

ΘΕΤΙΚΗΣ
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗΣΕΠΙΜΕΛΕΙΑ:
ΝΟΤΑ ΛΑΖΑΡΑΚΗ
ΜΑΤΙΝΑ ΜΑΝΙΑΤΗ
ΠΑΝΑΪΛΑ ΚΕΛΙΔΟΥ

ΒΙΟΛΟΓΙΑ

ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ:
ΕΛΠΙΔΑ ΓΙΑ ΤΟΥΣ ΔΙΑΒΗΤΙΚΟΥΣ!

Η κλωνοποίηση του ανθρώπου εγείρει την ανησυχία της παγκόσμιας κοινής γνώμης σχετικά με τους σκοπούς που είναι δυνατό να χρησιμοποιηθεί. Εντούτοις, σύγχρονες έρευνες αποδεικνύουν ότι από την κλωνοποίηση απορρέει πλήθος πρωτοποριακών εφαρμογών για τη βελτίωση της υγείας και της ποιότητας ζωής του σύγχρονου ανθρώπου.

Μετά τη γέννηση της Dolly, του πρώτου προβάτου που δημιουργήθηκε με τη μέθοδο της κλωνοποίησης, αρκετοί ερευνητές διατείνονται ότι είναι εφικτή η κλωνοποίηση του ανθρώπου. Η κλωνοποίηση του ανθρώπου είναι σήμερα γνωστό ότι μπορεί να εφαρμοστεί για θεραπευτικούς σκοπούς, ενώ δεν αποκλείεται και η αναπαραγωγή των ατόμων μέσω αυτής.

Η θεραπευτική κλωνοποίηση συνίσταται στην ανάπτυξη εξειδικευμένων ιστών και οργάνων που θα χρησιμοποιηθούν για τη θεραπεία σοβαρών ασθενειών, και σε καμία περίπτωση δεν σχετίζεται με τη δημιουργία ανθρώπινων γενετικών αντιγράφων.

Πρόσφατες επιστημονικές εξελίξεις αποδεικνύουν ότι τα ανθρώπινα εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα μπορούν πράγματι να χρησιμοποιηθούν για να παράγουν κύτταρα που εκκρίνουν ινσουλίνη ανταποκρινόμενα στην γλυκόζη, όπως ακριβώς συμβαίνει και με τα β-κύτταρα του παγκρέατος, τα ειδικά δηλαδή κύτταρα του οργάνου που φυσιολογικά παράγουν ινσουλίνη. Υπό αυτήν την έννοια, είναι δυνατό τα ανθρώπινα εμβρυϊκά κύτταρα να αντιπροσωπεύουν στο άμεσο μέλλον μία ανανεώσιμη πηγή ινσουλινο-παραγωγών κυττάρων για τη θεραπεία του διαβήτη. Αξιοσημείωτο είναι άλλωστε, ότι ο αριθμός των ανθρώπων που πάσχουν από διαβήτη αυξάνεται με γοργό ρυθμό, ώστε ορισμένοι μιλούν για σύγχρονη επιδημία διαβήτη που αφορά 246 εκατομμύρια ανθρώπους!

A. Ποια είναι η δομή της ινσουλίνης και ποιος ο ρόλος της στον ανθρώπινο οργανισμό;

B. Πώς εξασφαλίζεται η ινσουλίνη που απαιτείται για τη θεραπεία των εκατομμυρίων διαβητικών του σύγχρονου κόσμου;

Γ. Τι ονομάζεται κλωνοποίηση και τι είναι ο κλώνος;

Δ. Ποια είναι η τεχνική με την οποία επιτυγχάνεται σήμερα η κλωνοποίηση ανώτερων οργανισμών, όπως είναι τα θηλαστικά;

Ε. Ποιες είναι οι εφαρμογές της κλωνοποίησης των θηλαστικών;

ΣΤ. Η απομόνωση εμβρυϊκών κυττάρων είναι σήμερα εφικτή με διάφορες μεθόδους.

i) Για ποιο συνήθη λόγο πραγματοποιείται σήμερα η απομόνωση ανθρώπινων εμβρυϊκών κυττάρων;

ii) Ποιους τρόπους γνωρίζετε με τους οποίους επιτυγχάνεται η απομόνωση εμβρυϊκών κυττάρων;

Z. Οι ερευνητές αισιοδοξούν ότι μετά την απομόνωση των αδιαφοροποίητων εμβρυϊκών κυττάρων, θα επιτύχουν με τη χρήση κατάλληλων ουσιών τη διαφοροποίηση τους σε παγκρεατικά κύτταρα και την κλωνοποίησή τους. Ποιοι παράγοντες καθορίζουν τη διαφοροποίηση των κυττάρων των διαφόρων ιστών ενός πολυκύτταρου οργανισμού;

ΑΠΑΝΤΗΣΗ

A. Η ινσουλίνη είναι μια ορμόνη που αποτελείται από 51 αμινοξέα και παράγεται από ειδικά κύτταρα του παγκρέατος. Το μόριο της ινσουλίνης αποτελείται από δύο μικρά πεπτιδία, Α και Β, που συγκρατούνται μεταξύ τους ενωμένα με δισουλφιδικούς δεσμούς. Το γονίδιο της ινσουλίνης παράγει ένα πρόδρομο μόριο, την προϊνσουλίνη, το οποίο μετατρέπεται τελικά σε ινσουλίνη.

