγω μετάλλαξης του γονιδίου, έχει ως αποτέλεσμα γενετική ασθένεια που οδηγεί στο εμφύσημα. Εκτός από την AAT και άλλες πρωτεΐνες παράγονται με τον ίδιο τρόπο, όπως ο παράγοντας VIII και ο παράγοντας IX, πρωτεΐνες που συμμετέχουν στο μηχανισμό πήξης του αίματος και χορηγούνται σε αιμορροφιλικούς ασθενείς. (πίνακας 1) [6]

**Πίνακας 1**

<b>Φαρμακευτικές πρωτεΐνες που παράγονται από διαγονιδιακά ζώα</b>	
<b>Πρωτεΐνη</b>	<b>Ασθένεια στην οποία χρησιμοποιείται</b>
Ινσουλίνη	Ζακχαρώδης διαβήτης
Παράγοντες VIII και IX	Αιμοροφιλία A και B
Ενεργοποιητής πλασμινογόνου (tPA)	Θρόμβωση αγγείων, Έμφραγμα
Ιντερφερόνες	Καρκίνος
α1- αντιθριψίνη (AAT)	Πνευμονικό εμφύσημα
Παράγοντας CD4	AIDS
Αυξητική ορμόνη	Αχονδροπλασία

Η εφαρμογή της διαγονιδιακής τεχνικής στα ψάρια οδήγησε στην υπερπαραγωγή της αυξητικής ορμόνης (GH) με αποτέλεσμα τη δραματική αύξηση σε διάφορα είδη, συμπεριλαμβανομένων σολομών, κυπρίνων και τιλαπιών (ένα είδος πέρκαας). Αυτά τα ψάρια έχουν δημιουργηθεί για χρήση στη βιομηχανία της υδατοκαλλιέργειας προκειμένου να αυξηθεί η παραγωγή ψαριών και, ενδεχομένως, να μειώσουν την υπεραλιεία των φυσικών αποθεμάτων. Κανένα από αυτά τα γενετικά τροποποιημένα ψάρια δεν έχει εμφανιστεί ακόμα στην αγορά, γεγονός που οφείλεται στην ανησυχία του κοινού και των επιστημόνων για το πιθανό αρνητικό αποτέλεσμα στη ισορροπία του οικοσυστήματος στην περίπτωση που αυτά δραπέτευαν από τις εγκαταστάσεις εκτροφής.

## ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΦΥΤΑ

Τα διανονιδιακά φυτά έχουν δημιουργηθεί έτσι ώστε να έχουν διάφορα επιθυμητά χαρακτηριστικά, όπως η αντίσταση στα παράσιτα, στα ζιζανιοκτόνα, αντοχή στις σκληρές περιβαλλοντικές συνθήκες, βελτιωμένη διάρκεια διατήρησης των προϊόντων τους, και αυξανόμενη θρεπτική αξία. Αυτές οι καλλιέργειες μπορούν να αποβούν ιδιαίτερα χρήσιμες στις αναπτυσσόμενες χώρες. Αυτό όμως είναι ιδιαίτερα συζητήσιμο λόγω του φόβου άγνωστων παρενεργειών.

Το πρώτο γενετικά τροποποιημένο προϊόν που εμφανίστηκε στην αγορά ήταν ντομάτες καθυστερημένης ωρίμανσης. Η πηκτίνη (πολυσακχαρίτης που δίνει στις ντομάτες σφικτή υφή) καταστρέφεται στη φύση από το ένζυμο πολυγαλακτουρονάση με αποτέλεσμα οι ντομάτες να μαλακώνουν και έτσι να μην είναι δυνατή η μεταφορά τους σε μακρινούς τόπους. Καταστρέφοντας το γονίδιο της πολυγαλακτουρονάσης με εισαγόμενο DNA η παραγωγή του ενζύμου μειώθηκε και οι ντομάτες διατηρήθηκαν για μεγαλύτερο χρόνο. Η κακή γεύση όμως του προϊόντος είχε σαν αποτέλεσμα την αποτυχία του. [8]

Τα κυριότερα φυτά που έχουν τροποποιηθεί ώστε να έχουν τις παραπάνω ιδιότητες είναι η σόγια, το καλαμπόκι που προορίζεται για ζωοτροφή, το βαμβάκι, ο καπνός και η ελαιοκράμβη.

