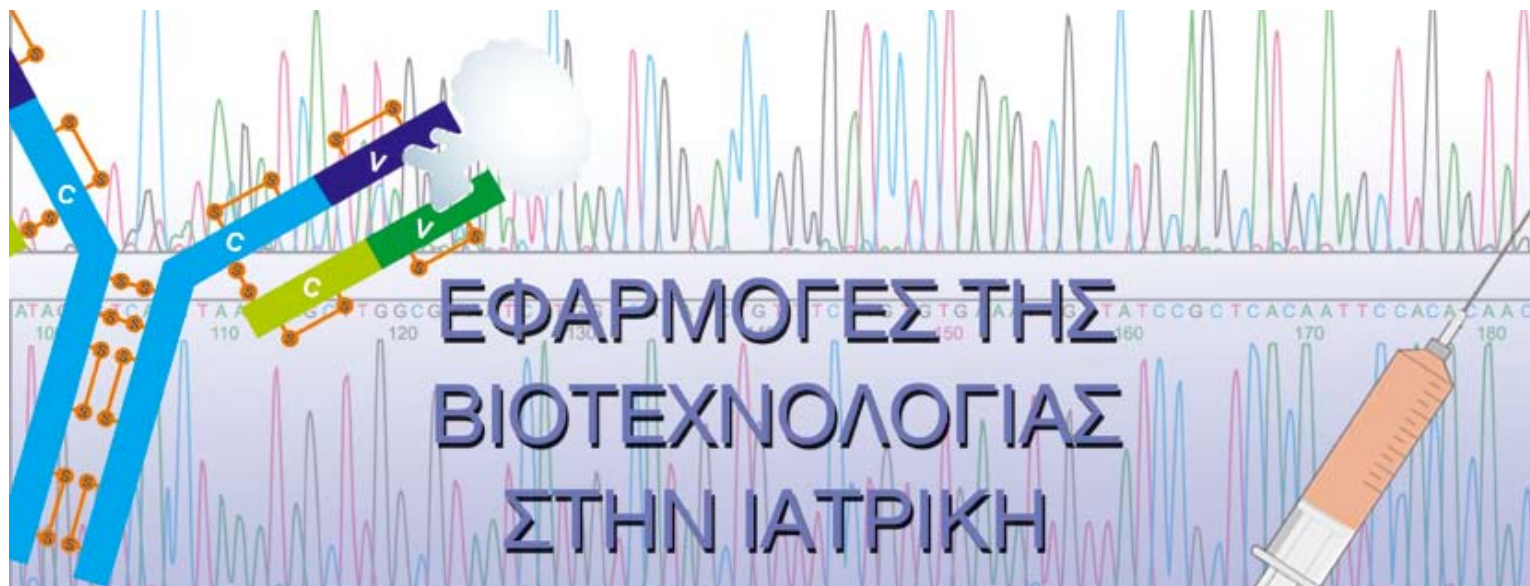
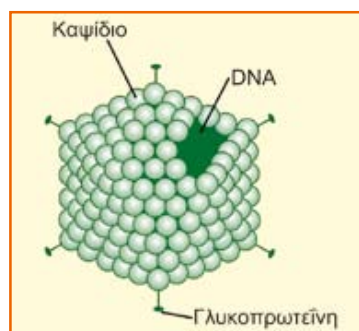




ΟΡΟΛΟΓΙΑ – ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΘΕΩΡΙΑΣ

ΑΔΕΝΟΪΟΙ: Μία οικογένεια ιών που δεν φέρουν έλυτρο και έχουν ως γενετικό υλικό δίκλωνο γραμμικό DNA. Προσβάλλουν θηλαστικά και πτηνά και εμφανίζουν εξειδίκευση προσβολής ως προς τους ξενιστές τους. Πολλοί αδενοϊοί είναι δυνατό να επάγουν καρκινογένεση μετά τη μόλυνση του ξενιστή. Οι αδενοϊοί είναι σταθεροί και δεν αλληλεπιδρούν με συστατικά των κυττάρων γι' αυτό χρησιμοποιούνται και ως φορείς στη γονιδιακή θεραπεία.



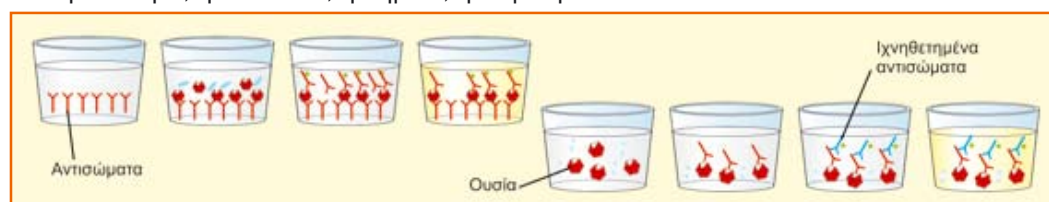
Εικ. 8.1: Αδενοϊός.

ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ: Βλέπε Μυελός των οστών.

ΑΝΟΣΟΔΙΑΓΝΩΣΗ: Μία από τις πιο σημαντικές εργαστηριακές εφαρμογές των μονοκλωνικών αντισωμάτων είναι η χρήση τους για την αναγνώριση (ποιοτικό προσδιορισμό) ουσιών (πρωτεϊνών, σακχάρων, χημικών ενώσεων) και τον υπολογισμό της ποσότητά τους (ποσοτικός προσδιορισμός), μέσα σε ένα ετερογενές μείγμα όπως τα υγρά του σώματος (αίμα, ούρα, σάλιο κ.ά.).

Η χρήση αυτή των μονοκλωνικών αντισωμάτων στηρίζεται στην ικανότητά τους να εμφανίζουν ισχυρή εξειδίκευση και να αναγνωρίζουν έτσι αποκλειστικά την ουσία με την οποία μπορούν να συνδεθούν εμφανίζοντας ταίριασμα κλειδιού (αντίσωμα) - κλειδαριάς (ουσία). Έτσι η ανοσοδιάγνωση καθίσταται μία πολύ ευαίσθητη τεχνική, αφού μπορεί να προσδιορίσει και ποσοτικά και ποιοτικά μία ουσία που βρίσκεται ακόμη και σε ίχνη μέσα σε ένα ετερογενές μείγμα.

Η ανοσοδιάγνωση βρίσκει εφαρμογή σε πολλούς τομείς και επιστήμες, όπως η Μοριακή Βιολογία, η Γεωπονία, η Χημεία, η Ιατρική κ.ά.



Εικ. 8.2: Τεχνική της ανοσοδιάγνωσης.



Επίσης, μέσω των ανοσοδιαγνωστικών μορίων είναι δυνατή η διαπίστωση της παρουσίας παθογόνων μικροοργανισμών στον οργανισμό (άνθρωπος, ζώο, φυτό) καθώς και η καταγραφή της διακύμανσης της συγκέντρωσης διαφόρων προϊόντων του μεταβολισμού, η οποία μπορεί να σχετίζεται με την εκδήλωση ασθενειών.

ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΟ: Οποιοδήποτε μικροβιακό προϊόν το οποίο σε μικρές συγκεντρώσεις είναι ικανό να θανατώσει άλλους μικροοργανισμούς ή να παρεμποδίσει την ανάπτυξη τους. Σήμερα ο όρος έχει αποκτήσει μια διευρυμένη εμπορική έννοια. Γενικά χρησιμοποιείται για φυσικά, ημι-συνθετικά ή πλήρως συνθετικά αντιμικροβιακά συστατικά που είναι αποτελεσματικά σε χαμηλές συγκεντρώσεις (βλέπε αντίστοιχο όρο, κεφ. 7).

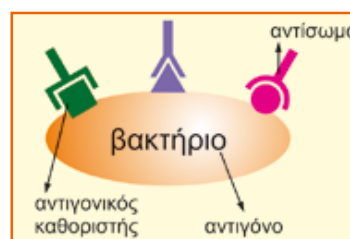
ΑΝΤΙΓΟΝΟ: Οποιοδήποτε στοιχείο (π.χ. κύτταρο, ιός ή πρωτεΐνη) το οποίο είναι ικανό να επάγει ανοσοβιολογική αντίδραση σε έναν ανώτερο ζωικό οργανισμό, με αποτέλεσμα την παραγωγή αντισωμάτων εναντίον του. Ο όρος αντιγόνο είναι γενικός και μπορεί να αναφέρεται σε ένα συγκεκριμένο μακρομόριο ή σε έναν ομογενή ή ετερογενή πληθυσμό αντιγονικών μακρομορίων π.χ. ενός κυττάρου.

Η επιφάνεια ενός μικροοργανισμού, τυπικά συνίσταται από ένα επαναλαμβανόμενο μοτίβο μακρομορίων με αντιγονική δράση. Για καθένα από αυτά τα μακρομόρια παράγεται διαφορετικό αντίσωμα από το ανοσοβιολογικό σύστημα. Το καθένα από αυτά τα μακρομόρια αποτελεί έναν **αντιγονικό καθοριστή** (βλέπε αντίστοιχο όρο).

Το ανοσοποιητικό σύστημα κάθε ατόμου αναγνωρίζει τα δικά του αντιγόνα (**αυτοαντιγόνα**) και δεν παράγει εναντίον τους αντισώματα. Έτσι, ένα κύτταρο μας (π.χ. ερυθροκύτταρο) είναι ένα αντιγόνο, γιατί αν εισαχθεί σε ένα άλλο άτομο, μπορεί να προκαλέσει την παραγωγή αντισωμάτων. Στο δικό μας όμως οργανισμό δεν προκαλεί την παραγωγή αντισωμάτων διότι για εμάς, δρα ως ένα αυτοαντιγόνο. Σε παθολογικές καταστάσεις, είναι δυνατόν και ο ίδιος ο οργανισμός μας να στραφεί εναντίον δικών του αυτοαντιγόνων, με αποτέλεσμα την πρόκληση πολύ σοβαρών νοσημάτων, που ονομάζονται αυτοάνοσα νοσήματα.

ΑΝΤΙΓΟΝΟ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΣ: Μακρομόρια, συνήθως πρωτεΐνες ή πολυσακχαρίτες, που τουλάχιστον ένα τμήμα τους βρίσκεται στην εξωτερική επιφάνεια της κυτταροπλασματικής μεμβράνης των κυττάρων και επάγουν την ανοσοβιολογική αντίδραση όταν εισαχθούν σε έναν ανώτερο ζωικό οργανισμό.

ΑΝΤΙΓΟΝΙΚΟΣ ΚΑΘΟΡΙΣΤΗΣ: Το ορισμένο εκείνο τμήμα του αντιγόνου, το οποίο αναγνωρίζεται από ένα ορισμένο είδος αντισωμάτων. Ένα αντιγόνο, π.χ. ένα βακτήριο, συνήθως φέρει περισσότερους από έναν αντιγονικούς καθοριστές. Για καθένα από αυτούς, παράγεται ένα διαφορετικό αντίσωμα που τον αναγνωρίζει και προσδένεται κατ' αποκλειστικότητα με αυτόν.



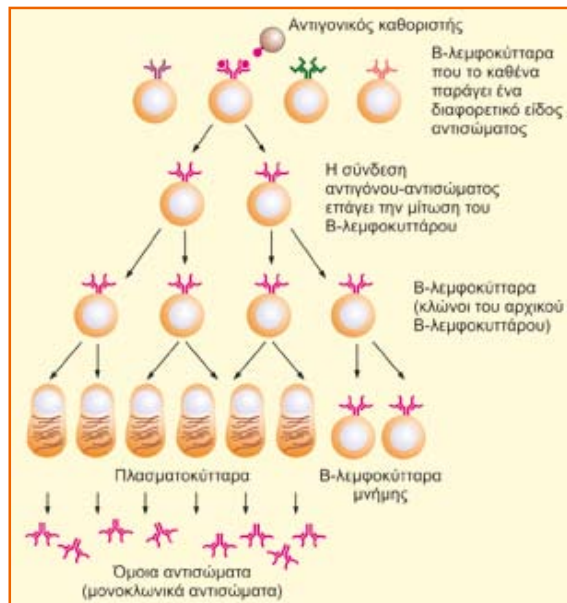
Εικ. 8.3: Αντιγονικός καθοριστής.

ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ: Όρος συνώνυμος με τον όρο ανοσοσφαιρίνες. Αντίσωμα είναι οποιοδήποτε πρωτεϊνικό μόριο που παράγεται κατά την απ'ευθείας αντίδραση του ανοσοποιητικού συστήματος σε ένα αντιγόνο και το οποίο μπορεί να συνδεθεί με το συγκεκριμένο αντιγόνο που προκάλεσε την παραγωγή του με απόλυτη εξειδίκευση. Ο οργανισμός είναι ικανός να παράγει εκατομμύρια διαφορετικά αντισώματα, ένα διαφορετικό είδος αντισώματος για κάθε διαφορετικό αντιγονικό καθοριστή!



Παραγωγή αντισωμάτων από τον οργανισμό (*in vivo*):

Κάθε Β-λεμφοκύτταρο φέρει στην επιφάνεια της κυτταροπλασματικής του μεμβράνης ένα συγκεκριμένο είδος αντισώματος. Όταν ένα Β-λεμφοκύτταρο ενεργοποιηθεί από το αντιγόνο εκείνο που αναγνωρίζεται από το αντίσωμα που φέρει στην επιφάνειά του, τότε το Β-λεμφοκύτταρο υφίσταται μίτωση δημιουργώντας όμοια Β-λεμφοκύτταρα. Τα περισσότερα από αυτά διαφοροποιούνται προς πλασματοκύτταρα ενώ παράλληλα μερικά από τα Β-λεμφοκύτταρα που δημιουργήθηκαν διαιρούνται με χαμηλό ρυθμό δημιουργώντας έναν κλώνο ομοίων Β-λεμφοκυττάρων (Β-λεμφοκύτταρα μνήμης) που θα ενεργοποιηθούν σε δεύτερη επαφή με όμοιο αντιγόνο που προκάλεσε την δημιουργία τους (δευτερογενής ανοσοβιολογική αντίδραση). Ένα **πλασματοκύτταρο** διαθέτει μεγάλο αριθμό ριβοσωμάτων και εκτεταμένο ενδοπλασματικό δίκτυο, με αποτέλεσμα να μπορεί να συνθέτει πάνω από 2.000 μόρια αντισωμάτων/δευτ. Τα αντισώματα που παράγονται από τα πλασματοκύτταρα εκκρίνονται στην κυκλοφορία του αίματος (χυμική ανοσία). Κάθε πλασματοκύτταρο που προκύπτει από ένα ορισμένο Β-λεμφοκύτταρο παράγει ένα συγκεκριμένο είδος αντισωμάτων τα οποία είναι όμοια με το αντίσωμα που βρισκόταν στην επιφάνεια του Β-λεμφοκυττάρου από το οποίο προήλθαν.



Εικ. 8.4: Παραγωγή αντισωμάτων *in vivo*.

✓ **ΣΧΟΛΙΟ:** Η λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος είναι εξαιρετικά πολύπλοκη. Έως σήμερα, λίγες μόνο πτυχές του μηχανισμού ανοσίας έχουν κατανοηθεί από τους επιστήμονες.

Δομή αντισωμάτων: Το μόριο κάθε αντισώματος αποτελείται από τέσσερις πολυπεπτιδικές αλυσίδες, ανά δύο όμοιες, δύο μεγάλες και δύο μικρές. Οι μεγάλες ονομάζονται **βαριές** και οι μικρές **ελαφριές**. Οι αλυσίδες αυτές συνδέονται μεταξύ τους σχηματίζοντας μία δομή που μοιάζει με το γράμμα Υ. Η περιοχή του αντισώματος που συνδέεται με το αντιγόνο ονομάζεται **μεταβλητή περιοχή**. Η περιοχή αυτή ανάλογα με την αλληλουχία των αμινοξέων της, καθιστά το αντίσωμα ικανό



Εικ. 8.5: Δομή αντισώματος.



να συνδέεται με ένα μόνο συγκεκριμένο είδος αντιγόνου. Αντίθετα το υπόλοιπο τμήμα του είναι ίδιο σε όλα τα αντισώματα και αποτελεί τη **σταθερή περιοχή** του. Η σύνδεση αντιγόνου-αντισώματος στον οργανισμό έχει ως αποτέλεσμα την εξουδετέρωση του αντιγόνου.



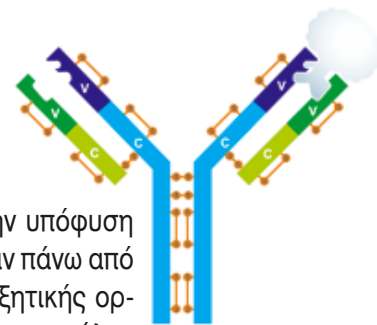
Ο όρος αντισώματα συνήθως χρησιμοποιείται για ένα ομογενές ή ετερογενές σύνολο αντισωμάτων. Το ομογενές σύνολο αφορά τα μονοκλωνικά αντισώματα ενώ το ετερογενές σύνολο αφορά τον πολυκλωνικό ορό αντισωμάτων.

Μονοκλωνικά αντισώματα: Ένα σύνολο από όμοια αντισώματα, όπου όλα έχουν την ίδια μεταβλητή περιοχή και αναγνωρίζουν τον ίδιο αντιγονικό καθοριστή. Τα μονοκλωνικά αντισώματα παράγονται *in vivo* με τη διαδικασία που αναφέρθηκε παραπάνω. Δηλαδή, όλα τα μονοκλωνικά αντισώματα παράγονται από έναν κλώνο όμοιων πλασματοκυττάρων που προέκυψαν από τη διαφοροποίηση όμοιων Β-λεμφοκυττάρων, κλώνων ενός αρχικού Β-λεμφοκυττάρου που έφερε στην επιφάνειά του ένα ορισμένο αντίσωμα και ενεργοποιήθηκε από την παρουσία του συγκεκριμένου αντιγονικού καθοριστή που αναγνωρίζει. Τα μονοκλωνικά αντισώματα *in vitro* παράγονται από υβριδώματα (βλέπε αντίστοιχο όρο). Εάν δύο διαφορετικά αντιγόνα (π.χ. δύο βακτήρια διαφορετικού είδους) φέρουν τον ίδιο αντιγονικό καθοριστή, τότε και τα δύο αντιγόνα αναγνωρίζονται από το ίδιο μονοκλωνικό αντίσωμα.

Πολυκλωνικός ορός αντισωμάτων: Ένα ετερογενές σύνολο από διαφορετικά μονοκλωνικά αντισώματα. Όταν ένα αντιγόνο με περισσότερους από έναν αντιγονικούς καθοριστές μολύνει τον οργανισμό μας, παράγονται τόσα διαφορετικά είδη μονοκλωνικών αντισωμάτων όσοι είναι οι διαφορετικοί αντιγονικοί καθοριστές του συγκεκριμένου αντιγόνου.