Ο ρόλος της ινσουλίνης στον οργανισμό είναι η ρύθμιση του μεταβολισμού των υδατανθράκων και ειδικά του ποσοστού της γλυκόζης στο αίμα. Η απουσία της ή η ελλιπής σύνθεσή της επιφέρει την ασθένεια του διαβήτη.

B. Η μέθοδος που εφαρμόζεται σήμερα με σκοπό την παρασκευή ανθρώπινης ινσουλίνης περιλαμβάνει την κατασκευή **cdNA βιβλιοθήκης** από τα κύτταρα του παγκρέατος στα οποία εκφράζεται το γονίδιο της ινσουλίνης και την επιλογή του κλώνου που περιέχει το γονίδιο.

Τα στάδια για την παραγωγή και την απομόνωση του γονιδίου της ινσουλίνης είναι τα εξής:

- Απομόνωση του συνολικού mRNA από τα ειδικά παγκρεατικά ανθρώπινα κύτταρα που παράγουν φυσιολογικά την ινσουλίνη.
- Σύνθεση μονόκλωνων DNA με τη βοήθεια της αντίστροφης μεταγραφάσης και πρότυπο το mRNA που απομονώθηκε από τα κύτταρα.
- Κατασκευή δίκλωνων μορίων DNA και ενσωμάτωσή τους σε πλασμίδια.
- Μετασχηματισμός βακτηρίων με τα ανασυνδυασμένα πλασμίδια.
- Πολλαπλασιασμός των βακτηρίων σε θρεπτικό υλικό.
- Επιλογή των βακτηρίων που περιέχουν το γονίδιο το οποίο κωδικοποιεί το πρόδρομο μόριο της ινσουλίνης. Η επιλογή πραγματοποιείται με κατάλληλα μόρια ανιχνευτές.
- Ανάπτυξη των βακτηρίων σε βιοαντιδραστήρα για την παραγωγή του πρόδρομου μορίου της ινσουλίνης.
- Συλλογή της προϊνσουλίνης, καθαρισμός της, αφαίρεση με κατάλληλο ένζυμο του ενδιάμεσου πεπτιδίου και παραλαβή της ινσουλίνης.

Γ. Κλώνος ονομάζεται κάθε ομάδα πανομοιότυπων μορίων, κυττάρων, ή οργανισμών και κλωνοποίηση είναι η διαδικασία κατασκευής μεγάλου αριθμού πανομοιότυπων μορίων, κυττάρων ή οργανισμών.



ΚΕΝΤΡΙΚΑ ΓΡΑΦΕΙΑ FRANCHISE

ΠΕΙΡΑΙΑΣ

Σωτήρος & Αθικιθιάδου 132
Τηλ.: 210 4112507
e-mail: info@poukamisas.gr

ΑΙΓΑΛΕΩ: Θηβών 425 & Αδριανουπόλεως 10, Τηλ.: 210 5319805, **ΑΜΦΙΑΛΗ:** Κεφαλληνίας 8, Τηλ.: 210 4004200, **ΓΑΛΑΤΣΙ:** Εθ. Βενιζέλου 16, Τηλ.: 210 2224000, **ΓΛΥΦΑΔΑ:** Γούναρη 44 & Πόντου 87, Τηλ.: 210 9647806, **ΔΡΑΠΕΤΣΩΝΑ:** Εθ. Βενιζέλου 72, Τηλ.: 210 4622920, **ΚΑΛΛΙΘΕΑ:** Εθ. Βενιζέλου 188, Τηλ.: 210 9588891, **ΚΟΡΥΔΑΛΛΟΣ:** Δημητρακοπούλου & Σπεσιών 38, Τηλ.: 210 4978027, **ΛΑΡΙΣΑ:** Ρούσβετ & Καποδιστρίου 1, Τηλ.: 2410 612660, **ΜΟΣΧΑΤΟ:** Χρυσοστόμου Σμύρνης 124, Τηλ.: 210 9401137, **ΝΕΑ ΣΜΥΡΝΗ:** Εθ. Βενιζέλου 233 & Μάρκου Μπότσαρη 30, Τηλ.: 210 9883771, **ΝΙΚΑΙΑ:** Απολλείας 214 & Διαμαντίδη 71, Τηλ.: 210 4975777, **ΠΕΙΡΑΙΑΣ:** Σωτήρος & Αθικιθιάδου 132, Τηλ.: 210 4112506, **ΠΕΡΑΜΑ:** Λ. Ειρήνης 177, Τηλ.: 210 4416454