Λόγω της ζημιάς που προκαλούσαν τα έντομα στις καλλιέργειες μετά τον 2ο παγκόσμιο πόλεμο χρησιμοποιήθηκαν πολλά εντομοκτόνα τα οποία ήταν επικίνδυνα για την υγεία των ανθρώπων και επιπλέον προκαλούσαν μεγάλη οικολογική καταστροφή. Έτσι βρέθηκαν εναλλακτικοί τρόποι αντιμετώπισης του προβλήματος.

Το βακτήριο *Bacillus thuringiensis*, που ζει στο έδαφος παράγει μια ισχυρή τοξίνη που μπορεί να καταστρέψει πολλά είδη εντόμων και σκωλήκων και είναι 80.000 φορές πιο ισχυρή από τα περισσότερα εντομοκτόνα. Τα βακτήρια αυτά χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση των εντόμων. Αρχικά πολλαπλασιάζονται στο εργαστήριο και μετά ψεκάζονται στον αγρό. Επειδή έτσι τα βακτήρια δεν επιβιώνουν για μεγάλο χρονικό διάστημα απαιτού-

νται συνεχείς ψεκασμοί με αποτέλεσμα το κόστος να είναι αρκετά υψηλό. Έτσι απομώθηκε το το γονίδιο του βακτηρίου που είναι υπεύθυνο για την τοξίνη και μεταφέρθηκε στα φυτά με τη βοήθεια του πλασμιδίου Ti του *Agrobacterium tumefaciens*. Το γενετικά τροποποιημένα φυτά ήταν ανθεκτικά στα διάφορα έντομα.

Το πρώτο φυτό στο οποίο ενσωματώθηκε το γονίδιο της ανθεκτικότητας στα έντομα του *Bacillus thuringiensis* ήταν το καλαμπόκι. (ποικιλίες Bt).[9]

Όμως σημαντική ανησυχία σε πολλές ευρωπαϊκές χώρες έχει προκαλέσει η συνύπαρξη των εγκαταστάσεων των γενετικά τροποποιημένων συγκομιδών με τις συμβατικές και οργανικές συγκομιδές. Δεδομένου ότι υπάρχει χωριστή νομοθεσία για τις γενετικά τροποποιημένες συγκομιδές και επιθυμία και πίεση από τους καταναλωτές για την ελευθερία της επιλογής μεταξύ των γενετικά τροποποιημένων και μη τροφίμων, χρειάζονται να παρθούν μέτρα για να χωρίζονται τα γενετικά τροποποιημένα τρόφιμα και ότι παράγεται από αυτά από τα συμβατικό και τα οργανικά τρόφιμα. Ευρωπαϊκά ερευνητικά προγράμματα όπως τα Co-Extra Transcontainer και SIGMEA ερευνούν τα κατάλληλα εργαλεία και τους κανόνες.

### ΔΙΑΓΟΝΙΔΙΑΚΑ ΜΙΚΡΟΒΙΑ

Τα βακτηρίδια ήταν οι πρώτοι οργανισμοί που τροποποιήθηκαν στο εργαστήριο, λόγω της απλής γενετικής τους. [10] αυτοί οι οργανισμοί χρησιμοποιούνται τώρα για διάφορους λόγους και είναι ιδιαίτερα σημαντικοί στην παραγωγή μεγάλων ποσών των καθαρών ανθρώπινων πρωτεϊνών για χρήση στην ιατρική. [11] Τα γενετικά τροποποιημένα βακτηρίδια χρησιμοποιούνται για να παραγάγουν την πρωτεϊνική ινσουλίνη για τη θεραπεία του διαβήτη. [12] Παρόμοια βακτηρίδια έχουν χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή παραγόντων πήξης του αίματος για την αντιμετώπιση της αιμοροφιλίας, [13] και της ανθρώπινης αυξητικής ορμόνης για να την αντιμετώπιση των διαφόρων μορφών νανισμού. [14] [15] Αυτές οι ανασυνδυαζόμενες πρωτεΐνες είναι ασφαλέστερες από τα παλαιότερα κεκαθαρμένα προϊόντα πτωματικού δότη, δεδομένου ότι αυτά μπορούσαν να μεταδώσουν ασθένειες, [16] όπως το AIDS και η ηπατίτιδας C στους αιμοροφιλικούς και την νόσο Creutzfeldt-Jakob από την ανθρώπινη αυξητική ορμόνη. [16] [17]