ΑΠΑΜΙΝΑΣΗ ΤΗΣ ΑΔΕΝΟΣΙΝΗΣ (ADA): Ένζυμο το οποίο είναι απαραίτητο για την ωρίμανση των λευκών αιμοσφαιρίων. Η ADA καταβολίζει την απαμίνωση (απομάκρυνση της αμινο-ομάδας) της αδενοσίνης συμμετέχοντας στο μεταβολικό μονοπάτι των πουρινών στα κύτταρα του μυελού των οστών. Έλλειψη της ADA ή μη-λειτουργικό ένζυμο οδηγεί σε συσσώρευση στα πρόδρομα λεμφοκύτταρα τριφωσφορικής-δεοξαδενοσίνης, η οποία σε υψηλές συγκεντρώσεις έχει τοξική δράση. Άτομα ομόζυγα για το υπολειπόμενο παθολογικό αλληλόμορφο του γονιδίου που κωδικοποιεί για την ADA εμφανίζουν την ασθένεια SCID (βαριά συνδυασμένη ανοσοανεπάρκεια).

ΑΥΞΗΤΙΚΗ ΟΡΜΟΝΗ: Πρωτεϊνικής φύσεως ορμόνη, η οποία δρα σε πολλούς ιστούς του σώματος επάγοντας την αύξησή τους. Η αυξητική ορμόνη παράγεται στην υπόφυση του εγκεφάλου. Από τις πιο σημαντικές δράσεις της είναι η ενεργοποίηση των κυττάρων για την παραγωγή αμινοξέων και η ενεργοποίηση του ήπατος για την παραγωγή χημικών μηνυμάτων που επάγουν την αύξηση του οργανισμού, όπως οι IGFs παράγοντες. Η υπερπαραγωγή της αυξητικής ορμόνης οδηγεί στην παθολογική κατάσταση που ονομάζεται γιγαντισμός ενώ η έλλειψή της οδηγεί σε νανισμό.



Παλαιότερα (λίγο μετά το 1950) η αυξητική ορμόνη απομονωνόταν από την υπόφυση ανθρώπινων πτωμάτων με εκχύλιση των εγκεφαλικών κυττάρων. Απαιτούνταν πάνω από 50 πτώματα για την απομόνωση της απαιτούμενης ετησίως ποσότητας αυξητικής ορμόνης για έναν ασθενή. Μετά το 1980, η αυξητική ορμόνη παράγεται πλέον σε μεγάλες ποσότητες από γενετικώς τροποποιημένα βακτήρια.

Β-ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ: Πρόκειται για έναν τύπο λευκών αιμοσφαιρίων του αίματος. Τα Β-λεμφοκύτταρα ωριμάζουν από πρόδρομα αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα στον ερυθρό μυελό των οστών.

Μορφολογικά τα Β-λεμφοκύτταρα είναι μικρά-σφαιρικά κύτταρα (διαμέτρου 8-10 μm) με σχετικά μεγάλο πυρήνα. Σε έναν ενήλικο άνθρωπο υπάρχουν πάνω από 10^6 διαφορετικά Β-λεμφοκύτταρα που το καθένα φέρει στην επιφάνεια της κυτταροπλασματικής του μεμβράνης και είναι ικανό να παράγει μετά από διαφοροποίησή του σε πλασματοκύτταρο, ένα διαφορετικό αντίσωμα (βλέπε και όρο *Αντισώματα*).

Τα Β-λεμφοκύτταρα αποτελούν τη βάση της χυμικής ανοσοβιολογικής απόκρισης του ανοσοποιητικού συστήματος. Μετά την είσοδο ενός αντιγόνου στον οργανισμό τα Β-λεμφοκύτταρα με αντισώματα που αναγνωρίζουν τους αντιγονικούς καθοριστές του αντιγόνου ενεργοποιούνται (είτε μέσω των βοηθητικών Τ-λεμφοκυττάρων είτε με απ' ευθείας σύνδεση με το αντιγόνο), διαιρούνται παράγοντας Β-λεμφοκύτταρα μνήμης και ορισμένα διαφοροποιούνται προς πλασματοκύτταρα παράγοντας μεγάλες ποσότητες αντισωμάτων.

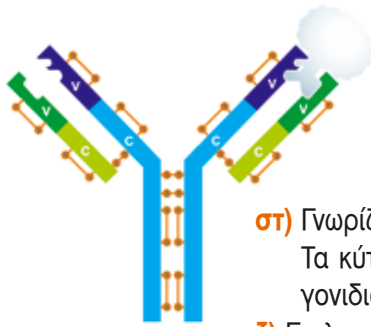
ΒΑΡΙΑ ΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΗ ΑΝΟΣΟΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ (Severe Combined-Immunodeficiency-SCID): Γενετική νόσος που οφείλεται στην έλλειψη ή στη μη-λειτουργικότητα του ενζύμου απαμινάση της αδενοσίνης (ADA). Ακολουθεί αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο κληρονομής. Οι ασθενείς πάσχουν από χρόνιες μολύνσεις και έχουν προδιάθεση για ανάπτυξη καρκίνου σε πολύ μικρή ηλικία καθώς δεν είναι δυνατή η ωρίμανση των λεμφοκυττάρων τους, που αποτελούν τη βάση του ανοσοβιολογικού τους συστήματος. Πολλοί ασθενείς πεθαίνουν ύστερα από λίγους μήνες ζωής. Η ασθένεια SCID ήταν η πρώτη (1990), στην οποία δοκιμάστηκε η γονιδιακή θεραπεία (*ex vivo*).

ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ: Βλέπε αντίστοιχο όρο κεφ. 5.

ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ: Ένας τρόπος θεραπείας των γενετικών ασθενειών του ανθρώπου με τη χρήση της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA. Το αντικείμενο της γονιδιακής θεραπείας είναι η εισαγωγή ενός φυσιολογικού επικρατούς γονιδίου που μπορεί να εκφράζεται στο γονιδίωμα των σωματικών κυττάρων του ασθενούς στον ιστό ή το όργανο που εκδηλώνεται η νόσος.

Η εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας προϋποθέτει:

- α)** Η νόσος που θέλουμε να θεραπεύσουμε είναι μονογονιδιακή.
- β)** Η νόσος ακολουθεί υπολειπόμενο τρόπο κληρονομής.
- γ)** Γνωρίζουμε το υπεύθυνο για τη νόσο γονίδιο, το οποίο έχει χαρτογραφηθεί.
- δ)** Απομάκρυνση του φυσιολογικού-επικρατούς αλληλομόρφου από κύτταρα υγιούς ατόμου δότη.
- ε)** Κλωνοποίηση του φυσιολογικού αλληλομόρφου του γονιδίου και παραγωγή πολλών αντιγράφων.



στ) Γνωρίζουμε τον ιστό ή το όργανο του ανθρώπου στο οποίο εκδηλώνεται η νόσος. Τα κύτταρα αυτού του ιστού ή του οργάνου αποτελούν τα κύτταρα-στόχους της γονιδιακής θεραπείας.

ζ) Επιλογή του κατάλληλου φορέα που θα μεταφέρει το φυσιολογικό αλληλόμορφο γονίδιο στα κύτταρα-στόχους και θα το ενθέσει στο γονιδίωμά τους. Η επιλογή του κατάλληλου φορέα, που συνήθως είναι ιός, γίνεται με βάση τα κύτταρα-στόχους, δεδομένου ότι οι ιοί εμφανίζουν ιστο-εξειδίκευση προσβολής.

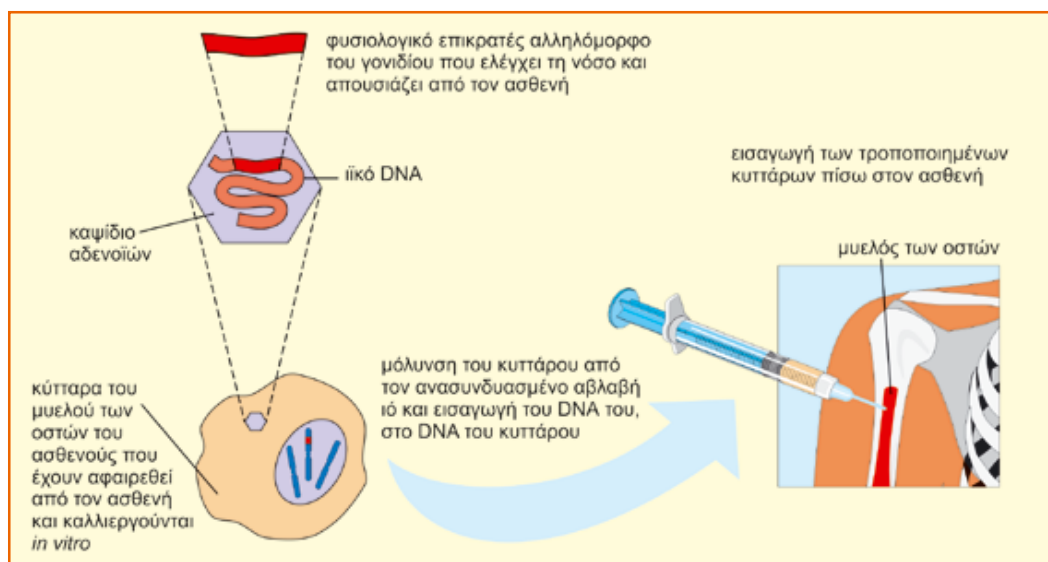
η) Εάν ο φορέας είναι ιός, τότε θα πρέπει αυτός να καταστεί αβλαβής, δηλαδή να μην είναι ικανός να προκαλέσει ίωση στον ασθενή που υφίσταται τη γονιδιακή θεραπεία.

θ) Το φυσιολογικό αλληλόμορφο θα πρέπει να μπορεί να εκφράζεται στα σωματικά κύτταρα του ασθενούς όπου ενθέθηκε, συνεπώς θα πρέπει να βρίσκεται υπό τον έλεγχο ενός ενεργού υποκινητή στα συγκεκριμένα ανθρώπινα κύτταρα.

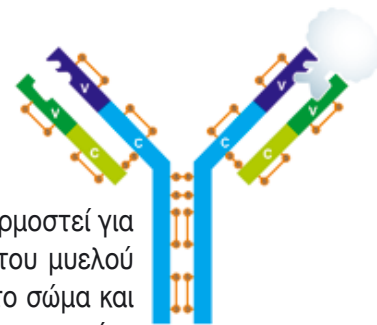
Η γονιδιακή θεραπεία επιτρέπεται μόνο για σωματικά κύτταρα του ανθρώπου και απαγορεύεται αυστηρά, για λόγους βιοηθικής, η εφαρμογή της στα μειοκύτταρα ή τους γαμέτες του ανθρώπου. Για το λόγο αυτό η γονιδιακή θεραπεία που υφίσταται ένας ασθενής δεν αλλοιώνει τη σύσταση των γονιδίων των γαμετών του και συνεπώς το φυσιολογικό επικρατές αλληλόμορφο που ενθέθηκε στο γονιδίωμα των νοσούντων σωματικών κυττάρων του δε μεταβιβάζεται στις επόμενες γενεές. Υπάρχουν δύο διαφορετικοί τύποι γονιδιακής θεραπείας που εξαρτώνται από τον ιστό ή το όργανο που εκδηλώνει τη νόσο.

ex vivo: Αυτός ο τύπος γονιδιακής θεραπείας εφαρμόζεται όταν είναι δυνατή η απομάκρυνση των κυττάρων του ασθενούς από το σώμα του, προκειμένου αυτά να αναπτυχθούν σε κυτταροκαλλιέργειες και να τροποποιηθούν γενετικά στο εργαστήριο. Μετά την τροποποίησή τους στο εργαστήριο επανεισάγονται στον ασθενή, οπότε εκφράζουν το φυσιολογικό αλληλόμορφο του γονιδίου και ο ασθενής δεν εκδηλώνει πλέον τη νόσο.

Αυτή η μορφή γονιδιακής θεραπείας ήταν η πρώτη που εφαρμόστηκε (1990) σε ένα



Εικ. 8.6: ex vivo γονιδιακή θεραπεία.



κορίτσι που έπασχε από SCID. Η *ex vivo* γονιδιακή θεραπεία μπορεί να εφαρμοστεί για εμπύρνηνα κύτταρα του αίματος, όπως τα λεμφοκύτταρα, ή για κύτταρα του μυελού των οστών (αιμοποιητικό σύστημα) που μπορούν να απομακρυνθούν από το σώμα και να επαναεισαχθούν σε αυτό. Επειδή όμως τα κύτταρα του αίματος έχουν περιορισμένο χρόνο ζωής, η θεραπεία δεν είναι μόνιμη αλλά πρέπει να επαναλαμβάνεται σε τακτά χρονικά διαστήματα.

in vivo: Αυτός ο τύπος γονιδιακής θεραπείας εφαρμόζεται όταν δεν είναι δυνατή η απομάκρυνση των κυττάρων του ασθενούς από το σώμα του, προκειμένου αυτά να τροποποιηθούν γενετικά στο εργαστήριο (όπως π.χ. τα κύτταρα του πνεύμονα). Σε αυτή τη μορφή γονιδιακής θεραπείας, κατάλληλοι “έξυπνοι” φορείς, δηλαδή ιοί που εμφανίζουν ιστο-εξειδίκευση προσβολής (π.χ. ιοί που προσβάλλουν μόνο τα κύτταρα του πνεύμονα) τροποποιούνται με το φυσιολογικό γονίδιο στο εργαστήριο και επίσης καθίστανται αβλαβείς για τον ασθενή. Στη συνέχεια οι αβλαβείς και γενετικά τροποποιημένοι ιοί, εισάγονται με τη βοήθεια κατάλληλου οργάνου (π.χ. βρογχοσκοπίου) στο σώμα του ασθενούς. Εξαιτίας της ιστο-εξειδίκευσης προσβολής των ιών-φορέων, αυτοί μολύνουν μόνο τα κύτταρα του ιστού που εκδηλώνει τη νόσο και ενθέτουν το τροποποιημένο γονιδίωμά τους στο γονιδίωμα των κυττάρων στόχων, τα οποία τώρα εκφράζουν το φυσιολογικό γονίδιο και υποχωρούν τα συμπτώματα της ασθένειας.

Η γονιδιακή θεραπεία αναμένεται να βρει εφαρμογή όχι μόνο στις μονογονιδιακές ασθένειες αλλά και σε πολυγονιδιακές νόσους καθώς και στον καρκίνο αλλά και σε πολύ σοβαρά λοιμώδη νοσήματα, κυρίως ιώσεις, όπως το AIDS. Στους στόχους αυτούς θα βοηθήσει η χαρτογράφηση και αποκρυπτογράφηση του ανθρώπινου γονιδιώματος. Η γονιδιακή θεραπεία είναι ακόμη σε πειραματικό στάδιο και τα δυσεπίλυτα προβλήματα που αντιμετωπίζει η εφαρμογή της, είναι η ανάπτυξη κατάλληλων φορέων των φυσιολογικών γονιδίων ώστε αυτοί να μολύνουν μόνο τα κύτταρα στόχους, να είναι ανίκανοι να προσδώσουν παθογένεια στον ασθενή και να είναι δυνατός ο χειρισμός της ένθεσης του επιθυμητού γονιδίου στο γονιδίωμα του κυττάρου στόχου. Το τελευταίο είναι πολύ σημαντικό, διότι θα πρέπει η ένθεση του επιθυμητού γονιδίου να γίνεται σε περιοχή του γονιδιώματος του κυττάρου στόχου που δεν είναι γονίδιο και δεν επηρεάζει την έκφραση άλλων γονιδίων.

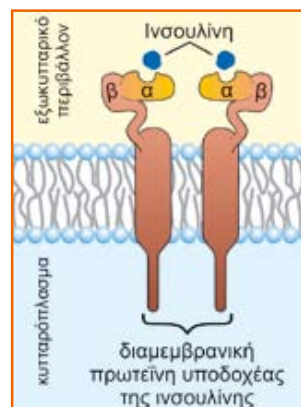


Κατά τη γονιδιακή θεραπεία δεν αντικαθίσταται το υπολειπόμενο παθολογικό αλληλόμορφο του γονιδίου που ελέγχει τη νόσο αλλά προστίθεται στο γονιδίωμα του κυττάρου στόχου ένα ακόμη αλληλόμορφο του υπεύθυνου γονιδίου. Το φυσιολογικό επικρατές αλληλόμορφο γονίδιο προστίθεται σε τυχαία θέση, σε τυχαίο χρωμόσωμα. Το επικρατές αλληλόμορφο γονίδιο πρέπει να μεταφερθεί μόνο στον κατάλληλο ιστό στόχο και στην κατάλληλη ποσότητα, με τα προϊόντα έκφρασης του γονιδίου να παράγονται στις ιδανικές για τη σωστή λειτουργία του οργανισμού ποσότητες, την κατάλληλη χρονική στιγμή και για το απαιτούμενο χρονικό διάστημα.



ΔΙΑΒΗΤΗΣ: Ασθένεια που χαρακτηρίζεται από καταβολή, ληθαργικότητα και δραματική απώλεια σωματικής μάζας. Αποτελεί μία από τις πιο κοινές ασθένειες παγκοσμίως, με περισσότερους από 60.000.000 ασθενείς. Οι διαβητικοί εμφανίζουν υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης στο αίμα τους, η οποία προκαλεί, απομάκρυνση ύδατος από τα κύτταρα προς το αίμα λόγω όσμωσης και συνακόλουθα αυξημένη απομάκρυνση ούρων από τα νεφρά ώστε να απομακρυνθεί η περίσσεια της γλυκόζης και του νερού από το αίμα. Στους διαβητικούς, καθώς η πρόσληψη της γλυκόζης από τα κύτταρα είναι περιορισμένη, αυτή δε χρησιμοποιείται για τις καύσεις του κυττάρου και την παραγωγή ενέργειας αλλά τα κύτταρα καταναλώνουν λίπη και πρωτεΐνες για το σκοπό αυτό. Αποτέλεσμα αυτού είναι σημαντικοί ιστοί και όργανα του σώματος των διαβητικών που δεν ακολουθούν κάποια θεραπεία, να υφίστανται σοβαρές καταστροφές.

Ο διαβήτης διακρίνεται σε ινσουλινο-εξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη ή διαβήτη τύπου I, ο οποίος εμφανίζεται συχνότερα στα παιδιά. Ο διαβήτης τύπου I, οφείλεται στην έλλειψη της ορμόνης ινσουλίνης. Αυτός ο τύπος διαβήτη είναι αυτοάνοσο νόσημα. Συγκεκριμένα, το ανοσοποιητικό σύστημα του ασθενούς “επιτίθεται” και καταστρέφει τα κύτταρα του παγκρέατος που παράγουν την ινσουλίνη. Ο διαβήτης τύπου I θεραπεύεται αποτελεσματικά με εξωγενή χορήγηση ινσουλίνης σε καθημερινή βάση στον ασθενή. Μια άλλη μορφή διαβήτη, ο διαβήτης τύπου II οφείλεται στην απώλεια των υποδοχέων της ινσουλίνης από την επιφάνεια των κυττάρων-στόχων της ινσουλίνης. Αυτός ο τύπος διαβήτη εμφανίζεται σε ενήλικους ανθρώπους και δεν είναι δυνατό να θεραπευτεί με τη χορήγηση ινσουλίνης.