ΙΑΝ ΟΥΪΛΜΟΥΤ
(1944)

Βρετανός εμβρυολόγος, με σπουδές στο Κέιμπριτζ, ο επιστημονικός πατέρας του πρώτου κλωνοποιημένου θηλαστικού, της περίφημης προβατίνας Dolly (μαζί της στη φωτογραφία). Ο Ουίλμουτ, είχε από νωρίς ασχοληθεί με πειράματα γενετικής και το 1973 κατάφερε να δημιουργήσει το πρώτο μοσχάρι από κατεψυγμένο έμβρυο. Η επιστημονική ομάδα που ο Ουίλμουτ εγκατέστησε στο Ινστιτούτο Ρόσλιν της Σκωτίας και στην οποία συμμετείχε και ο βιολόγος Κιθ Κάμπελ ανακοίνωσε την ιστορική κλωνοποίηση της προβατίνας τον Φεβρουάριο του 1997 (είχε συντελεστεί 7 μήνες πριν) και σόκαρε την παγκόσμια κοινή γνώμη. Η διαδικασία που ακολούθησε η ομάδα Ουίλμουτ ήταν συνοπτικά η εξής. Αφαίρεσε κύτταρα από το μαστό προβατίνας Finn Dorset τα υποσίτισε ώστε να σταματήσει η διαδικασία της κυτταρικής τους διαίρεσης και ένα υποσιτισμένο κύτταρο το τοποθέτησε δίπλα από μη γονιμοποιημένο ωοκύτταρο προβατίνας Scottish Blackface. Με μια ηλεκτρική εκκένωση προκάλεσε τη σύντηξη των δυο κυττάρων και με μια δεύτερη την έναρξη της κυτταρικής τους διαίρεσης. Μετά από 6 μέρες οι επιστήμονες τοποθέτησαν το έμβρυο που προέκυψε στη μήτρα μιας άλλης προβατίνας Scottish Blackface προκειμένου να αναπτυχθεί. Έτσι γεννήθηκε η Dolly, μια προβατίνα Finn Dorset, ακριβές «αντίγραφο» της μητέρας της. Μέσα στο 1997 οι Ουίλμουτ-Κάμπελ δημιούργησαν άλλο ένα κλωνοποιημένο πρόβατο, την Polly, από κύτταρα δέρματος και τροποποιημένο γενετικό με ανθρώπινο γονίδιο... Η παγκόσμια επιστημονική κοινότητα διχασμένη και η παγκόσμια κοινή γνώμη πνιγμένη σε ερωτηματικά ηθικής άκουσε πριν από ένα μήνα την Αρχή Ανθρώπινης Γονιμότητας και Εμβρυολογίας της Μ. Βρετανίας να δίνει στον Ιαν Ουίλμουτ το πράσινο φως ώστε να κλωνοποιήσει ανθρώπινα έμβρυα ασθενών που πάσχουν από MND (ασθένεια των κινητικών νευρώνων).

Δ. Οι ερευνητές του Ινστιτούτου Roselin της Σκωτίας επέτυχαν το 1997 τη δημιουργία του πρώτου προβάτου-κλώνου (της Dolly) με τη μέθοδο της πυρηνικής μεταφοράς του γενετικού υλικού από σωματικό κύτταρο ζώου σε απύρρηνο ωάριο.

Συγκεκριμένα, ο πυρήνας ενός κυττάρου μαστικού αδένος από ένα εξάχρονο πρόβατο τοποθετήθηκε στο ωάριο ενός άλλου προβάτου, από το οποίο είχε προηγουμένως αφαιρεθεί ο πυρήνας. Το διπλοειδές κύτταρο που προέκυψε κατ' αυτόν τον τρόπο, συμπεριφέρθηκε σαν ζυγωτό, από το οποίο προέκυψε ένα έμβρυο. Ύστερα από 3-4 διαιρέσεις, το έμβρυο εμφυτεύθηκε στη μήτρα θετής μητέρας-προβατίνας, η οποία γέννησε τη Dolly.

Έκτοτε, η τεχνική αυτή έχει χρησιμοποιηθεί επανειλημμένα για τη δημιουργία πολλών κλώνων θηλαστικών ζώων, όπως αγελάδων, χοίρων, αιγών κ.λπ.