Εκτός από τα βακτηρίδια που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή των πρωτεϊνών, οι γενετικά τροποποιημένοι ιοί χρησιμοποιούνται στη γονιδιακή θεραπεία, που είναι μια σχετικά νέα μέθοδος στην ιατρική. [18] Ένας ιός αναπαράγεται με την έγχυση του γενετικού του υλικού σε ένα υπάρχον κύτταρο. Το κύτταρο έπειτα ακολουθώντας το γενετικό του υλικό παράγει περισσότερους ιούς. Στην ιατρική, αυτή η διαδικασία ακολουθείται για να μεταφέρει ένα γονίδιο στα ανθρώπινα κύτταρα που θα μπορούσε να θεραπεύσει ασθένειες. Αν και η γονιδιακή θεραπεία είναι ακόμα σχετικά νέα, είχε μερικές επιτυχίες. Έχει χρησιμοποιηθεί για να μεταχειριστεί τις γενετικές διαταραχές όπως η αυστηρή συνδυασμένη ανεπάρκεια αντισωμάτων, [19] και οι θεραπείες αναπτύσσονται για μια σειρά άλλων αυτήν την περίοδο αθεράπευτων ασθενειών, όπως η κυστική ίνωση, [20] η αναιμία κυττάρων δρεπανιών, [21] και η μυϊκή δυστροφία. [22] Για παράδειγμα, τα βακτηρίδια που προκαλούν την αποσύνθεση δοντιών καλούνται *Streptococcus mutans*.

Αυτά τα βακτηρίδια καταναλώνουν τα εναπομείναντα σάκχαρα στη στοματική κοιλότητα, παράγοντας γαλακτικό οξύ που διαβρώνει το οδοντικό σμάλτο και δημιουργεί τις κοιλότητες στα δόντια. Οι επιστήμονες πρόσφατα τροποποίησαν γενετικά το *Streptococcus mutans* ώστε να μην παράγει γαλακτικό οξύ. [23] Αυτά τα διαγενετικά βακτηρίδια, εάν αποικίσουν κατάλληλα στη στοματική κοιλότητα ενός ατόμου, θα μπορούσαν να μειώσουν το σχηματισμό των κοιλοτήτων. [24] Διαγενετικά μικρόβια έχουν χρησιμοποιηθεί επίσης στην πρόσφατη έρευνα για να περιορίσουν τους όγκους, και για να αντιμετωπίσουν τη νόσο του Crohn. (φλεγμονώδης νόσος του εντέρου που μπορεί να προσβάλει οποιοδήποτε τμήμα του γαστρεντερικού σωλήνα) [25]

Τα γενετικά τροποποιημένα βακτηρίδια χρησιμοποιούνται επίσης στους αγρούς για να διευκολύνουν την ανάπτυξη, και μπορούν επίσης να παραγάγουν τις χημικές ουσίες που κατάλληλες για την αντιμετώπιση των εντόμων.

---

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

[1] Molecular Biology of the Cell - Fifth Edition, Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, Peter Walter,

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?highlight=cloning&rid=mboc4.section.1553>

[2] Παναγιώτης Κατσώρης, Μοριακή Βιολογία, Υπερκείμενο ΚΦΕ53, 2008, σελ 123-124

[3] Sathasivam K, Hobbs C, Mangiarini L, et al (June 1999). "Transgenic models of Huntington's disease". *Philos. Trans. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci.* 354

[4] National Human Genome Research Institute, National Institute for Health. First Transgenic Mice and Fruit Flies, <http://www.genome.gov/25520307>

[5] Wagner J, Thiele F, Ganten D (May 1995). "Transgenic animals as models for human disease". *Clin. Exp. Hypertens.* 17 (4):593-605

[6] Βασιλική Αλεπόρου – Μαρίνου, κά., Βιολογία Θετικής κατεύθυνσης Γ' τάξης Ενιαίου Λυκείου, 2006, κεφ. 9, σελ. 135

[7] Molecular Biology of the Cell - Fifth Edition, Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, Peter Walter

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=mboc4.figgrp.1653>

[8] Jeremy Berg, John Tymoczko, Lubert Stry—5th ed, 2007, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, Βιοχημεία, κεφ 6, σελ. 180-181

[9] Βασιλική Αλεπόρου – Μαρίνου, κά., Βιολογία Θετικής κατεύθυνσης Γ' τάξης Ενιαίου Λυκείου, 2006, κεφ. 9, σελ. 133

[10] Melo EO, Canavessi AM, Franco MM, Rumpf R (2007). "Gene therapy in clinical medicine" *J. Appl. Genet.* 48 (1): 47–61

[11] Leader B, Baca QJ, Golan DE (January 2008). "Protein therapeutics: a summary and pharmacological classification". *Nat Rev Drug Discov* 7 (1): 21–39

[12] Walsh G (April 2005). "Therapeutic insulins and their large-scale manufacture". *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 67 (2): 151

[13] Pipe SW (May 2008). "Recombinant clotting factors". *Thromb. Haemost.* 99 (5): 840– 50

[14] Bryant J, Baxter L, Cave CB, Milne R (2007). "Recombinant growth hormone for idiopathic short stature in children and adolescents". *Cochrane Database Syst Rev* (3): CD004440

[15] Baxter L, Bryant J, Cave CB, Milne R (2007). "Recombinant growth hormone for children and adolescents with Turner syndrome". *Cochrane Database Syst Rev* (1): CD0038

[16] Foster PR (October 2000). "Prions and blood products". *Ann. Med.* 32 (7): 501–13.