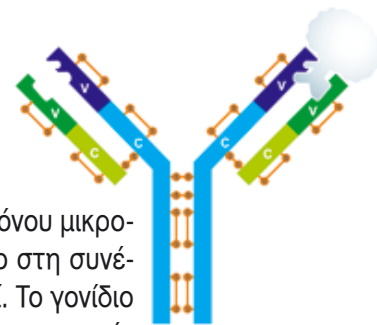


Εικ. 8.7: Διαμεμβρανικές πρωτεΐνες, υποδοχείς της ινσουλίνης.

ΔΙΣΟΥΛΦΙΔΙΚΟΙ ΔΕΣΜΟΙ: Πρόκειται για ισχυρούς ομοιοπολικούς δεσμούς που αναπτύσσονται μεταξύ πλευρικών αλυσίδων των αμινοξέων που διαθέτουν ομάδες θειόλης, όπως για παράδειγμα το αμινοξύ κυστεΐνη. Οι δισουλφιδικοί δεσμοί συμβάλλουν στη διαμόρφωση της τριτοταγούς δομής ορισμένων πρωτεϊνών όπως για παράδειγμα των αντισωμάτων (βλέπε εικ. 8.5) και της ινσουλίνης (βλέπε εικ. 8.10).

ΕΚΧΥΛΙΣΗ: Διαδικασία ήπιας λύσης της κυτταροπλασματικής μεμβράνης των κυττάρων για την απελευθέρωση του περιεχομένου τους ώστε να γίνει δυνατή η απομόνωση κάποιας επιθυμητής ουσίας από αυτά.

ΕΜΒΟΛΙΟ: Οποιοδήποτε παρασκεύασμα περιέχει αντιγόνα και χορηγείται (συνήθως με ένεση) σε μικρή ποσότητα στον οργανισμό με σκοπό να επάγει την ενεργητική ανοσία για την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος (παραγωγή αντισωμάτων από τον οργανισμό εναντίον των αντιγόνων) σε ένα ή περισσότερα διαφορετικά παθογόνα και/ή τοξίνες. Ένα εμβόλιο για να είναι αποτελεσματικό θα πρέπει να προκαλεί την παραγωγή των αντισωμάτων από τον οργανισμό χωρίς όμως να προκαλεί ασθένεια. Υπάρχουν διάφοροι τύποι εμβολίων. Σύμφωνα με τον παραδοσιακό τρόπο παραγωγής τους συνίστανται από εξασθενημένες ή νεκρές μορφές των παθογόνων μικροοργανισμών ή τμημάτων τους. Σήμερα όμως παράγονται και άλλοι τύποι εμβολίων με τη βοήθεια της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA (εδώ αναφέρεται ο όρος Εμβόλιο με την έννοιά του στην Ιατρική, βλέπε και αντίστοιχο όρο κεφ. 7).



Εμβόλια γυμνού DNA: Απομόνωση και κλωνοποίηση του γονιδίου του παθογόνου μικροοργανισμού που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη με αντιγονική δράση. Το γονίδιο στη συνέχεια εισάγεται κατ' ευθείαν στον οργανισμό που πρόκειται να ανοσοποιηθεί. Το γονίδιο ενθέτεται στο γονιδίωμα του οργανισμού, εκφράζεται και παράγει το αντιγόνο, το οποίο επάγει την πρόκληση ενεργητικής ανοσίας στον οργανισμό.

Εμβόλια από ζωντανούς γενετικά τροποποιημένους ιούς: Γονίδια από επικίνδυνο ιό ή άλλο μικροοργανισμό ενσωματώνονται σε άλλο ιό, που είναι αβλαβές 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 ιού ή του μικροοργανισμού, προκαλεί έντονη ανοσολογική αντίδραση.

Εμβόλια υπομονάδες: Η παραγωγή των εμβολίων-υπομονάδων στηρίχθηκε στο γεγονός ότι όλα τα συστατικά ενός παθογόνου μικροοργανισμού δεν είναι απαραίτητα για την πρόκληση της ανοσολογικής αντίδρασης στον οργανισμό που θα προσβάλλει. Συνήθως, μόνο ορισμένες πρωτεΐνες επιφανείας έχουν αντιγονική ιδιότητα. Τα εμβόλια-υπομονάδες στηρίζονται στην παραγωγή μόνο αυτών των συστατικών. Έτσι, γονίδια του παθογόνου μικροοργανισμού που κωδικοποιούν την πρωτεΐνη με την αντιγονική δράση εισάγονται σε κύτταρα που αναπτύσσονται σε κυτταροκαλλιέργειες και παράγουν την πρωτεΐνη αυτή σε μεγάλες ποσότητες. Στη συνέχεια, η πρωτεΐνη καθαρίζεται και χρησιμοποιείται ως εμβόλιο.

ΙΝΤΕΡΦΕΡΟΝΕΣ: Αντιϊκές πρωτεΐνες (συνίστανται περίπου από 160 αμινοξέα) που παράγονται, σε μικρές ποσότητες, από κύτταρα μολυσμένα από ιούς. Οι ιντερφερόνες αρχικά ανιχνεύονται στο μεσοκυττάριο υγρό και στη συνέχεια συνδέονται με τους κατάλληλους υποδοχείς των γειτονικών υγιών κυττάρων επάγοντας την αντίστασή τους στην ενδεχόμενη μόλυνση από τον ίδιο ή διαφορετικούς ιούς. Συγκεκριμένα οι ιντερφερόνες προκαλούν παρεμπόδιση της αναπαραγωγής των ιών στα υγιή κύτταρα, αν αυτά μολυνθούν και ακόμη επάγουν τη διάσπαση των ιϊκών πρωτεϊνών σε πεπτίδια και τέλος προκαλούν την ειδική άμυνα -ανοσοβιολογική αντίδραση- του οργανισμού (δράση T και B-λεμφοκυττάρων).

Οι ιντερφερόνες ανήκουν στην πρώτη γραμμή μη ειδικής άμυνας του οργανισμού και διαφέρουν από είδος σε είδος οργανισμού, ενώ σε κάθε είδος παράγονται τουλάχιστον τρία διαφορετικά είδη ιντερφερονών. Οι ιντερφερόνες εμφανίζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον ως αντιϊκοί και πιθανόν ως αντικαρκινικοί παράγοντες. Σήμερα παράγονται με τη βοήθεια της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA από γενετικώς τροποποιημένα βακτήρια.

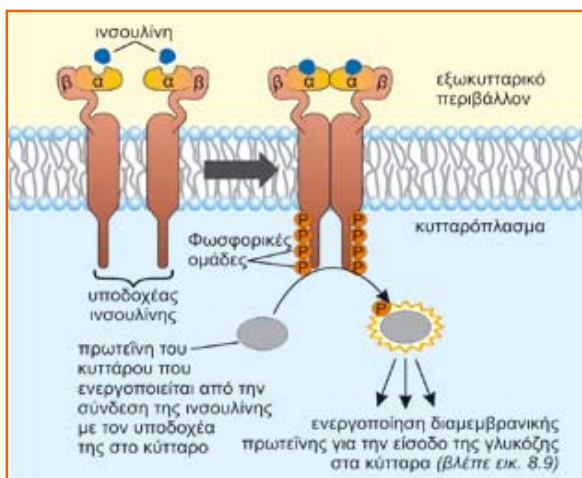
ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ: Ορμόνη πρωτεϊνικής φύσεως που παράγεται από ειδικά κύτταρα του παγκρέατος (νησίδες του Langerhans-β-κύτταρα). Ρόλος της είναι η ρύθμιση του μεταβολισμού των υδατανθράκων και πιο συγκεκριμένα, η συγκέντρωση της γλυκόζης στο αίμα.

Μετά την κατανάλωση ενός γεύματος η συγκέντρωση της γλυκόζης στο αίμα έχει αυξηθεί ως αποτέλεσμα της απορρόφησης της τροφής από το λεπτό έντερο. Η αύξηση αυτή της γλυκόζης προκαλεί την έκκριση ινσουλίνης από το πάγκρεας. Η ινσουλίνη συνδέεται σε έναν κατάλληλο υποδοχέα που βρίσκεται στην κυτταροπλασματική μεμ-

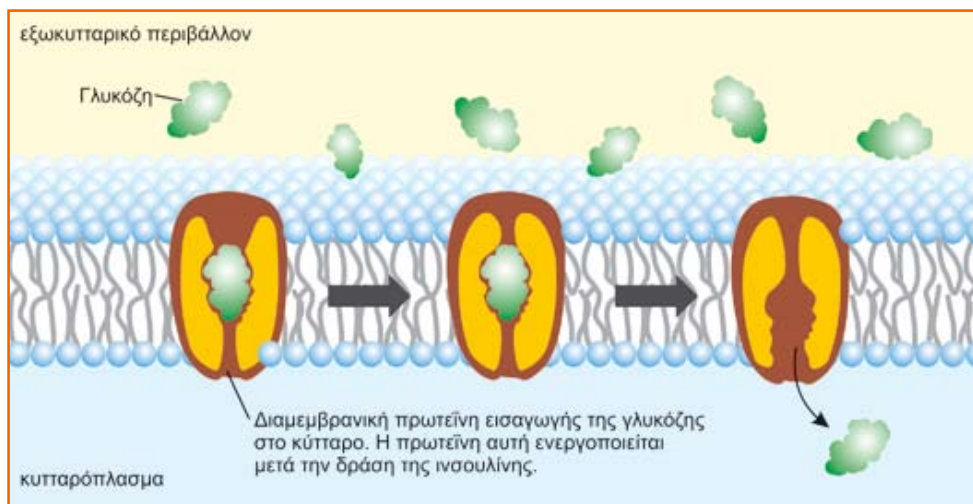


βράνη των κυττάρων (η ινσουλίνη δεν εισέρχεται στα κύτταρα) και αυτή η σύνδεση οδηγεί στην είσοδο της γλυκόζης στα κύτταρα μέσω κατάλληλων διαμεμβρανικών πρωτεϊνών. Η γλυκόζη που εισέρχεται στα κύτταρα χρησιμοποιείται για την παραγωγή ενέργειας και για τη μετατροπή της σε αποθηκευμένες μορφές ενέργειας, όπως είναι το λίπος.

Όταν η ινσουλίνη συνδεθεί με τον υποδοχέα, προκαλεί αλλαγή στη διαμόρφωσή του στο χώρο, που έχει ως συνέπεια την ενεργοποίηση μιας πρωτεΐνης στο εσωτερικό του κυττάρου. Αποτέλεσμα αυτής της ενεργοποίησης είναι η επακόλουθη ενεργοποίηση μιας διαμεμβρανικής πρωτεΐνης του κυττάρου που επιτρέπει την είσοδο της γλυκόζης στο κύτταρο. Το γονίδιο της ινσουλίνης κωδικοποιεί για μια πρόδρομη - μη λειτουργική μορφή της, η οποία με κατάλληλες μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις από το κύτταρο καθίσταται λειτουργική. Το λειτουργικό μόριο της ινσουλίνης αποτελείται από 51 αμινοξέα, κατανεμημένα σε δύο πεπτίδια που συγκρατούνται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς. Η έλλειψη της ινσουλίνης ή του υποδοχέα της από τα κύτταρα, οδηγεί στην ασθένεια του σακχαρώδη διαβήτη (βλέπε αντίστοιχο όρο). Η ινσουλίνη είναι μία από τις πρώτες φαρμακευτικές πρωτεΐνες που παρήχθησαν σε μεγάλες ποσότητες από γενετικώς τροποποιημένα βακτήρια με το γονίδιο της ανθρώπινης ινσουλίνης.

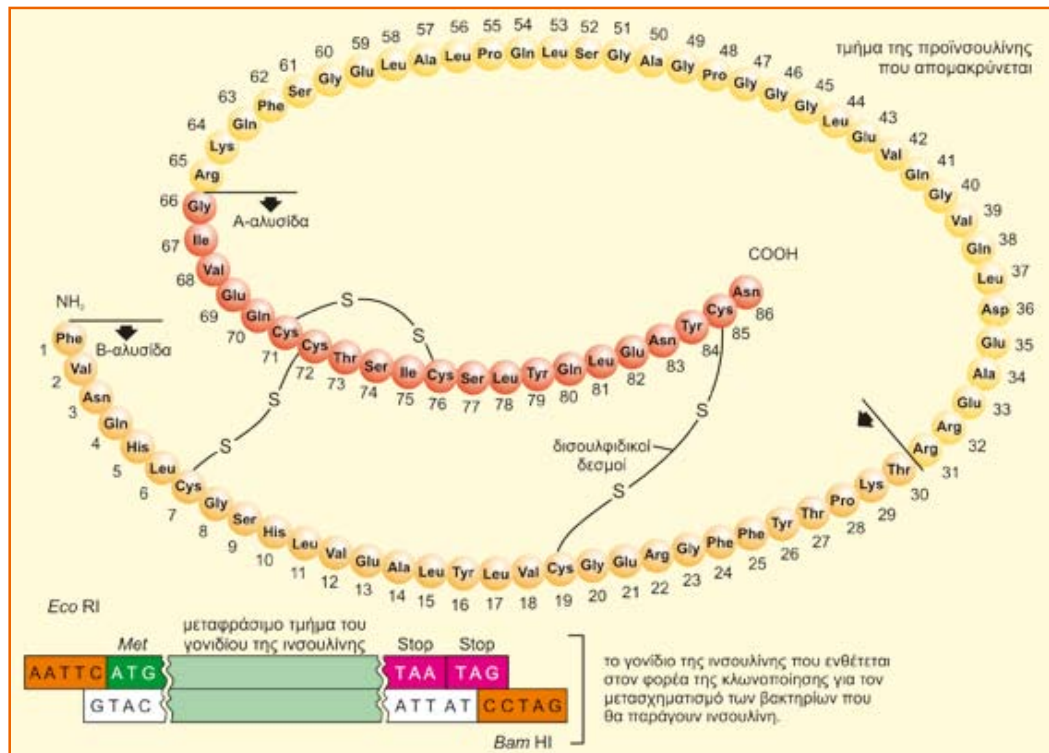


Εικ. 8.8: Δράση της ινσουλίνης.



Εικ. 8.9: Είσοδος της γλυκόζης στο κύτταρο, αποτέλεσμα δράσης της ινσουλίνης.

ΚΑΡΚΙΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ: Βλέπε Κεφ. 6, όρος Καρκίνος.



Εικ. 8.10: Χημική δομή της ινσουλίνης.

ΚΥΣΤΙΚΗ ΙΝΩΣΗ: Γενετική νόσος που οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου CFTR, που κωδικοποιεί για μια πρωτεΐνη που ονομάζεται ρυθμιστής διαμεμβρανικής μεταφοράς και σχετίζεται με τη μεταφορά ιόντων χλωρίου διαμέσου της κυτταροπλασματικής μεμβράνης των κυττάρων του ενδοθηλίου των πνευμόνων και του πεπτικού σωλήνα. Η μη-λειτουργική πρωτεΐνη δεν επιτελεί πλήρως αυτή τη λειτουργία με αποτέλεσμα να εκκρίνεται μεγάλη ποσότητα χλωρίου. Το γονίδιο CFTR εδράζεται στο 7^ο χρωμόσωμα και μέχρι τώρα έχουν βρεθεί πάνω από 450 μεταλλάξεις του, γι' αυτό η κυστική ίνωση εμφανίζει ετερογένεια. Η κυστική ίνωση εμφανίζεται με συχνότητα 1 : 2.000 γεννήσεις περίπου. Το βασικό της σύμπτωμα είναι η πνευμονική δυσλειτουργία λόγω της παχύρρευστης κολλώδους βλέννας που παράγεται στους βρόγχους των πνευμόνων, με αποτέλεσμα συχνές λοιμώξεις του αναπνευστικού. Παράλληλα οι ασθενείς εμφανίζουν ανεπάρκεια του παγκρέατος καθώς οι βλέννες παρεμποδίζουν τη λειτουργία του, με αποτέλεσμα να μη γίνεται σωστά η πέψη των τροφών. Οι άνδρες είναι στείροι λόγω των βλεννοδών εκκρίσεων στον σπερματικό πόρο.

Σήμερα είναι δυνατός ο προγεννητικός έλεγχος της κυστικής ίνωσης καθώς και η αντιμετώπιση της με προγράμματα φυσιοθεραπείας των πνευμόνων και μεταμόσχευσης καρδιάς-πνευμόνων ενώ τέλος έχει δοκιμαστεί και η *in vivo* γονιδιακή θεραπεία της ασθένειας.

ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ: Μία κύρια κατηγορία λευκών αιμοσφαιρίων του αίματος. Σε αυτή ανήκουν τα Τ και Β κύτταρα καθώς και άλλοι τύποι σημαντικών κυττάρων της ανοσοβιολογικής απόκρισης του οργανισμού.



ΛΙΠΟΣΩΜΑ: Πρόκειται για κυστίδιο, το οποίο αποτελείται από λιπιδικής σύσταση μεμβράνη, η οποία λόγω της παρόμοιας χημικής σύστασής της με την κυτταροπλασματική μεμβράνη, επιτρέπει στο λιπόσωμα να εισέλθει εντός του κυτταροπλάσματος. Τα λιποσώματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μεταφορείς του επιθυμητού φυσιολογικού γονιδίου για την εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας.

ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ: Η αντικατάσταση ενός ιστού ή ενός οργάνου του σώματός μας, το οποίο έχει υποστεί σοβαρή βλάβη ή δε λειτουργεί σωστά από ένα (ίδιο υγιές ιστό ή όργανο το οποίο προέρχεται από άλλο άνθρωπο (δωρητή σώματος) ή ζώο.

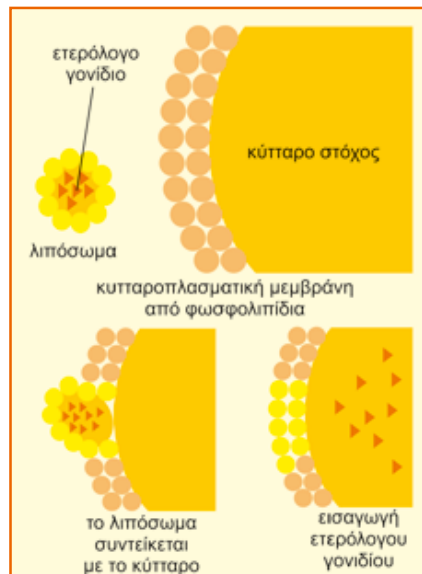
Σήμερα είναι δυνατή η ανάπτυξη κυτταροκαλλιέργειών στο εργαστήριο από πρόδρομα εμβρυακά κύτταρα. Με κατάλληλες τεχνικές είναι δυνατή η επιλεκτική διαφοροποίηση των κυττάρων αυτών ώστε να δημιουργηθούν κυτταροκαλλιέργειες επιθυμητών κυττάρων οργάνων και ιστών του σώματος. Έτσι δημιουργούνται αποικίες, για παράδειγμα καρδιακών κυττάρων ή κυττάρων του παγκρέατος. Τα κύτταρα αυτά χρησιμοποιούνται στη συνέχεια για να αποκαταστήσουν κατεστραμμένους ιστούς από ατυχήματα ή ασθένειες.