Ε. Η κλωνοποίηση των θηλαστικών αποδεικνύεται χρήσιμη σε δύο κυρίως τομείς των εφαρμογών της σύγχρονης επιστήμης:

- Στον **πολλαπλασιασμό διαγονιδιακών ζώων**. Η δημιουργία ενός διαγονιδιακού ζώου –όπως ένα ζώο που είναι ικανό να παράγει τον ανθρώπινο παράγοντα πήξης του αίματος- κοστίζει 1-2 εκατομμύρια ευρώ. Με κλωνοποίηση είναι δυνατό να παραχθούν πολλά πανομοιότυπα ζώα και κατά αυτόν τον τρόπο ακόμη μεγαλύτερες ποσότητες του φαρμάκου.
- Στην **προστασία** από την **εξαφάνιση** διαφόρων **ζώων** του πλανήτη. Προς το σκοπό αυτό, στις καταψύξεις πολλών ζωολογικών κήπων διατηρούνται κατεψυγμένα ωάρια και σπερματοζωάρια ή έμβρυα ζώων που κινδυνεύουν να εξαφανιστούν. Πυρήνες από αυτά τα κύτταρα είναι δυνατό να μεταφερθούν σε απύρρηνα ωοκύτταρα του είδους που μας ενδιαφέρει και στη συνέχεια να κωφορηθούν στο ίδιο ή συγγενικό είδος ζώου.

Στ. Η απομόνωση ανθρώπινων εμβρυϊκών κυττάρων αποτελεί πλέον μία κλινική εφαρμογή ρουτίνας που εφαρμόζεται πολύ συχνά.

i) Σκοπός της απομόνωσης εμβρυϊκών κυττάρων είναι ο προγεννητικός έλεγχος και η έγκαιρη διάγνωση γενετικών ανωμαλιών.

ii) Οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται είναι η αμνιοπαρακέντηση και η λήψη χοριακών λαχνών.

- Με την **αμνιοπαρακέντηση** λαμβάνεται από τον αμνιακό σάκο με τη βοήθεια βελόνας μικρή ποσότητα αμνιακού υγρού, μέσα στο οποίο βρίσκονται εμβρυϊκά κύτταρα. Τα κύτταρα χρησιμοποιούνται για την ανάλυση DNA και τη βιοχημική ανάλυση ορισμένων πρωτεϊνών, όπως συμβαίνει στην περίπτωση της φαιυλικετονουρίας. Είναι επίσης δυνατό να καλλιεργηθούν και στη συνέχεια να χρησιμοποιηθούν για τη διάγνωση χρωμοσωμικών ανωμαλιών με τη μελέτη καρυοτύπου. Η αμνιοπαρακέντηση επιτελείται τη 12η-16η εβδομάδα της κύησης, δίνει τη δυνατότητα παρασκευής καλής ποιότητας καρυοτύπου και αποτελεί ασφαλή και αξιόπιστο τρόπο διάγνωσης περισσότερων των 100 γενετικών ανωμαλιών.
- Η **λήψη χοριακών λαχνών** αποτελεί εναλλακτική μέθοδο προγεννητικού ελέγχου καθώς πραγματοποιείται κατά την 9η-12η εβδομάδα της κύησης (περισσότερο έγκαιρα) και περιλαμβάνει τη λήψη εμβρυϊκών κυττάρων από τις προεκβολές (λάχνες) του χορίου, μίας μεμβράνης που συμμετέχει στο σχηματισμό του πλακούντα. Τα κύτταρα από τις λάχνες χρησιμοποιούνται για έλεγχο χρωμοσωμάτων (καρυότυπος), για βιοχημικές αναλύσεις και ανάλυση DNA.

Ζ. Η κυτταρική διαφοροποίηση σε έναν πολυκύτταρο οργανισμό επιτυγχάνεται με τη γονιδιακή ρύθμιση, την επιλεκτική δηλαδή έκφραση του γενετικού υλικού των κυττάρων. Η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς πραγματοποιείται με ιδιαίτερα πολύπλοκους μηχανισμούς και σε πολλά επίπεδα. Το επίπεδο όμως που καθορίζει τη διαφοροποίηση είναι αυτό της **μεταγραφής**, κατά την οποία ένας αριθμός μηχανισμών καθορίζει ποια γονίδια θα μεταγραφούν ή/και με ποια ταχύτητα θα γίνει η μεταγραφή των γονιδίων. Η RNA πολυμεράση λειτουργεί (όπως και στους προκαρυωτικούς οργανισμούς) με τη βοήθεια μεταγραφικών παραγόντων, οι οποίοι στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς παρουσιάζουν τεράστια ποικιλία. Κάθε κυτταρικός τύπος έχει διαφορετικά είδη μεταγραφικών παραγόντων. Διαφορετικός συνδυασμός μεταγραφικών παραγόντων ρυθμίζει τη μεταγραφή κάθε γονιδίου και μόνον όταν ο σωστός συνδυασμός των μεταγραφικών παραγόντων προσδεθεί στον υποκινητή ενός γονιδίου, αρχίζει η RNA πολυμεράση τη μεταγραφή του γονιδίου.