[17] Key NS, Negrier C (August 2007). "Coagulation factor concentrates: past, present, and future". *Lancet* 370 (9585): 439–48

[18] Selkirk SM (October 2004). "Gene therapy in clinical medicine" . *Postgrad Med J* 80 (948): 560– 70

[19] Cavazzana-Calvo M, Fischer A (June 2007). "Gene therapy for severe combined immunodeficiency: are we there yet?". *J. Clin. Invest.* 117 (6): 1456–65

[20] Rosenecker J, Huth S, Rudolph C (October 2006). "Gene therapy for cystic fibrosis lung disease: current status and future perspectives". *Curr. Opin. Mol. Ther.* 8 (5): 439–45.

[21] Persons DA, Nienhuis AW (July 2003). "Gene therapy for the hemoglobin disorders". *Curr. Hematol. Rep.* 2 (4): 348-55

- [22] Foster K, Foster H, Dickson JG (December 2006). "Gene therapy progress and prospects: Duchenne muscular dystrophy". *Gene Ther.* **13** (24): 1677–85
- [23] Hillman JD (August 2002). "Genetically modified *Streptococcus mutans* for the prevention of dental caries". *Antonie Van Leeuwenhoek* **82** (1-4): 361–6
- [24] Hillman JD, Mo J, McDonnell E, Cvitkovitch D, Hillman CH (May 2007). "Modification of an effector strain for replacement therapy of dental caries to enable clinical safety trials". *J. Appl. Microbiol.* **102** (5): 1209–19.
- [25] Lee Goldman and J. Claude Bennett, Νοσολογία του Cecil. 2003, Εκδόσεις Πασχαλίδη, τόμος], κεφ. 135, σελ. 1045
- Clin. Exp. Hypertens.* **17** (4):593-605
- [6] Βασιλική Αλεπόρου – Μαρίνου, κά., Βιολογία Θετικής κατεύθυνσης Γ' τάξης Ενιαίου Λυκείου, 2006, κεφ. 9, σελ. 135
- [7] Molecular Biology of the Cell - Fifth Edition, Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, Peter Walter  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=mboc4.figgrp.1653>
- [8] Jeremy Berg, John Tymoczko, Lubert Stry—5th ed, 2007, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, Βιοχημεία, κεφ 6, σελ. 180-181
- [9] Βασιλική Αλεπόρου – Μαρίνου, κά., Βιολογία Θετικής κατεύθυνσης Γ' τάξης Ενιαίου Λυκείου, 2006, κεφ. 9, σελ. 133
- [10] Melo EO, Canavessi AM, Franco MM, Rumpf R (2007). "Gene therapy in clinical medicine" *J. Appl. Genet.* **48** (1): 47–61
- [11] Leader B, Baca QJ, Golan DE (January 2008). "Protein therapeutics: a summary and pharmacological classification". *Nat Rev Drug Discov* **7** (1): 21–39
- [12] Walsh G (April 2005). "Therapeutic insulins and their large-scale manufacture". *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **67** (2): 151
- [13] Pipe SW (May 2008). "Recombinant clotting factors". *Thromb. Haemost.* **99** (5): 840– 50
- [14] Bryant J, Baxter L, Cave CB, Milne R (2007). "Recombinant growth hormone for idiopathic short stature in children and adolescents". *Cochrane Database Syst Rev* (3): CD004440
- [15] Baxter L, Bryant J, Cave CB, Milne R (2007). "Recombinant growth hormone for children and adolescents with Turner syndrome". *Cochrane Database Syst Rev* (1): CD0038
- [16] Foster PR (October 2000). "Prions and blood products". *Ann. Med.* **32** (7): 501–13.
- [17] Key NS, Negrier C (August 2007). "Coagulation factor concentrates: past, present, and future". *Lancet* **370** (9585): 439–48
- [18] Selkirk SM (October 2004). "Gene therapy in clinical medicine" . *Postgrad Med J* **80** (948): 560– 70