Απαραίτητη προϋπόθεση για την αποδοχή του υγιούς οργάνου από το δέκτη (ασθενή) είναι να υπάρχει ομοιότητα μεταξύ των αντιγόνων ιστοσυμβατότητας (ορισμένες πρωτεΐνες επιφανείας που βρίσκονται σε όλα τα εμπύρνηνα κύτταρα ενός ζωικού οργανισμού) του δότη και του δέκτη. Η συμβατότητα των οργάνων ελέγχεται σήμερα με μονοκλωνικά αντισώματα. Η μεταμόσχευση επιτυγχάνεται με χειρουργική επέμβαση.

ΜΥΕΛΟΣ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ: Ο μυελός των οστών βρίσκεται στο εσωτερικό των μακρών οστών και είναι ειδικός τύπος μαλακού συνδετικού ιστού. Διακρίνεται σε ερυθρό μυελό και λευκό μυελό.

Ο μυελός των οστών είναι αιμοποιητικό όργανο. Αρχίζει να παράγει ερυθροκύτταρα προς το τέλος της εμβρυϊκής ζωής. Μετά τη γέννηση, εκτός από ερυθρά αιμοσφαίρια παράγει αιμοπετάλια και λευκά αιμοσφαίρια. Ο ερυθρός μυελός βρίσκεται σε όλα τα οστά του νεογνού, αλλά από την παιδική ηλικία και μετά αρχίζει να συγκεντρώνει λίπος, γίνεται κίτρινος και χαρακτηρίζεται ως λευκός μυελός. Ο ερυθρός μυελός συνεχίζει την αιμοποίηση καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής.

ΜΥΕΛΩΜΑ: Καλλιέργεια κακοήγη καρκινικών κυττάρων που προέρχονται από διαφοροποιημένα Β-λεμφοκύτταρα (πλασματοκύτταρα). Τα κύτταρα του μυελώματος συντηγόνται με Β-λεμφοκύτταρα που έχουν απομονωθεί από τον σπλήνα ποντικού, μετά τον εμβολιασμό του με το κατάλληλο αντιγόνο. Το προϊόν της σύντηξης αποτελεί ένα υβρίδωμα (βλέπε αντίστοιχο όρο).



Εικ. 8.11: Εισαγωγή λιποσώματος σε κύτταρο.



ΜΥΪΚΗ ΔΥΣΤΡΟΦΙΑ Duchenne: Γενετική μονογονιδιακή νόσος που οφείλεται σε έλλειψη τμήματος (>60% των περιπτώσεων) του φυλοσύνδετου γονιδίου που κωδικοποιεί για την πρωτεΐνη δυστροφίνη. Η δυστροφίνη ευθύνεται για τη δομή του ιστού που περιβάλλει τις μυϊκές ίνες. Το γονίδιο της δυστροφίνης είναι το μεγαλύτερο γονίδιο του ανθρώπου που γνωρίζουμε μέχρι τώρα. Η μυϊκή δυστροφία Duchenne έχει συχνότητα εμφάνισης 1 : 3.000 νεογέννητα αγόρια. Επειδή η ασθένεια είναι φυλοσύνδετη και τα αγόρια που νοσούν και φτάνουν μέχρι την αναπαραγωγική ηλικία, πολύ δύσκολα επιλέγονται για να αφήσουν απογόνους, η νόσος δεν εμφανίζεται σε κορίτσια.

Τα αγόρια που νοσούν, φαίνονται φυσιολογικά τα πρώτα χρόνια της ζωής τους, αλλά προοδευτικά εμφανίζουν μυϊκή αδυναμία που εκδηλώνεται κατά την παιδική ηλικία. Μεταξύ της ηλικίας 3 και 7 ετών, καθώς εξελίσσεται η ασθένεια, τα παιδιά γίνονται όλο και πιο αδύναμα και με δυσκολία βαδίζουν, τρέχουν ή ανεβαίνουν σκαλιά. Σε αυτή τη φάση μπορεί να γίνει διάγνωση της ασθένειας. Στο αίμα των ασθενών ανιχνεύεται σε μεγάλες ποσότητες το ένζυμο κινάση της κρεατίνης.

Από την ηλικία των 12 ετών οι περισσότεροι ασθενείς αδυνατούν να περπατήσουν και καθιλώνονται σε αναπηρική καρέκλα. Σε λίγα χρόνια οι ασθενείς είναι ανίκανοι να αυτοεξυπηρετηθούν καθώς και τα άνω άκρα τους έχουν ατονήσει, όπως και οι αναπνευστικοί μύες.

Με τη βοήθεια των γενεαλογικών δένδρων και τον προγεννητικό έλεγχο σήμερα είναι δυνατή η διάγνωση της ασθένειας στο έμβρυο. Για την ίαση της ασθένειας έχουν γίνει προσπάθειες μέσω γονιδιακής θεραπείας.

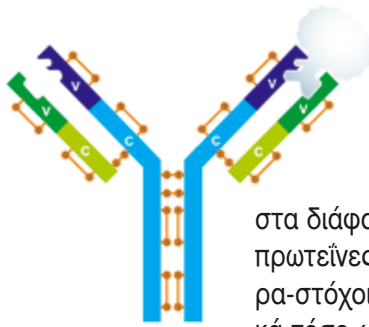
ΝΟΣΟΣ Huntington: Πρόκειται για γενετική μονογονιδιακή ασθένεια που κληρονομείται με αυτοσωμικό επικρατή τύπο κληρονομικότητας. Εμφανίζεται με συχνότητα 1 : 2.700 γεννήσεις αλλά επειδή η εκδήλωση της ασθένειας αρχίζει στην ηλικία μεταξύ 35-45 ετών, μόνο το 1 : 10.000 άτομα νοσεί, καθώς πολλά άτομα πεθαίνουν από άλλες αιτίες, πριν την εκδήλωση της νόσου. Το 1993 προσδιορίστηκε επακριβώς η θέση του γονιδίου που ευθύνεται για τη νόσο. Όμως δε γνωρίζουμε ακόμη ποια πρωτεΐνη ευθύνεται για την ασθένεια αυτή, καθώς δεν έχει ολοκληρωθεί η αποκρυπτογράφηση του ανθρώπινου γονιδιώματος.

Η νόσος του Huntington προκαλείται από σταδιακό εκφυλισμό των εγκεφαλικών κυττάρων. Ο βαθμιαίος εκφυλισμός των εγκεφαλικών κυττάρων που δεν αντικαθίστανται, προκαλεί συμπτώματα παρόμοια με αυτά της φυσικής γήρανσης. Το άτομο που νοσεί είναι μελαγχολικό, εμφανίζει αναίτια ξεσπάσματα θυμού και οι κινήσεις του είναι νευρικές και απότομες. Τα συμπτώματα επιδεινώνονται όσο περνούν τα χρόνια. Η ασθένεια διαρκεί 10-20 χρόνια ως το θάνατο.

Ως μοναδική ελπίδα ίασης αποτελεί η γονιδιακή θεραπεία της νόσου μετά την κατανόηση του μοριακού μηχανισμού της.

ΟΡΜΟΝΕΣ: Όλοι οι ανώτεροι πολυκύτταροι ευκαρυωτικοί οργανισμοί όπως είναι τα φυτά και τα ζώα, χρησιμοποιούν διάφορες χημικές ουσίες, που ονομάζονται ορμόνες, ώστε να επιτύχουν τη μετάδοση εξειδικευμένων σημάτων από ένα κύτταρο σε ένα άλλο (στο ίδιο ή σε διαφορετικό σημείο του οργανισμού) με τελικό αποτέλεσμα την πρόκληση μίας εξειδικευμένης κυτταρικής αντίδρασης.

Οι ορμόνες παράγονται και εκκρίνονται από ειδικά κύτταρα, μπαίνουν στην κυκλοφορία του αίματος (στην περίπτωση των ζωικών οργανισμών) μέσω της οποίας μεταφέρονται



στα διάφορα σημεία του σώματος, και συνδέονται με πρωτεΐνες-ειδικούς υποδοχείς που φέρουν τα κύτταρα-στόχοι. Οι διάφορες ορμόνες διαφέρουν σημαντικά τόσο ως προς την χημική τους σύσταση, όσο και ως προς το μοριακό τους βάρος. Για παράδειγμα, στα φυτά το αέριο αιθυλένιο έχει ορμονική δράση, επιταχύνοντας την ωρίμανση των καρπών. Από την άλλη πλευρά στα ζώα, η ινσουλίνη είναι μία ορμόνη πρωτεϊνικής σύστασης.

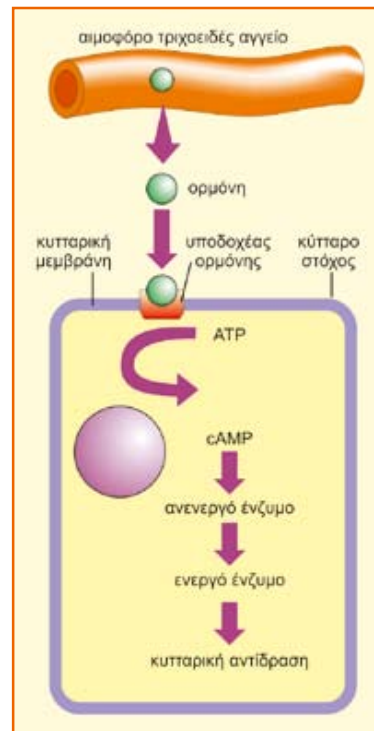
Οι ορμόνες μαζί με το νευρικό σύστημα ρυθμίζουν τη λειτουργία του οργανισμού. Η παρουσία ή η απουσία τους επηρεάζει το μεταβολισμό (π.χ. ινσουλίνη), την εμφάνιση του ατόμου και τη συμπεριφορά. Το νευρικό σύστημα είναι υπεύθυνο για τη γρήγορη ρύθμιση ενώ οι ενδοκρινείς αδένες που εκκρίνουν τις ορμόνες για τη ρύθμιση των αλλαγών, που απαιτούν περισσότερο χρόνο.

Οι ορμόνες φτάνουν σε όλα τα κύτταρα του οργανισμού, όμως δρουν μόνο σε ορισμένα, τα κύτταρα-στόχους. Τα κύτταρα στόχοι μίας ορμόνης είναι αυτά που διαθέτουν τον κατάλληλο υποδοχέα για αυτή την ορμόνη. Για παράδειγμα η ινσουλίνη δρα μόνο στα κύτταρα στόχους που είναι τα κύτταρα του ήπατος, τα λιπώδη κύτταρα και τα μυϊκά κύτταρα.

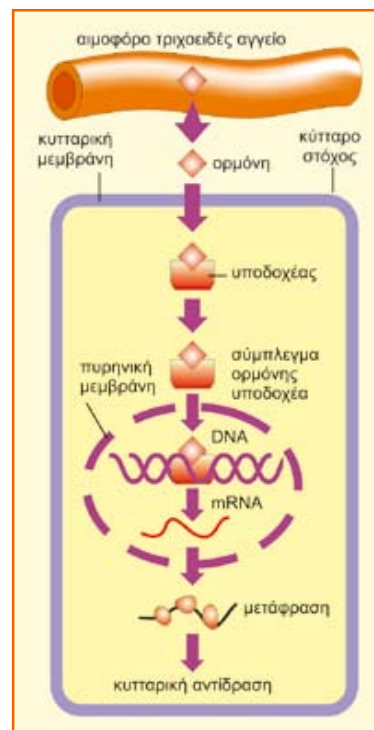
Οι ορμόνες ανάλογα με τον τρόπο δράσης τους διακρίνονται σε δύο κατηγορίες, τις πεπτιδικές και τις στεροειδείς.

Πεπτιδικές: Δεν εισέρχονται στο κύτταρο-στόχο, αλλά προσδένονται σε υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης. Στη συνέχεια, το σύμπλεγμα ορμόνη-υποδοχέας ενεργοποιεί κατάλληλα ένζυμα του κυττάρου, με συνέπεια την κατάλληλη κυτταρική απάντηση. Με τον τρόπο αυτό δρα η ινσουλίνη (βλέπε εικ. 8.8).

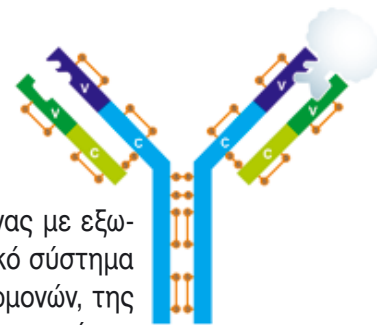
Στεροειδείς: Οι στεροειδείς ορμόνες εισέρχονται ελεύθερα εντός του κυττάρου, λόγω της άπολης φύσης του μορίου τους. Στο κυτταρόπλασμα προσδένονται σε ειδικούς υποδοχείς και το σύμπλεγμα ορμόνη-υποδοχέας εισέρχεται στον πυρήνα. Εκεί ενεργοποιεί την έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων. Οι ορμόνες αυτές δρουν πιο αργά από τις πεπτιδικές, διότι απαιτείται περισσότερος χρόνος για την έκφραση των γονιδίων απ' ότι για την ενεργοποίηση υπάρχοντων ενζύμων στο κύτταρο.



Εικ. 8.12: Πεπτιδικές ορμόνες.



Εικ. 8.13: Στεροειδείς ορμόνες.



ΠΑΓΚΡΕΑΣ: Το πάγκρεας είναι ένα όργανο που λειτουργεί ως μεικτός αδένας με εξωκρινή και ενδοκρινή δράση. Η εξωκρινή δράση του, σχετίζεται με το πεπτικό σύστημα ενώ η ενδοκρινή δράση του αφορά την έκκριση δύο πολύ σημαντικών ορμονών, της ινσουλίνης και της γλυκαγόνης. Η γλυκαγόνη είναι ορμόνη με αντίθετη δράση από την ινσουλίνη.

Η ενδοκρινής μοίρα του παγκρέατος αποτελείται από κύτταρα που σχηματίζουν ομάδες, γνωστές ως νησίδες του Langerhans, με τρία είδη κυττάρων: τα α, β και δ. Τα α εκκρίνουν τη γλυκαγόνη, τα β την ινσουλίνη και τα δ εκκρίνουν μία ορμόνη που αναστέλει την έκκριση των δύο προηγούμενων.

ΠΝΕΥΜΟΝΕΣ: Είναι το κύριο όργανο του αναπνευστικού συστήματος. Στα κύτταρα του οργανισμού γίνεται συνεχώς παραγωγή ενέργειας μέσω της κυτταρικής αναπνοής, η οποία για να πραγματοποιηθεί χρειάζεται οξυγόνο. Η τροφοδοσία του οργανισμού με οξυγόνο επιτυγχάνεται με την αναπνοή.

Στους πνεύμονες υπάρχουν μικρές αεροφόρες κοιλότητες, οι κυψελίδες, τα τοιχώματα των οποίων περιβάλλονται από τριχοειδή αγγεία. Οι κυψελίδες και τα τριχοειδή αγγεία έχουν πολύ λεπτό τοίχωμα διά μέσου του οποίου γίνεται η ανταλλαγή των αερίων της αναπνοής, δηλαδή του οξυγόνου και του διοξειδίου του άνθρακα. Το αίμα δηλαδή αποβάλλει το CO₂, και παραλαμβάνει το O₂, το οποίο και μεταφέρει στα κύτταρα του οργανισμού.

ΠΟΥΡΙΝΕΣ: Βλέπε Α' τόμος, σελ. 23, αντίστοιχος όρος.

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ: Ένα παγκόσμιο ερευνητικό πρόγραμμα με στόχο τον προσδιορισμό της αλληλουχίας (3 x 10⁹ ζεύγη βάσεων) του ανθρώπινου γονιδιώματος και τον προσδιορισμό του αριθμού και της θέσης των γονιδίων μας.

Το πρόγραμμα του ανθρώπινου γονιδιώματος είναι ένα πρόγραμμα προϋπολογισμού 3 δισεκατομμυρίων δολλαρίων που ξεκίνησε το 1990 στις Η.Π.Α. και ολοκληρώθηκε (μόνο το τμήμα που αφορά τον προσδιορισμό της αλληλουχίας και του αριθμού των γονιδίων) χάρη στην ταχύτατη ανάπτυξη των ηλεκτρονικών υπολογιστών, το 2003 οπότε και είχε προσδιοριστεί η αλληλουχία του 90% του γονιδιώματος, με 99,99% ακρίβεια.

Αξίζει να σημειωθεί ότι έτρεξαν σχεδόν παράλληλα δύο προγράμματα του ανθρώπινου γονιδιώματος, ένα υπό την αιγίδα της κυβέρνησης των Η.Π.Α. και ένα από την ιδιωτική εταιρία Celera Genomics.

Σήμερα έχει δημιουργηθεί μία παγκόσμια βάση δεδομένων, στην οποία έχει καταχωρηθεί η αλληλουχία του γονιδιώματός μας και η θέση όσων γονιδίων μας έχουν χαρτογραφηθεί και είναι διαθέσιμα σε όλους τους επιστήμονες.

Χάρη στο πρόγραμμα του ανθρώπινου γονιδιώματος προσδιορίστηκε ο αριθμός των γονιδίων μας, ο οποίος αν και αρχικά υπολογιζόταν στις 100.000, σήμερα γνωρίζουμε ότι είναι περίπου 20.000 με 25.000.

Με την ολοκλήρωση του προγράμματος του ανθρώπινου γονιδιώματος, **πλέον γνωρίζουμε την πλήρη αλληλουχία των νουκλεοτιδίων του συνόλου του γονιδιώματος** (μεγέθους 3x10⁹ ζευγών βάσεων)! Επίσης έχουν προσδιοριστεί οι γενετικοί τόποι πολλών γονιδίων μας και πολλές ρυθμιστικές περιοχές τους (υποκινητές, ενισχυτές κ.ά). Το μεγάλο στοίχημα που απομένει να κερδηθεί, είναι η αποκρυπτογράφηση του γονιδιώματος, δηλαδή, **ποιο πολυπεπτίδιο κωδικοποιείται από ποιο γονίδιο!** Έως σήμερα έχουν

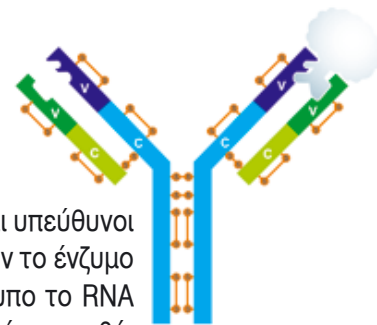


ταυτοποιηθεί περίπου 500 γονίδια, που σχετίζονται με γενετικές ασθένειες. Ωστόσο πολλά από αυτά είχαν χαρτογραφηθεί και παλαιότερα με μεθόδους κλασικής γενετικής. Η πρώτη χαρτογράφηση γονιδίου έγινε από τον T.H. Morgan, με μεθόδους κλασικής γενετικής, για το φυλοσύνδετο γονίδιο της δροσόφιλας που ελέγχει το χρώμα των οφθαλμών (βλέπε ερώτ. κατανόησης 36, κεφ. 5).

Σήμερα βρίσκεται σε εξέλιξη και ένα άλλο μεγαλεπίβολο ερευνητικό πρόγραμμα κατά πολύ δυσκολότερο από αυτό του ανθρώπινου γονιδιώματος. Το πρόγραμμα που βρίσκεται σε εξέλιξη είναι αυτό του ανθρώπινου πρωτεϊνώματος, που στόχος του είναι ο προσδιορισμός του συνόλου των ανθρώπινων πρωτεϊνών, η κατανόηση της λειτουργίας της κάθε μίας καθώς και η κατανόηση της στερεοχημικής δομής της.

Χρωμόσωμα	Γονίδια	Ζεύγη Βάσεων
1	2.968	245.203.898
2	2.288	243.315.028
3	2.032	199.411.731
4	1.297	191.610.523
5	1.643	180.967.295
6	1.963	170.740.541
7	1.443	158.431.299
8	1.127	145.908.738
9	1.299	134.505.819
10	1.440	135.480.874
11	2.093	134.978.784
12	1.652	133.464.434
13	748	114.151.656
14	1.098	105.311.216
15	1.122	100.114.055
16	1.098	89.995.999
17	1.576	81.691.216
18	766	77.753.510
19	1.454	63.790.860
20	927	63.644.868
21	303	46.976.537
22	288	49.476.972
X	1.184	152.634.166
Y	231	50.961.097

Πίνακας 8.1: Πρόγραμμα Ανθρώπινου Γονιδιώματος.
Προσδιορισμός του πλήθους των γονιδίων και του αριθμού των ζευγών νουκλεοτιδίων ανά χρωμόσωμα.



ΡΕΤΡΟΪΟΙ: RNA ιοί με γενετικό υλικό μονόκλωνο RNA. Οι ρετροϊοί θεωρούνται υπεύθυνοι για την πρόκληση καρκίνου στα ζώα και τον άνθρωπο. Οι ιοί αυτοί διαθέτουν το ένζυμο αντίστροφη μεταγραφάση, που συνθέτει DNA χρησιμοποιώντας ως πρότυπο το RNA (βλέπε κεφ. 4). Στην κατηγορία των ρετροϊών ανήκει ο ιός HIV που προκαλεί την ασθένεια του AIDS (βλέπε εικ. 58, Α' τόμος).

ΥΒΡΙΔΩΜΑΤΑ: Τα υβριδώματα είναι υβριδικά κύτταρα που προκύπτουν μετά την σύντηξη Β-λεμφοκυττάρων με καρκινικά (β-λεμφο) κύτταρα (μυέλωμα). Τα υβριδώματα μπορούν να συνδυάζουν τις ιδιότητες των δύο κυττάρων που συντήχθηκαν. Έτσι, μπορούν να παράγουν αντισώματα όπως αυτά που παρήγαγε το Β-λεμφοκύτταρο και επίσης μπορούν να διαιρούνται σε κυτταροκαλλιέργειες *in vitro* συνεχώς, όπως τα καρκινικά κύτταρα του μυελώματος.

Τα υβριδώματα χρησιμοποιούνται για την παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων *in vitro* (βλέπε ένθετο, Διαδικασία παραγωγής μονοκλωνικών αντισωμάτων (*in vitro*)).

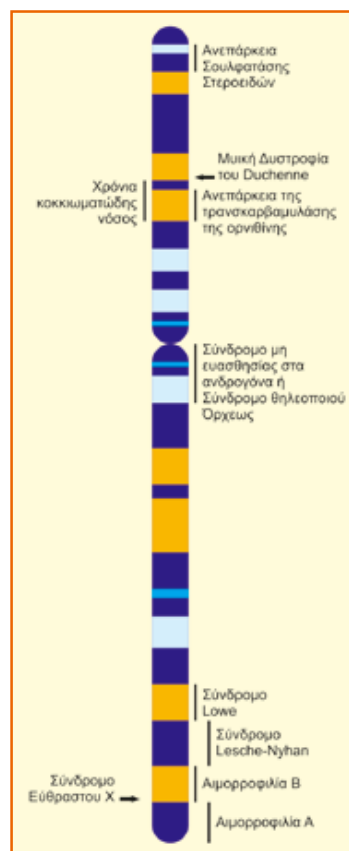


Η τεχνολογία του υβριδώματος επινοήθηκε το 1975 από τους G. Köhler και C. Milstein, στους οποίους απονεμήθηκε το βραβείο Νόμπελ Φυσιολογίας ή Ιατρικής το 1984 για αυτή την προσφορά τους στην επιστήμη.

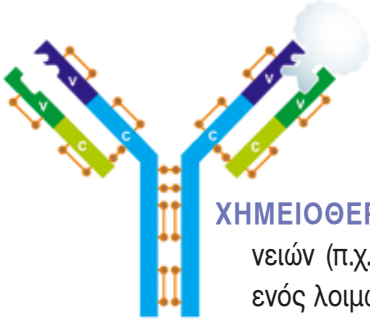
ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ: Είναι οι πρωτεΐνες που χρησιμοποιούνται ως φάρμακα για τη θεραπεία ασθενειών.

ΧΑΡΤΟΓΡΑΦΗΣΗ ΓΟΝΙΔΙΟΥ: Είναι ο προσδιορισμός της θέσης του γενετικού τόπου ενός ορισμένου γονιδίου πάνω σε ένα συγκεκριμένο χρωμόσωμα. Η χαρτογράφηση του γονιδίου που ελέγχει για μία νόσο είναι μία από τις προϋποθέσεις για την εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας αυτής της ασθένειας, ώστε να γίνει δυνατή η απομόνωση και η κλωνοποίηση του γονιδίου.

ΧΑΡΤΟΓΡΑΦΗΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ: Είναι ο προσδιορισμός της θέσης όλων των γενετικών τόπων του συνόλου των γονιδίων του οργανισμού στα διάφορα χρωμοσώματά του. Η χαρτογράφηση του συνόλου των γονιδίων μας, αποτελεί έναν από τους κύριους στόχους του προγράμματος του ανθρώπινου γονιδιώματος.

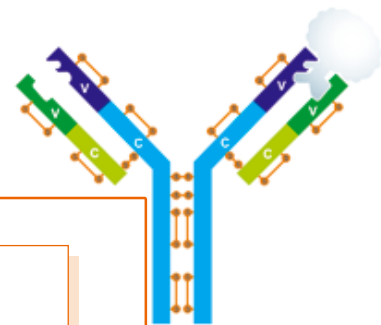


Εικ. 8.14: Χαρτογράφηση φυλοσύνδετων γονιδίων.



ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ: Η χρήση χημικών φαρμακευτικών προϊόντων για τη θεραπεία ασθενειών (π.χ. χημειοθεραπεία αποτελεί η χορήγηση αντιβιοτικού για την καταπολέμηση ενός λοιμώδους νοσήματος). Η χημειοθεραπεία χρησιμοποιείται, ανάλογα με το είδος του όγκου, και για την καταπολέμηση του καρκίνου. Οι ογκολόγοι ιατροί χρησιμοποιούν συνδυασμούς χημειοθεραπευτικών παραγόντων για να επιτύχουν μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα.

Η χημειοθεραπεία κατά του καρκίνου έχει συχνά δυσάρεστες επιπτώσεις στους ασθενείς. Είναι δυνατό να προκαλέσει ναυτία, απώλεια μαλλιών, ανοσοκαταστολή, στειρότητα, βλάβες στο ήπαρ ή την καρδιά, αναιμία κ.ά.

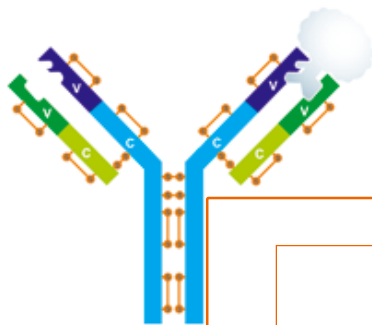


ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΟΥ DNA

Τα βήματα που πρέπει να ακολουθήσουμε είναι τα παρακάτω:

- Απομονώνουμε το ολικό ώριμο mRNA από τα κύτταρα του ανθρώπινου παγκρέατος στα οποία εκφράζεται το γονίδιο της ινσουλίνης.
- Προστίθεται αντίστροφη μεταγραφή και δημιουργείται υβριδικό δίκλωνο μόριο DNA - RNA. Το ένζυμο με μήτρα το RNA συνθέτει μονόκλωνο συμπληρωματικό DNA.
- Με προσθήκη NaOH (αλκαλικό περιβάλλον) ή αύξηση της θερμοκρασίας του διαλύματος, αποδιατάσσεται το υβριδικό μόριο DNA-RNA. Το μονόκλωνο DNA, στο οποίο έχει σχηματιστεί από την αντίστροφη μεταγραφή μία δίκλωνη φουρκέτα που τελειώνει σε 3' άκρο, είναι έτοιμο να γίνει δίκλωνο (βλέπε κεφ. 4, *Δημιουργία cDNA Βιβλιοθήκης*).
- Με προσθήκη DNA πολυμεράσης, το μονόκλωνο DNA μετατρέπεται σε δίκλωνο και με ένα άλλο ένζυμο (S_1 νουκλεάση) κόβεται η φουρκέτα, δίνοντας ένα απόλυτα δίκλωνο τμήμα.
- Στο δίκλωνο τμήμα DNA προστίθενται τεχνητά κολλώδη άκρα, συμπληρωματικά προς αυτά που θα έχει το πλασμίδιο όταν επωαστεί με μία περιοριστική ενδονουκλεάση. Στο διάλυμα αυτό προστίθενται πλασμίδια κομμένα με περιοριστική ενδονουκλεάση που αφήνει μονόκλωνα άκρα, ώστε να είναι συμπληρωματικά με τα μονόκλωνα άκρα του τμήματος DNA. Τέλος προστίθεται και DNA δεσμάση για τη δημιουργία 3' → 5' φωσφοδιεστερικού δεσμού μεταξύ του τμήματος DNA που ενθέτεται στο πλασμίδιο-φορέα κλωνοποίησης.
- Τα ανασυνδυασμένα μόρια DNA εισάγονται σε βακτήρια-ξενιστές με μετασχηματισμό.
- Τα βακτήρια που έχουν προσλάβει πλασμίδιο, ανασυνδυασμένο ή μη, επιλέγονται σε θρεπτικό υλικό που περιέχει αντιβιοτικό.
- Ανάλογα με το πλασμίδιο φορέα κλωνοποίησης, οι αποικίες με τα μετασχηματισμένα βακτήρια με ανασυνδυασμένο πλασμίδιο, επιλέγονται στο ίδιο ή σε διαφορετικό θρεπτικό υλικό (βλέπε κεφ. 4, *όρος Φορείς Κλωνοποίησης*).

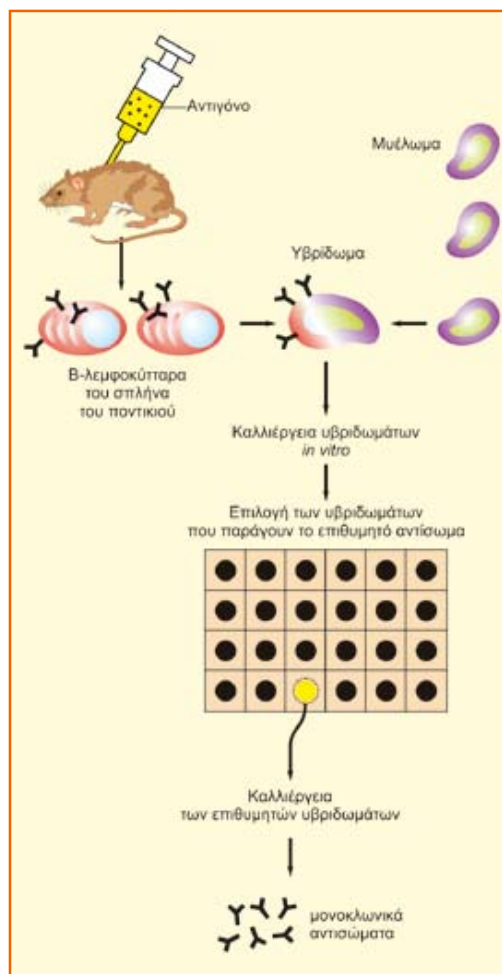
Στη συνέχεια, γίνεται επιλογή - με ειδικούς ανιχνευτές- της αποικίας που φέρει το γονίδιο το οποίο κωδικοποιεί το πρόδρομο μόριο της προϊνσουλίνης. Αναπτύσσουμε τον κλώνο σε υγρή εργαστηριακή καλλιέργεια μικρής κλίμακας. Από αυτήν εμβολιάζουμε μία μεγαλύτερης κλίμακας υγρή καλλιέργεια στο βιοαντιδραστήρα, με στόχο την παραγωγή μεγάλης ποσότητας προϊνσουλίνης. Η προϊνσουλίνη συλλέγεται και με κατάλληλο ένζυμο που αφαιρεί το ενδιάμεσο πεπτίδιο, μετατρέπεται σε ινσουλίνη. Στη συνέχεια, πραγματοποιείται καθαρισμός της ινσουλίνης και χορηγείται με ενδοφλέβια ένεση στον ασθενή.



ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΜΟΝΟΚΛΩΝΙΚΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ (*in vitro*)

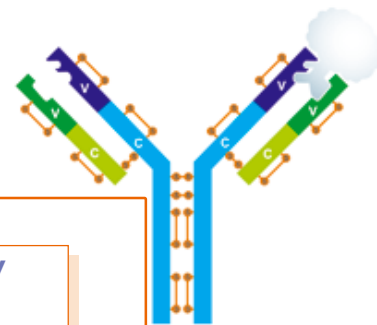
Ένα επιλεγμένο αντιγόνο χορηγείται με ένεση σε ποντίκι και προκαλεί ανοσολογική δράση με αποτέλεσμα την παραγωγή αντισωμάτων από εξειδικευμένα Β-λεμφοκύτταρα. Έγτερα από δύο εβδομάδες αφαιρείται ο σπλήνας από το ποντίκι και απομονώνονται τα Β-λεμφοκύτταρα. Παράλληλα, διατηρούμε και μία καλλιέργεια καρκινικών λεμφοκυττάρων (μυέλωμα). Το χαρακτηριστικό των κυττάρων αυτών είναι το ότι μπορούν να πολλαπλασιάζονται σε κυτταροκαλλιέργεια.

Τα Β-λεμφοκύτταρα παράγουν αντισώματα, αλλά δεν πολλαπλασιάζονται σε κυτταροκαλλιέργεια. Έτσι, πραγματοποιούμε σύντηξη καρκινικών κυττάρων με Β-λεμφοκύτταρα, με αποτέλεσμα να δημιουργούμε τα λεγόμενα **υβριδώματα**. Τα υβριδώματα αφού ελέγχονται για την παραγωγή αντισωμάτων, απομονώνονται και πολλαπλασιάζονται σε κυτταροκαλλιέργεια. Στη συνέχεια, αφού διαφοροποιηθούν σε Β-λεμφοκύτταρα, παράγουν αντισώματα*. Τα αντισώματα που παράγονται από έναν κλώνο Β-λεμφοκυττάρων ονομάζονται μονοκλωνικά. Έχουμε τη δυνατότητα να διατηρήσουμε τα υβριδώματα στην κατάψυξη (-80°C) για μελλοντική χρήση ή να τα αναπτύξουμε σε κυτταροκαλλιέργεια ώστε να παράγουμε μονοκλωνικά αντισώματα άμεσα.



**Εικ. 8.15: Διαδικασία παραγωγής
μονοκλωνικών αντισωμάτων.**

*Τα κύτταρα που παράγουν και εκκρίνουν σε μεγάλες ποσότητες τα αντισώματα είναι τα διαφοροποιημένα Β-λεμφοκύτταρα που ονομάζονται πλασματοκύτταρα. Τα πλασματοκύτταρα έχουν μικρή διάρκεια ζωής (μικρότερη από μία εβδομάδα), όμως στα κύτταρα αυτά υπερεκφράζονται τα γονίδια των αλυσίδων των αντισωμάτων ενώ διαθέτουν ένα πολύ μεγάλο αριθμό ριβοσωμάτων στο κυτταρόπλασμά τους. Κάθε πλασματοκύτταρο παράγει ένα συγκεκριμένο είδος μονοκλωνικού αντισώματος, όμοιο με αυτό που υπήρχε στην επιφάνεια της κυτταροπλασματικής μεμβράνης του Β-λεμφοκυττάρου από το οποίο προέκυψε.

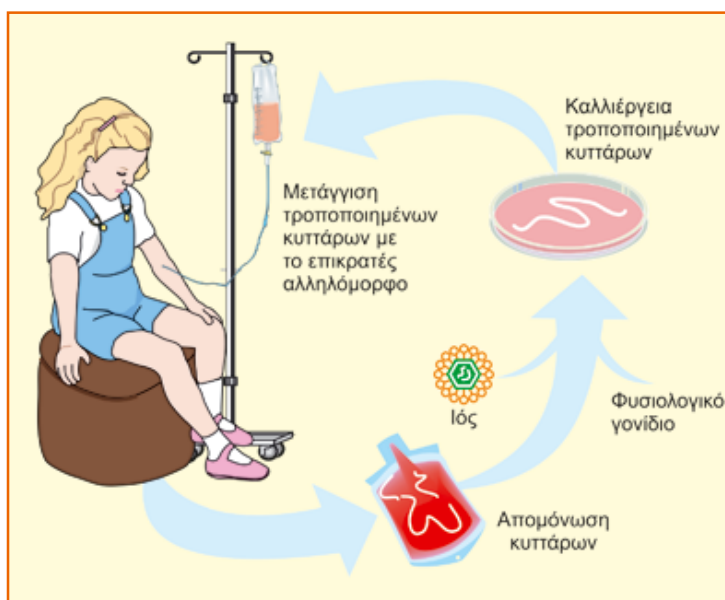


ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΣΘΕΝΕΙΑ ΠΟΥ ΠΡΟΚΑΛΕΙ Η ΕΛΛΕΙΨΗ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ ADA

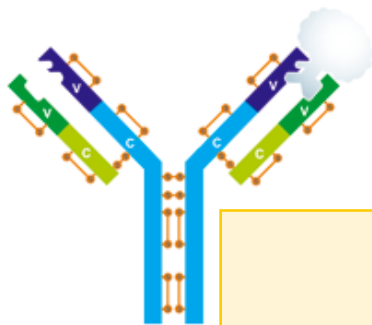
Απομονώνονται τα λεμφοκύτταρα του ατόμου που είναι ομόζυγο για το μεταλλαγμένο παθολογικό αλληλόμορφο του γονιδίου που κωδικοποιεί για το ένζυμο ADA, και πολλαπλασιάζονται σε κυτταροκαλλιέργεια. Αντίγραφο του φυσιολογικού γονιδίου της απαμινάσης της αδενοσίνης (ADA) που έχει απομονωθεί και κλωνοποιηθεί από υγιές άτομο ομόζυγο για το επικρατές φυσιολογικό αλληλόμορφο του γονιδίου της ADA, ενσωματώνεται στο DNA κατάλληλου ιού φορέα με τεχνικές ανασυνδυασμένου DNA, ο οποίος έχει καταστεί αβλαβής. Ο γενετικά τροποποιημένος ιός εισάγεται στα λεμφοκύτταρα της κυτταροκαλλιέργειας. Το DNA των ιών που περιέχουν το φυσιολογικό αλληλόμορφο, ενσωματώνεται στο γονιδίωμα των λεμφοκυττάρων.

Συνεχίζουμε να καλλιεργούμε σε κυτταροκαλλιέργεια τα γενετικώς τροποποιημένα πλέον λεμφοκύτταρα (σωματικά κύτταρα), τα οποία τώρα περιέχουν και το φυσιολογικό γονίδιο. Τα γενετικά τροποποιημένα αυτά κύτταρα επανεισάγονται στον ασθενή (με ενδοφλέβια ένεση) και παράγουν το ένζυμο ADA.

Τα συμπτώματα της ασθένειας υποχωρούν λόγω λειτουργίας του φυσιολογικού αλληλόμορφου γονιδίου. Βέβαια, τα τροποποιημένα λεμφοκύτταρα δε ζουν για πάντα μέσα στον οργανισμό. Συνεπώς η θεραπεία δεν είναι μόνιμη και χρειάζεται συνεχής έγχυση τέτοιων κυττάρων. Όμως, όπως στην περίπτωση των διαβητικών, τα άτομα μπορούν να ζουν φυσιολογικά κάνοντας σε τακτά χρονικά διαστήματα τη συγκεκριμένη θεραπεία.



Εικ. 8.16: ex vivo γονιδιακή θεραπεία για την έλλειψη του ενζύμου ADA.



ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ Το ΧΡΟΝΙΚΟ

- 1986 → Προτάθηκε το πρόγραμμα του ανθρώπινου γονιδιώματος από τον Charles Delisi.
- 1987 → Ανακοίνωση της έγκρισης του προγράμματος του ανθρώπινου γονιδιώματος.
- 1990 → Έναρξη του προγράμματος το οποίο είχε προϋπολογισμό τρία δισεκατομμύρια δολάρια και συμμετείχαν σε αυτό χώρες από όλο τον κόσμο όπως η Κίνα, η Γαλλία, η Γερμανία, η Ιαπωνία κ.ά.
- 2003 → Η ολοκλήρωση της πρόχειρης ανάλυσης του ανθρώπινου γονιδιώματος (δύο χρόνια νωρίτερα από το αναμενόμενο) εξ αιτίας της διεθνούς συνεργασίας των εργαστηρίων Μοριακής Βιολογίας σε συνδυασμό με την πρόοδο της τεχνολογίας των υπολογιστών.
- 2006 → Ολοκλήρωση ενός προγράμματος που αποτελεί ορόσημο στην ιστορία της ανθρωπότητας, με τη δημοσίευση και των τελευταίων νουκλεοτιδικών αλληλουχιών και του τελευταίου χρωμοσώματός μας.

Το πρόγραμμα του ανθρώπινου γονιδιώματος βρίσκεται συνεχώς σε εξέλιξη με στόχο, μετά την ολοκλήρωση της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας όλων των χρωμοσωμάτων μας, την αποκρυπτογράφηση των γονιδίων (ποιο γονίδιο κωδικοποιεί ποια πρωτεΐνη), την ερμηνεία της ύπαρξης των περιοχών του γονιδιώματός μας που δεν είναι γονίδια, την συγκριτική μελέτη του γονιδιώματός μας με το γονιδίωμα άλλων οργανισμών κ.ά. Μερικοί οργανισμοί των οποίων το γονιδίωμα έχει αλληλουχηθεί είναι:

Haemophilus influenzae (βακτήριο, αποτελεί τον πρώτο οργανισμό στον οποίο έγινε αλληλούχιση γονιδιώματος).

Ποντίκι: *Mus musculus*

Χιμπατζής: *Pan troglodytes*

Κοτόπουλο: *Gallus gallus*

Δροσόφιλα: *Drosophilla melanogaster*

Ρύζι: *Oryza sativa*

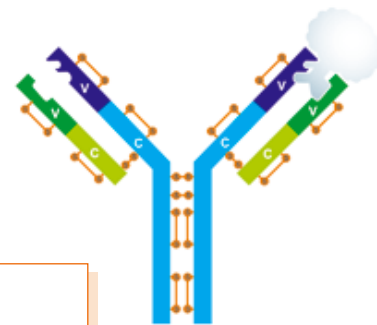
Καλαμπόκι: *Zea mays*

Ζύμη αρτοποιίας: *Saccharomyces cerevisiae*

Μέλισσα: *Apis mellifera* κ.ά.



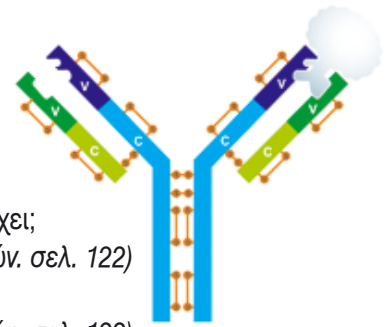
ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ ΕΚΜΑΘΗΣΗΣ ΤΗΣ ΘΕΩΡΙΑΣ



1. Σε ποιους στόχους της Ιατρικής συμβάλλει η Βιοτεχνολογία;
(Απ.: Η Βιοτεχνολογία ... θεραπεία της, σελ. 117)
2. Τι απαιτείται για την έγκαιρη διάγνωση μιας νόσου;
(Απ.: Η έγκαιρη διάγνωση ... ασθένειας, σελ. 117)
3. Ποιες είναι οι σύγχρονες απαιτήσεις πρόληψης των σοβαρών νόσων;
(Απ.: Η πρόληψη ... επιτακτική ανάγκη, σελ. 117)
4. Πώς εφαρμόζεται σήμερα η αποτελεσματική θεραπεία των ασθενειών; Ποιες είναι οι απαραίτητες προϋποθέσεις που πρέπει να πληρούνται;
(Απ.: Η αποτελεσματική θεραπεία ... της βλάβης, σελ. 117)
5. Πώς η Βιοτεχνολογία συνεισφέρει στην επίτευξη των στόχων της Ιατρικής;
(Απ.: Η Βιοτεχνολογία ... τύποι καρκίνου, σελ. 117)
6. Με ποιον τρόπο γινόταν στο παρελθόν η παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών; Σήμερα με ποιο τρόπο παράγουμε αυτές τις πρωτεΐνες;
(Απ.: Πριν από την ανάπτυξη ... πρωτεΐνες, σελ. 117)
7. Ποιες είναι οι πρώτες φαρμακευτικές πρωτεΐνες που παρασκευάστηκαν με τις σύγχρονες μεθόδους της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA;
(Απ.: Μεταξύ ... αυξητική ορμόνη, σελ. 117)
8. Τι γνωρίζετε για τη χημική δομή και τη λειτουργία της ινσουλίνης;
(Απ.: Η ινσουλίνη ... στο αίμα, σελ. 117 και Η ινσουλίνη ... δεσμούς, σελ. 118)
9. Ποια είναι η αιτία εμφάνισης του διαβήτη;
(Απ.: Ο διαβήτης ... από διαβήτη, σελ. 117)
10. Πώς παραγόταν παλαιότερα η ινσουλίνη και με ποιο τρόπο παράγεται σήμερα;
(Απ.: Η ινσουλίνη ... ενζυμική κατεργασία, σελ. 118)
11. Περιγράψτε συνοπτικά τα βήματα για την παραγωγή ινσουλίνης από γενετικά τροποποιημένα βακτήρια.
(Απ.: Η μέθοδος ... σε ινσουλίνη, σελ. 118-119. Αναλυτικά τα βήματα, βλέπε αντίστοιχο ένθετο του παρόντος βιβλίου, κεφ. 8)
12. Τι γνωρίζετε για τις ιντερφερόνες και ποια είναι η φυσιολογική τους δράση;
(Απ.: Οι ιντερφερόνες ... γ, σελ. 119)
13. Γιατί στο παρελθόν δεν ήταν ευρεία η χρήση των ιντερφερόνων; Πώς παράγονται σήμερα;
(Απ.: Παράγονται ... ινσουλίνης, σελ. 119)
14. Τι εφαρμογές μπορούν να έχουν οι ιντερφερόνες;
(Απ.: Οι ιντερφερόνες ... παράγοντες, σελ. 119)



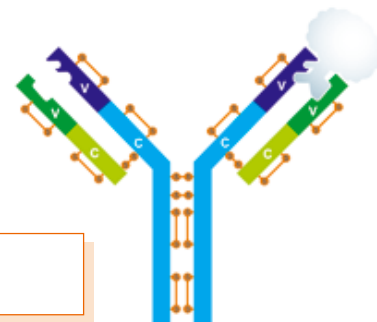
15. Πώς ορίζεται το ιδανικό φάρμακο;
(Απ.: «Το ιδανικό φάρμακο» ... τα αντισώματα. σελ. 119)
16. Τι είναι τα αντισώματα και ποιος ο ρόλος τους στον οργανισμό;
(Απ.: Τα αντισώματα ... και το εξουδετερώνουν. σελ. 119)
17. Τι ορίζεται ως αντιγονικός καθοριστής ενός αντιγόνου;
(Απ.: Ο οργανισμός μας ... εναντίον του. σελ. 119)
18. Δώστε τον ορισμό για τα μονοκλωνικά αντισώματα.
(Απ.: Κάθε είδος αντισώματος ... μονοκλωνικά. σελ. 119)
19. Ποιες μπορεί να είναι οι εφαρμογές των μονοκλωνικών αντισωμάτων και γιατί είναι τόσο σημαντικά στην Ιατρική;
(Απ.: Τα μονοκλωνικά ... σε μεγάλες ποσότητες. σελ. 119)
20. Τι είναι τα υβριδώματα και για ποιο λόγο δημιουργούνται;
(Απ.: Όμως τα Β-λεμφοκύτταρα ... μονοκλωνικού αντισώματος. σελ. 119)
21. Εάν θέλουμε να παράγουμε ένα μονοκλωνικό αντίσωμα, ποια πορεία θα ακολουθήσουμε;
(Απ.: Η τεχνική ... σε μεγάλες ποσότητες. σελ. 119. Αναλυτικά τα βήματα, βλέπε αντίστοιχο ένθετο του παρόντος βιβλίου, κεφ. 8)
22. Πώς μπορούν να εφαρμοστούν τα μονοκλωνικά αντισώματα ως ανοσοδιαγνωστικά;
(Απ.: Τα μονοκλωνικά αντισώματα ... κατά την κύηση. σελ. 119)
23. Πώς μπορούν να εφαρμοστούν τα μονοκλωνικά αντισώματα στη θεραπεία των ασθενειών;
(Απ.: Τα αντισώματα ... της χημειοθεραπείας. σελ. 119-120)
24. Πώς μπορούν να εφαρμοστούν τα μονοκλωνικά αντισώματα στην επιλογή οργάνων συμβατών για μεταμόσχευση;
(Απ.: Τα κύτταρα ... να είναι επιτυχείς. σελ. 120)
25. Δώστε τον ορισμό του εμβολίου για την Ιατρική.
(Απ.: Τα εμβόλια ... παθογόνου μικροοργανισμού. σελ. 121)
26. Ποιος είναι ο παραδοσιακός τρόπος παρασκευής εμβολίων;
(Απ.: Για το σκοπό αυτό ... ενεργητική ανοσία. σελ. 121)
27. Ποια είναι τα μειονεκτήματα του παραδοσιακού τρόπου παρασκευής εμβολίων;
(Απ.: Μολονότι έχουν παραχθεί ... κατασκευής εμβολίου. σελ. 121)
28. Ποια σύγχρονα εμβόλια υπερπηδούν τα μειονεκτήματα των παραδοσιακών εμβολίων;
(Απ.: Την τελευταία δεκαετία ... γυμνού DNA. σελ. 121)
29. Πού στηρίζεται η παραγωγή εμβολίων-υπομονάδων;
(Απ.: Η παραγωγή εμβολίων - υπομονάδων ... ως εμβόλιο. σελ. 121)
30. Πώς παράγονται τα εμβόλια από γενετικά τροποποιημένους ιούς;
(Απ.: Ένας άλλος ... ανοσολογική αντίδραση. σελ. 121)
31. Δώστε τον ορισμό για τα αντιβιοτικά.
(Απ.: Τα αντιβιοτικά ... σε βιοαντιδραστήρες. σελ. 122)
32. Με ποιους τρόπους μπορούμε να παρασκευάσουμε αντιβιοτικά; Πόσα έχουν παρασκευαστεί μέχρι σήμερα;
(Απ.: Πολλά αντιβιοτικά ... νέα αντιβιοτικά. σελ. 122)



33. Η παρασκευή αντιβιοτικών με μεθόδους Βιοτεχνολογίας ποιους στόχους έχει;
(Απ.: Η τεχνολογία ... παραγωγή αντιβιοτικών. σελ. 122)
34. Πόσες είναι οι γενετικές ασθένειες. Πώς προκαλούνται; Τι προκαλούν;
(Απ.: Περισσότερες από ... στην παιδική ηλικία. σελ. 122)
35. Τι ονομάζουμε χαρτογράφηση γονιδίων και πώς επιτυγχάνεται;
(Απ.: Έως πρόσφατα ... μεταλλάξεων. σελ. 122-123)
36. Ποιοι είναι οι σύγχρονοι στόχοι για τη χαρτογράφηση; Ποιών ασθενειών τα γονίδια έχουν ήδη χαρτογραφηθεί;
(Απ.: Η χαρτογράφηση ... Duchenne. σελ. 122-123)
37. Τι ονομάζουμε γονιδιακή θεραπεία;
(Απ.: Οι γνώσεις αυτές ... του μεταλλαγμένου γονιδίου. σελ. 123)
38. Ποιες είναι οι προϋποθέσεις εφαρμογής της γονιδιακής θεραπείας;
(Απ.: Απαραίτητη ... από την ασθένεια. σελ. 123)
39. Πότε και για ποια ασθένεια εφαρμόστηκε πρώτη φορά γονιδιακή θεραπεία; Τι προκαλεί αυτή η ασθένεια;
(Απ.: Η γονιδιακή θεραπεία ... να τους καταπολεμήσει. σελ. 123)
40. Περιγράψτε τα βήματα που ακολουθούνται στη γονιδιακή θεραπεία της ασθένειας που προκαλεί η ανεπάρκεια του ενζύμου ADA.
(Απ.: Η διαδικασία ... αυτή τη θεραπεία. σελ. 123-124.
Αναλυτικά τα βήματα, βλέπε αντίστοιχο ένθετο του παρόντος βιβλίου κεφ. 8)
41. Ποιος τύπος γονιδιακής θεραπείας ονομάζεται *ex vivo*, σε ποιες περιπτώσεις εφαρμόζεται;
(Απ.: Ο τύπος ... στον οργανισμό. σελ. 124)
42. Ποιος τύπος γονιδιακής θεραπείας ονομάζεται *in vivo*;
(Απ.: Τι γίνεται όμως ... το 1993. σελ. 124-125)
43. Τι γνωρίζετε για την ασθένεια της κυστικής ίνωσης;
(Απ.: Η κυστική ίνωση ... των πνευμόνων. σελ. 125)
44. Περιγράψτε τα βήματα που ακολουθούνται για τη γονιδιακή θεραπεία της κυστικής ίνωσης.
(Απ.: Το φυσιολογικό γονίδιο ... το φυσιολογικό προϊόν. σελ. 125)
45. Ποια είναι τα προβλήματα που υπάρχουν σήμερα στην εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας και πως μπορούν να λυθούν;
(Απ.: Έως πρόσφατα ... της γονιδιακής θεραπείας. σελ. 125)
46. Τα άτομα που έχουν υποστεί γονιδιακή θεραπεία μπορούν να μεταβιβάσουν το φυσιολογικό γονίδιο στους απόγονους τους;
(Απ.: Με τις μεθόδους ... στους απογόνους. σελ. 125)
47. Ποιοι ήταν οι στόχοι του προγράμματος του ανθρώπινου γονιδιώματος; Ποτέ ξεκίνησε και ποτέ τελείωσε;
(Απ.: Όπως έχει αναφερθεί ... το 2001. σελ. 125-126)
48. Σε ποιους τομείς θα συμβάλλει η ανάλυση του ανθρώπινου γονιδιώματος;
(Απ.: Η ανάλυση ... και την κτηνοτροφία. σελ. 126)



ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ ΚΛΕΙΣΤΟΥ ΤΥΠΟΥ



Να βάλετε σε κύκλο το γράμμα που αντιστοιχεί στη σωστή απάντηση ή στη φράση που συμπληρώνει σωστά την πρόταση:

1. Οι τεχνικές που αφορούν τον ανασυνδυασμό του DNA συμβάλλουν

- A. στην παραγωγή πρωτεϊνών σε μεγάλες ποσότητες.
- B. στην παραγωγή πρωτεϊνών με μικρό κόστος.
- Γ. στην πλήρη κατανόηση της βιολογικής δράσης των πρωτεϊνών.
- Δ. σε όλα όσα περιγράφονται στα α, β, γ.

2. Η ινσουλίνη παράγεται σε μεγάλες ποσότητες και με μικρό κόστος από

- A. εκχύλιση ιστών του παγκρέατος των βοοειδών.
- B. βακτήρια με την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA.
- Γ. μύκητες με σύγχρονες χημικές μεθόδους διαχωρισμού.
- Δ. τον ερυθρό μυελό των οστών με εκχύλιση.

3. Τα αντισώματα είναι

- A. πρωτεΐνες.
- B. νουκλεϊκά οξέα.
- Γ. υδατάνθρακες.
- Δ. λιπίδια.

4. Τα μονοκλωνικά αντισώματα παράγονται από

- A. ένα κλώνο Τ-λεμφοκυττάρων.
- B. μία ομάδα όμοιων Β-λεμφοκυττάρων.
- Γ. κυτταροτοξικά Τ-λεμφοκυττάρων.
- Δ. μακροφάγα κύτταρα.

5. Τα μονοκλωνικά αντισώματα χρησιμοποιούνται στην Ιατρική

- A. ως διαγνωστικά για την ανίχνευση ασθενειών.
- B. ως εξειδικευμένα φάρμακα.
- Γ. εναντίον καρκινικών κυττάρων.
- Δ. σε όλες τις περιπτώσεις που περιγράφονται στα α, β, γ.



6. Πώς ονομάζεται η διαδικασία εισαγωγής γενετικά τροποποιημένου ιού στα λεμφοκύτταρα;

- A. Γονιδιακή θεραπεία.
- B. Μεταμόσχευση.
- Γ. Μόλυνση.
- Δ. Εμβολιασμός.

7. Με τη γονιδιακή θεραπεία

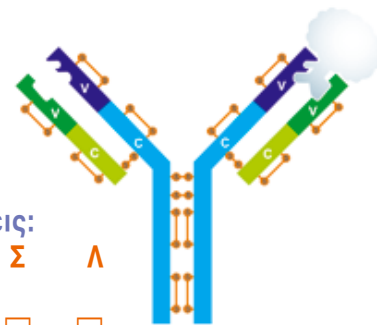
- A. παράγονται μονοκλωνικά αντισώματα.
- B. γίνεται προσπάθεια αποκατάστασης της γενετικής βλάβης.
- Γ. γίνεται παραγωγή αντιβιοτικών.
- Δ. γίνεται ανίχνευση ουσιών οι οποίες δρουν ως αντιγόνα.

8. Τα εμβόλια συμβάλλουν στη

- A. διάγνωση μίας ασθένειας.
- B. θεραπεία μίας ασθένειας.
- Γ. πρόληψη μίας ασθένειας.
- Δ. σε όλα τα παραπάνω.

9. Τα υβριδώματα είναι

- A. υβρίδια καλαμποκιού.
- B. σύμπλεγμα αντισωμάτων με καρκινικά κύτταρα.
- Γ. καρκινικά κύτταρα.
- Δ. κύτταρα που προκύπτουν από σύντηξη Β-λεμφοκυττάρων με καρκινικά κύτταρα.



Να χαρακτηρίσετε με Σ (σωστό) ή με Λ (λάθος) τις παρακάτω προτάσεις:

1. Η γονιδιακή θεραπεία στηρίζεται στην ανάπτυξη της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA.
2. Με την ανάπτυξη της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA παράγονται πολλές πρωτεΐνες αλλά σε μικρές ποσότητες και με μεγάλο κόστος.
3. Η γονιδιακή θεραπεία, όταν εφαρμόζεται στο ζυγωτό κύτταρο, δε μεταβιβάζεται στους απογόνους.
4. Η γονιδιακή θεραπεία, όταν εφαρμόζεται σε ορισμένα σωματικά κύτταρα ασθενών, δε μεταβιβάζεται στους απόγονους.
5. Τα αντισώματα είναι πρωτεϊνικά μόρια που παράγονται από τα Β-λεμφοκύτταρα του ανοσοποιητικού μας συστήματος.
6. Ένας κλώνος Β-λεμφοκυττάρων μπορεί να παράγει πολλά διαφορετικά αντισώματα.
7. Το αντίσωμα, που παράγεται από έναν κλώνο Β-λεμφοκυττάρων, ονομάζεται μονοκλωνικό.
8. Με τη γονιδιακή θεραπεία αντιμετωπίζονται ασθένειες, που οφείλονται σε μικροοργανισμούς οι οποίοι είναι ανθεκτικοί στα εμβόλια.
9. Τα εμβόλια πρέπει να είναι επαρκώς ασφαλή αλλά και οικονομικώς προσιτά.
10. Ex vivo γονιδιακή θεραπεία, είναι ο τρόπος θεραπείας κατά τον οποίο τα κύτταρα ενός οργανισμού τροποποιούνται με έξυπνους φορείς μέσα στον ίδιο τον οργανισμό.
11. Η Βιοτεχνολογία συμβάλλει στη διάγνωση, πρόληψη και θεραπεία πολλών ασθενειών.
12. Η ινσουλίνη είναι μια ορμόνη, η οποία παράγεται σε μεγάλες ποσότητες και με μικρό κόστος από την εκχύλιση ιστών παγκρέατος των βοοειδών.
13. Τα μονοκλωνικά αντισώματα χρησιμοποιούνται ως διαγνωστικά για την ανίχνευση ασθενειών.
14. Τα Β-λεμφοκύτταρα, όταν συντηχθούν με καρκινικά κύτταρα, δίνουν υβριδικά κύτταρα, τα υβριδώματα, τα οποία παράγουν σε μεγάλες ποσότητες μονοκλωνικά αντισώματα.
15. Τα μονοκλωνικά αντισώματα δε χρησιμοποιούνται για την καταστροφή καρκινικών κυττάρων, διότι στην εξωτερική επιφάνεια αυτών δεν υπάρχουν αντιγόνα.
16. Η χειρουργική επέμβαση για την αφαίρεση καρκινικών κυττάρων είναι προτιμότερη από την καταστροφή αυτών, με τη χορήγηση των κατάλληλων μονοκλωνικών αντισωμάτων.
17. Το πρόγραμμα του ανθρώπινου γονιδιώματος ξεκίνησε το 1986 και ολοκληρώθηκε το 2005.
18. Η εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας επιτρέπεται σε όλα τα κύτταρα του ανθρώπου.
19. Μετά την ολοκλήρωση του προγράμματος του ανθρώπινου γονιδιώματος γνωρίζουμε πλέον ποια πρωτεΐνη κωδικοποιεί κάθε γονίδιο.

Σ

Λ

☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐
☐

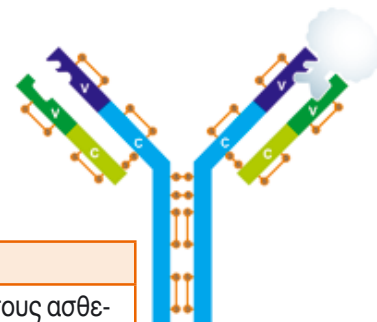


Να συμπληρώσετε με τους κατάλληλους όρους τα κενά στις παρακάτω προτάσεις:

1. Το αντίσωμα, που παράγεται από μια ομάδα όμοιων Β-λεμφοκυττάρων, ονομάζεται
2. Η περιοχή του αντιγόνου, η οποία αναγνωρίζεται από ένα μόνο αντίσωμα, ονομάζεται
3. Η σύντηξη Β-λεμφοκυττάρων με καρκινικά κύτταρα έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή κυττάρων, τα οποία ονομάζονται
4. Τα υβριδώματα μπορούν να παράγουν μεγάλες ποσότητες
5. Οι αντιγονικές ιδιότητες των παθογόνων οργανισμών οφείλονται σε πρωτεΐνες που υπάρχουν στην επιφάνειά τους. Έτσι, ένα εμβόλιο μπορεί να φέρει πολλούς
6. Για τη γονιδιακή θεραπεία είναι απαραίτητη η του υπεύθυνου για την ασθένεια γονιδίου.
7. Με τη θεραπεία εισάγονται στους ασθενείς φυσιολογικά αλληλόμορφα του μεταλλαγμένου γονιδίου.
8. Ο τύπος γονιδιακής θεραπείας κατά τον οποίο τα λεμφοκύτταρα τροποποιούνται έξω από τον οργανισμό ονομάζεται
9. Τα Β-λεμφοκύτταρα που παράγουν ένα συγκεκριμένο μονοκλωνικό αντίσωμα αποτελούν έναν

Να αντιστοιχίσετε τους όρους που αναγράφονται στη στήλη I με τις έννοιες ή τις φράσεις που αναγράφονται στη στήλη II. Για το σκοπό αυτό να γράψετε δίπλα από κάθε γράμμα της στήλης I τον αριθμό που ταιριάζει από τη στήλη II (π.χ. Α-1).

I	II
Α. ____ Μονοκλωνικά αντισώματα	1. Σύντηξη καρκινικών κυττάρων με Β-λεμφοκύτταρα.
Β. ____ Υβριδώματα	2. Ειδική περιοχή του αντιγόνου.
Γ. ____ Αντιγονικός καθοριστής	3. Εξειδικευμένες περιοχές του DNA.
	4. Πρωτεΐνες που παράγονται από όμοια Β-λεμφοκύτταρα.

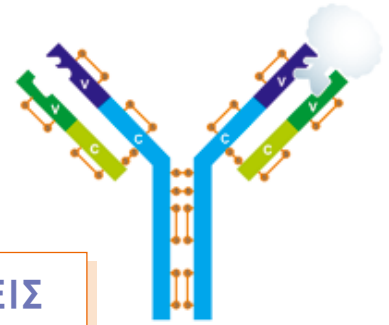


I	II
A. ____ Εμβόλια	1. Διόρθωση γενετικής βλάβης με εισαγωγή στους ασθενείς των φυσιολογικών αλληλόμορφων του μεταλλαγμένου γονιδίου.
B. ____ Γονιδιακή θεραπεία	2. Πρόληψη ασθενειών.
Γ. ____ Μόλυνση	3. Διαδικασία εισαγωγής γενετικά τροποποιημένου ιού στα λεμφοκύτταρα.
	4. Σύντηξη καρκινικών κυττάρων με Β-λεμφοκύτταρα.

I	II
A. ____ Ινσουλίνη	1. Θεραπεία σπασμένων οστών.
B. ____ Ιντερφερόνες	2. Μεταβολισμός υδατανθράκων.
Γ. ____ Αυξητική ορμόνη	3. Αντιμετώπιση αναιμιών.
	4. Αντικές πρωτεΐνες.



ΥΠΟΔΕΙΓΜΑΤΙΚΑ ΑΠΑΝΤΗΜΕΝΕΣ ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ



A. Να απαντήσετε σε καθεμία από τις παρακάτω ερωτήσεις:

1. Αναφέρετε ορισμένες τεχνικές της Βιοτεχνολογίας, στις οποίες στηρίζεται η γονιδιακή θεραπεία. Να αναφέρετε ασθένειες οι οποίες θα μπορούσαν να αντιμετωπιστούν με τη γονιδιακή θεραπεία.

Η γονιδιακή θεραπεία είναι ένας νέος τομέας της Βιοτεχνολογίας που αναπτύσσεται ταχύτατα και στόχος της είναι η “διόρθωση” της γενετικής βλάβης των μονογονιδιακών γενετικών ασθενειών, εισάγοντας στους ασθενείς φυσιολογικά αλληλόμορφα των μεταλλαγμένων αλληλομόρφων που ευθύνονται για τις παραπάνω ασθένειες.

Η γονιδιακή θεραπεία στηρίζεται στις τεχνικές της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA, όπως οι τεχνικές της απομόνωσης και κλωνοποίησης των γονιδίων, οι τεχνικές της δημιουργίας ανασυνδυασμένων μορίων DNA και οι τεχνικές μεταφοράς γενετικού υλικού, μέσω κατάλληλων φορέων, από έναν οργανισμό σε έναν άλλο.

Ασθένειες οι οποίες θα μπορούσαν να αντιμετωπιστούν με τη γονιδιακή θεραπεία, εφόσον ξεπεραστούν τα προβλήματα της χρήσης των κατάλληλων φορέων, είναι διάφορες μονογονιδιακές υπολειπόμενες νόσοι, όπως η κυστική ίνωση, η β-θαλασσαιμία, η ασθένεια που οφείλεται σε έλλειψη του ενζύμου ADA και άλλες. Με τη γονιδιακή θεραπεία θα ήταν θεωρητικώς εφικτή η θεραπεία επικρατών νόσων όπως της υπερχοληστεριναιμίας ή ιογενών νοσημάτων όπως το AIDS ή τέλος θα ήταν εφικτή και η θεραπεία του καρκίνου.

2. Να αναφέρετε ονομαστικά τρεις μεθόδους που χρησιμοποιεί η Βιοτεχνολογία για την παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων και άλλων φαρμακευτικών προϊόντων.

Για την παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων και διαφόρων φαρμακευτικών πρωτεϊνών μέσω της Βιοτεχνολογίας είναι απαραίτητη η:

- κατασκευή cDNA βιβλιοθήκης.
- δημιουργία υβριδωμάτων.
- τεχνολογία ανασυνδυασμένου DNA.

3. Ποια είναι η χημική σύσταση της ινσουλίνης και ποιος ο ρόλος της;

Η ινσουλίνη είναι μίας πρωτεϊνικής φύσεως ορμόνη που αποτελείται από 51 αμινοξέα μοιρασμένα σε δύο μικρά πεπτίδια Α και Β, που συγκρατούνται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς (βλέπε εικόνα 8.10).

Η ινσουλίνη παράγεται από ειδικά κύτταρα του παγκρέατος και ο ρόλος της είναι να ρυθμίζει το μεταβολισμό των υδατανθράκων και ειδικότερα το ποσοστό της γλυκόζης στο αίμα. (βλέπε ορολογία αντίστοιχο όρο). Έλλειψη ή μείωση της ινσουλίνης στον οργανισμό οδηγεί στην ασθένεια του διαβήτη (βλέπε ορολογία αντίστοιχο όρο).



4. Ποια είναι τα πλεονεκτήματα της παραγωγής ινσουλίνης, με την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA, σε σχέση με τον τρόπο που παραγόταν στο παρελθόν;

Η ινσουλίνη χρησιμοποιείται για τη θεραπεία των διαβητικών ατόμων. Πριν από το 1982 οι κύριες πηγές ινσουλίνης ήταν το πάγκρεας από χοίρους και από βοοειδή. Η ινσουλίνη παραγόταν από την εκχύλιση αυτών των ιστών με μία δαπανηρή και πολύπλοκη διαδικασία και επιπλέον, επειδή είχε μικρές διαφορές στη σύσταση των αμινοξέων της από την ανθρώπινη, προκαλούσε αλλεργικές αντιδράσεις.

Μία από τις μεθόδους που χρησιμοποιείται σήμερα για την παραγωγή της ανθρώπινης ινσουλίνης είναι η παραγωγή του πρόδρομου μορίου της σε μία βακτηριακή καλλιέργεια γενετικά τροποποιημένων, με το ανθρώπινο γονίδιο της ινσουλίνης, βακτηρίων και η μετατροπή της προϊνσουλίνης σε ινσουλίνη με ενζυμική κατεργασία *in vitro*.

Η μέθοδος της παραγωγής της ινσουλίνης με την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA έχει πολλά πλεονεκτήματα σε σχέση με τον τρόπο που παραγόταν στο παρελθόν. Αυτός ο τρόπος είναι πολύ πιο εύκολος, πιο γρήγορος, πιο φθηνός και πιο ασφαλής. Το παραγόμενο προϊόν είναι η ανθρώπινη ινσουλίνη, και όχι η ινσουλίνη ενός ζώου, με συνέπεια να αποφεύγονται οι αλλεργικές αντιδράσεις. Επιπλέον με αυτόν τον τρόπο, σε αντίθεση με το παρελθόν, παράγονται πολύ μεγάλες ποσότητες ανθρώπινης φαρμακευτικής ινσουλίνης, με αποτέλεσμα αυτή να κοστίζει λιγότερο και να είναι προσιτή από μεγάλη μερίδα διαβητικών καθώς και από τα εθνικά συστήματα υγείας.

5. Γιατί είναι δυνατή σήμερα η ευρεία χρήση των ιντερφερονών, σε σχέση με παλαιότερα;

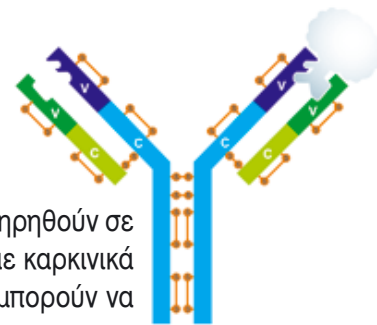
Οι ιντερφερόνες είναι αντιϊκές πρωτεΐνες, που παράγονται από κύτταρα που έχουν μολυνθεί από ιούς. Οι πρωτεΐνες αυτές επάγουν την παραγωγή άλλων πρωτεϊνών από τα γειτονικά υγιή κύτταρα οι οποίες εμποδίζουν τον πολλαπλασιασμό των ιών σ' αυτά. Οι ιντερφερόνες είναι οικογένεια συγγενών πρωτεϊνών, που ταξινομούνται ανάλογα με τη χημική και βιολογική ενεργότητά τους σε τρεις ομάδες: τις ιντερφερόνες α, β και γ.

Οι ιντερφερόνες έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον ως αντιϊκοί και πιθανόν ως αντικαρκινικοί παράγοντες. Παράγονται σε ελάχιστες ποσότητες στο σώμα και γι' αυτό δεν ήταν ευρεία η χρήση τους στη θεραπεία ασθενειών. Όμως, μετά την κλωνοποίηση ορισμένων γονιδίων ιντερφερονών, είναι σήμερα δυνατή η παραγωγή τους σε μεγάλες ποσότητες, από γενετικά τροποποιημένα βακτήρια.

6. Τι είναι τα μονοκλωνικά αντισώματα; Γιατί είναι σημαντική η εργαστηριακή παραγωγή τους;

Κάθε είδος αντισώματος που αναγνωρίζει έναν αντιγονικό καθοριστή παράγεται από μία ομάδα όμοιων Β-λεμφοκυττάρων, που αποτελούν έναν κλώνο. Το αντίσωμα που παράγεται από ένα κλώνο Β-λεμφοκυττάρων ονομάζεται μονοκλωνικό.

Τα μονοκλωνικά αντισώματα είναι πολύ σημαντικά στην Ιατρική και χρησιμοποιούνται ως διαγνωστικά για την ανίχνευση ασθενειών ή ως εξειδικευμένα φάρμακα εναντίον παθογόνων μικροοργανισμών ή ακόμα εναντίον καρκινικών κυττάρων. Ήταν, επομένως, σημαντικό να γίνει δυνατή η παραγωγή τους στο εργαστήριο σε μεγάλες ποσότητες. Όμως τα Β-λεμφο-



κύτταρα δεν επιβιώνουν για μεγάλο χρονικό διάστημα και δεν μπορούν να διατηρηθούν σε κυτταροκαλλιέργειες. Την ιδιότητα αυτή την αποκτούν ύστερα από σύντηξη με καρκινικά κύτταρα. Τα υβριδικά κύτταρα που παράγονται ονομάζονται υβριδώματα και μπορούν να παράγουν μεγάλες ποσότητες ενός μονοκλωνικού αντισώματος.

Τα μονοκλωνικά αντισώματα έχουν πολυάριθμες εφαρμογές και λειτουργούν ως: ανοσο-διαγνωστικά, θεραπευτικά και ως τρόπος ελέγχου για την επιλογή οργάνων συμβατών για μεταμόσχευση (βλέπε και ορολογία αντίστοιχο όρο).

7. Τι είναι τα υβριδώματα;

Τα υβριδώματα είναι υβριδικά κύτταρα, αποτέλεσμα της σύντηξης B-λεμφοκυττάρων και καρκινικών κυττάρων. Τα υβριδώματα μπορούν να παράγουν μεγάλες ποσότητες ενός μονοκλωνικού αντισώματος (βλέπε και ορολογία αντίστοιχο όρο).

8. Για την παρασκευή μονοκλωνικών αντισωμάτων χρησιμοποιούνται υβριδώματα και όχι B-λεμφοκύτταρα. Να αιτιολογήσετε το γεγονός αυτό.

Τα B-λεμφοκύτταρα δεν επιβιώνουν για πολύ έξω από το σώμα και δεν μπορούν να διατηρηθούν σε κυτταροκαλλιέργειες *in vitro* (επιτυγχάνουν μέχρι 50 με 70 διαιρέσεις). Όμως είναι δυνατόν να αποκτήσουν αυτή την ιδιότητα να διατηρούνται σε κυτταροκαλλιέργειες μετά τη σύντηξή τους με καρκινικά κύτταρα. Τα κύτταρα που προκύπτουν από τη σύντηξη αυτή είναι τα υβριδώματα. Τα υβριδώματα μπορούν να διατηρούνται σε κυτταροκαλλιέργειες και να παράγουν μεγάλες ποσότητες ενός μονοκλωνικού αντισώματος.

9. Ποια είναι η χρήση των μονοκλωνικών αντισωμάτων στην Ιατρική;

Τα μονοκλωνικά αντισώματα έχουν πολυάριθμες εφαρμογές τόσο στη διαγνωστική Ιατρική όσο και στη θεραπευτική Ιατρική.

Χρησιμοποιούνται ως ανοσοδιαγνωστικά καθώς μπορούν να ανιχνεύσουν στα υγρά του σώματος (αίμα, ούρα κ.ά.) ουσίες που είναι υπεύθυνες για ποικίλες ασθένειες, παθογόνους μικροοργανισμούς καθώς και τη διακύμανση της συγκέντρωσης διαφόρων προϊόντων του μεταβολισμού, η οποία μπορεί να προοιωνίζει την πιθανότητα εμφάνισης κάποιας νόσου. Η ανοσοδιάγνωση είναι γρήγορη, απλή, ευαίσθητη, ακριβής και επιτρέπει τη διάγνωση ασθενειών σε πολύ πρώιμα στάδια. Ακόμη έχουν κατασκευαστεί ανοσοδιαγνωστικά τεστ, τα οποία χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση των ομάδων αίματος καθώς και ως τεστ εγκυμοσύνης. Τα μονοκλωνικά αντισώματα χρησιμοποιούνται επίσης ως θεραπευτικά. Η πιο ενδιαφέρουσα εφαρμογή τους αφορά στη θεραπεία του καρκίνου. Τα μονοκλωνικά αντισώματα μπορούν να μεταφέρουν αντικαρκινικά φάρμακα και να συνδέονται επιλεκτικά μόνο με τα κύτταρα του όγκου και όχι με τα υγιή κύτταρα. Έτσι είναι δυνατή η στόχευση και η καταστροφή των καρκινικών όγκων.

Τα μονοκλωνικά αντισώματα χρησιμοποιούνται ακόμη για την επιλογή οργάνων συμβατών για μεταμόσχευση μέσω του ελέγχου συμβατότητας των αντιγόνων επιφανείας των οργάνων των δωρητών με τα αντίστοιχα αντιγόνα επιφανείας των κυττάρων του δέκτη. Έτσι, είναι δυνατό να αποφευχθεί η απόρριψη και οι μεταμοσχεύσεις να είναι επιτυχείς.

Ακόμη με τα μονοκλωνικά αντισώματα μπορεί να ελεγχθεί η εξέλιξη μιας ασθένειας ή η πρόοδος της θεραπείας της.



Οι χειρουργοί συνδέουν ραδιενεργά ισότοπα με αντισώματα, τα εισάγουν στον οργανισμό και ανιχνεύουν τη θέση των ραδιενεργών ισωτόπων στο σώμα. Η τεχνική αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί, για να προσδιοριστεί με ακρίβεια σε ποιο σημείο του σώματος υπάρχει ένας θρόμβος ή ένας όγκος.

Επειδή τα μονοκλωνικά αντισώματα προσδένονται με πολύ μεγάλη εξειδίκευση σε μία χημική ουσία, μπορούν να βοηθήσουν στον καθαρισμό της από πολύπλοκα μείγματα. Με αυτόν τον τρόπο μπορούν να καθαριστούν πολύτιμες ουσίες που βρίσκονται σε απειροελάχιστη ποσότητα σε ένα μείγμα. Η τεχνική αυτή βοήθησε στο να γίνει η ιντερφερόνη ευρέως διαθέσιμη.

10. Να αναφέρετε τους λόγους για τους οποίους τα μονοκλωνικά αντισώματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην εξουδετέρωση καρκινικών κυττάρων.

Τα μονοκλωνικά αντισώματα χάρη στην ικανότητα που έχουν να αναγνωρίζουν έναν μόνο αντιγονικό καθοριστή μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη θεραπεία του καρκίνου.

Τα καρκινικά κύτταρα έχουν στην επιφάνειά τους συγκεκριμένα αντιγόνα, διαφορετικά από τα φυσιολογικά κύτταρα του ιστού στον οποίο έχει αναπτυχθεί ο όγκος. Για τα αντιγόνα αυτά παράγουμε αντισώματα. Με τη χρήση αυτών, μπορούν να κατευθυνθούν ισχυρά αντικαρκινικά φάρμακα πάνω στα καρκινικά κύτταρα και να τα εξουδετερώσουν. Τα καρκινικά κύτταρα είναι συνήθως επιθετικά και πραγματοποιούν φαγοκυττάρωση των αντισωμάτων, όποτε το φάρμακο μπορεί να εισέρχεται στο εσωτερικό τους, χωρίς να βλαφθούν οι γειτονικοί υγιείς ιστοί.

11. Ποιο πλεονέκτημα έχει η αντιμετώπιση των καρκινικών κυττάρων με μονοκλωνικά αντισώματα, σε σχέση με τη χημειοθεραπεία και τη χειρουργική επέμβαση;

Η χρήση των μονοκλωνικών αντισωμάτων για τη θεραπεία του καρκίνου εμφανίζει αρκετά πλεονεκτήματα σε σχέση με τη χημειοθεραπεία και τη χειρουργική επέμβαση.

Ως προς τη χημειοθεραπεία υπερτερεί επειδή μετριάζονται πολύ οι παρενέργειες στον οργανισμό, αφού χρησιμοποιείται εντοπισμένη και πολύ μικρότερη ποσότητα φαρμάκου και δεν επηρεάζονται οι υγιείς ιστοί. Ως προς τη χειρουργική επέμβαση πλεονεκτεί επειδή αντιμετωπίζει ριζικά το πρόβλημα ενώ αποφεύγονται οι μετεγχειρητικές επιπλοκές (βλέπε και ορολογία, όρος Χημειοθεραπεία).

12. Πού στηρίζεται η εφαρμογή των μονοκλωνικών αντισωμάτων κατά την ανίχνευση ουσιών, που είναι υπεύθυνες για διάφορες ασθένειες;

Επειδή κάθε είδος μονοκλωνικού αντισώματος αναγνωρίζει ένα είδος αντιγονικού καθοριστή, τα μονοκλωνικά αντισώματα είναι πολύτιμα διαγνωστικά εργαλεία της Ιατρικής.

Τα μονοκλωνικά αντισώματα μπορούν να σημανθούν κατάλληλα και να χρησιμοποιηθούν για την ανίχνευση μιας ουσίας σε βιολογικά υγρά με απόλυτη ακρίβεια, πιστότητα και ευαισθησία.



13. Τι είναι η γονιδιακή θεραπεία και ποιες είναι οι απαραίτητες προϋποθέσεις για την εφαρμογή της;

Γονιδιακή θεραπεία είναι η εισαγωγή του φυσιολογικού γονιδίου στον οργανισμό σε περιπτώσεις γενετικών ασθενειών που είναι μονογονιδιακές και στις οποίες είναι γνωστό και χαρτογραφημένο το γονίδιο που ευθύνεται για την ασθένεια. Το γονίδιο αφού απομονωθεί και κλωνοποιηθεί, εισάγεται στα κύτταρα του οργανισμού που το εκφράζουν, είτε προσδεσμένο σε ένα φορέα (π.χ. ιό) είτε σε μορφή γυμνού DNA. Το φυσιολογικό αλληλόμορφο που εισήχθη στο γονιδίωμα του κυττάρου, εκφράζεται εφόσον διαθέτει τον κατάλληλο υποκινητή και παράγει τη φυσιολογική πρωτεΐνη με αποτέλεσμα τη θεραπεία.

Οι προϋποθέσεις για την εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας είναι, η χαρτογράφηση του γονιδίου που ευθύνεται για την ασθένεια, η γνώση του ιστού που εκφράζεται αυτό, η ασθένεια να ακολουθεί υπολειπόμενο τρόπο κληρονομής, η νόσος να είναι μονογονιδιακής χαρακτήρας, ενώ είναι απαραίτητη η απομόνωση και κλωνοποίηση του φυσιολογικού αλληλόμορφου του υπεύθυνου γονιδίου, η ύπαρξη κατάλληλου υποκινητή και η μεταφορά του στο σώμα του ασθενούς με την χρήση κατάλληλου φορέα (βλέπε αντίστοιχο όρο).

14. Ποια είναι η διαφορά μεταξύ *ex vivo* και *in vivo* γονιδιακής θεραπείας;

Η γονιδιακή θεραπεία ανάλογα με τον ιστό στον οποίο εκφράζεται το γονίδιο που ευθύνεται για τη νόσο, μπορεί να γίνει έξω από το σώμα του ασθενούς (*ex vivo*) ή μέσα στο σώμα του ασθενούς (*in vivo*).

Στην *ex vivo* γονιδιακή θεραπεία τα κύτταρα του ασθενούς τροποποιούνται γενετικά έξω από τον οργανισμό και εισάγονται πάλι σε αυτόν, ενώ στην *in vivo* γονιδιακή θεραπεία τα φυσιολογικά γονίδια ενσωματώνονται σε κατάλληλα μόρια φορείς, όπως αδενοϊοί και εισάγονται κατευθείαν στον οργανισμό. Η *ex vivo* θεραπεία επειδή αφορά κύτταρα του αίματος ή του αιμοποιητικού συστήματος είναι παροδική ενώ η *in vivo* γονιδιακή θεραπεία διαρκεί για όσο χρόνο ζουν τα κύτταρα του ιστού στα οποία έχει ενθεθεί το φυσιολογικό αλληλόμορφο του γονιδίου που ελέγχει τη νόσο (βλέπε και αντίστοιχο όρο).

15. Να γράψετε τέσσερις επιστημονικούς τομείς, στους οποίους θα συμβάλει η ολοκλήρωση της χαρτογράφησης του ανθρώπινου γονιδιώματος.

Η χαρτογράφηση του ανθρώπινου γονιδιώματος αφορά στον εντοπισμό της θέσης των γονιδίων στα χρωμοσώματα και τον προσδιορισμό της αλληλουχίας των βάσεων του DNA στο ανθρώπινο γονιδίωμα.

Η ανάλυση του ανθρώπινου γονιδιώματος θα συμβάλει:

- Στον προσδιορισμό γονιδίων που σχετίζονται με τις διάφορες γενετικές ασθένειες.
- Στη σύγκριση γονιδιωμάτων διαφορετικών ειδών οργανισμών.
- Στη σύγκριση γονιδιωμάτων διαφορετικών ομάδων πληθυσμού.
- Στην κατανόηση της οργάνωσης του ανθρώπινου γονιδιώματος, δηλαδή στον προσδιορισμό του ποσοστού των δομικών και ρυθμιστικών γονιδίων, στον προσδιορισμό του ποσοστού των επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών κ.ά.
- Στην κατανόηση της λειτουργίας των γονιδίων.
- Στην παραγωγή φαρμακευτικών προϊόντων.



16. Πώς παραγόταν παλαιότερα η ινσουλίνη;

Η ινσουλίνη είναι η ορμόνη που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία των διαβητικών ατόμων. Πριν από το 1982 οι κύριες πηγές ινσουλίνης ήταν το πάγκρεας από χοίρους και από βοοειδή. Η ινσουλίνη παραγόταν από την εκχύλιση αυτών των ιστών με μια δαπανηρή και πολύπλοκη διαδικασία και επιπλέον, επειδή είχε μικρές διαφορές στη σύσταση των αμινοξέων της από την ανθρώπινη, προκαλούσε αλλεργικές αντιδράσεις.

Σήμερα η ανθρώπινη ινσουλίνη παράγεται από γενετικώς τροποποιημένα βακτήρια και ζώα (βλέπε κεφ. 9) σε μεγάλες ποσότητες χάρη στην ανάπτυξη της Γενετικής Μηχανικής.

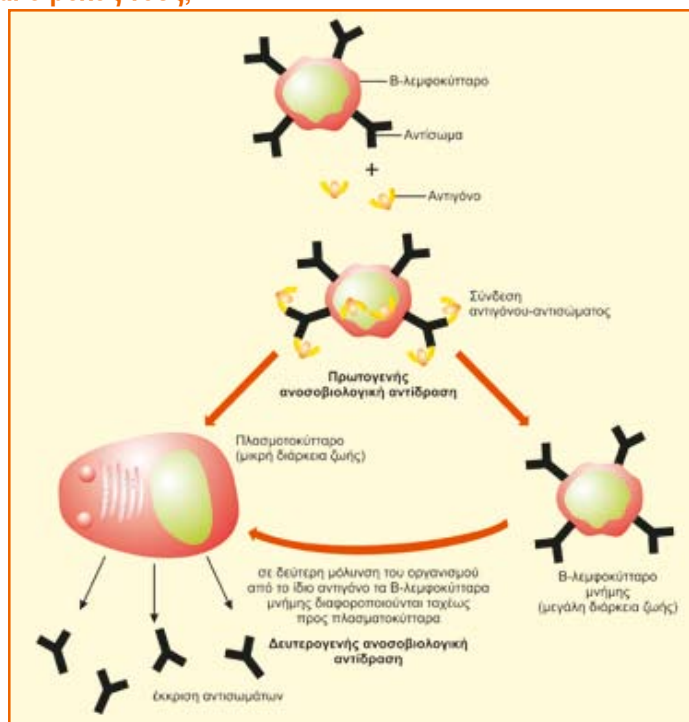
17. Ποιος είναι ο ρόλος των ιντερφερονών και με ποια διαδικασία παράγονται σήμερα;

Οι ιντερφερόνες είναι αντιικές πρωτεΐνες, που παράγονται από κύτταρα που έχουν μολυνθεί από ιούς. Οι πρωτεΐνες αυτές επάγουν την παραγωγή άλλων πρωτεϊνών από τα γειτονικά υγιή κύτταρα οι οποίες εμποδίζουν τον πολλαπλασιασμό των ιών σ' αυτά.

Οι ιντερφερόνες έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον ως αντιικοί και πιθανόν ως αντικαρκινικοί παράγοντες. Παράγονται σε ελάχιστες ποσότητες στο σώμα και γι' αυτό δεν ήταν ευρεία η χρήση τους στη θεραπεία ασθενειών. Όμως, μετά την κλωνοποίηση ορισμένων γονιδίων ιντερφερονών, είναι σήμερα δυνατή η παραγωγή τους σε μεγάλες ποσότητες από γενετικώς τροποποιημένα βακτήρια και ζώα χάρη στην τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA.

18. Από ποια κύτταρα του οργανισμού μας παράγονται τα αντισώματα του ανοσοποιητικού συστήματος και ποιος είναι ο ρόλος τους;

Τα αντισώματα είναι πρωτεϊνικά μόρια που παράγονται στον οργανισμό μας σε μεγάλες ποσότητες από τα πλασματοκύτταρα (διαφοροποιημένα Β-λεμφοκύτταρα) του ανοσοποιητικού μας συστήματος, όταν ένα αντιγόνο (παθογόνος μικροοργανισμός, ιός ή ξένο υλικό) προσβάλλει τον οργανισμό. Τα αντισώματα μπαίνουν στο κυκλοφορικό σύστημα (χυμική ανοσία) και αντιδρώντας με το αντιγόνο το εξουδετερώνουν (βλέπε αντίστοιχους όρους).





19. Γιατί χρησιμοποιούνται μονοκλωνικά αντισώματα στην επιλογή οργάνων συμβατών για μία μεταμόσχευση;

Στην επιφάνεια των εμπύρηνων κυττάρων μας, υπάρχουν πρωτεΐνες που ονομάζονται αντιγόνα ιστοσυμβατότητας, ο συνδυασμός των οποίων είναι χαρακτηριστικός και μοναδικός για κάθε άτομο. Σε ορισμένες παθολογικές καταστάσεις κρίνεται απαραίτητη η μεταμόσχευση ιστών ή οργάνων για την επιβίωση ενός ατόμου. Ωστόσο, στην περίπτωση που τα αντιγόνα ιστοσυμβατότητας των μοσχευμάτων (ιστών ή οργάνων) του δότη παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές με αυτά του δέκτη τότε δεν είναι δυνατή η αποδοχή του μοσχεύματος από τον δέκτη.

Ο έλεγχος αυτός των μοσχευμάτων πραγματοποιείται με τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων τα οποία αναγνωρίζουν τα αντιγόνα ιστοσυμβατότητας του δέκτη και του δότη. Τα αντιγόνα ιστοσυμβατότητας λειτουργούν ως αντιγονικοί καθοριστές, έτσι τα μονοκλωνικά αντισώματα χάρη στην ικανότητά τους να αναγνωρίζουν ένα μόνο είδος αντιγονικού καθοριστή το καθένα, ελέγχουν τη συμβατότητα των οργάνων των δωρητών με τον οργανισμό του δέκτη.

20. Γιατί η γονιδιακή θεραπεία που γίνεται στο γονιδίωμα σωματικών κυττάρων δε μεταβιβάζεται στους απογόνους; Σε ποια περίπτωση μπορεί να μεταβιβαστεί στους απογόνους και να είναι μόνιμη;

Με τις μεθόδους της γονιδιακής θεραπείας δε γίνεται υποκατάσταση της λειτουργίας του μεταλλαγμένου γονιδίου σε όλα τα κύτταρα του οργανισμού αλλά μόνο σε ορισμένα κύτταρα-στόχους (σωματικά κύτταρα). Συνεπώς το αποτέλεσμα της γονιδιακής θεραπείας δε μεταβιβάζεται στους απογόνους. Η γονιδιακή θεραπεία μίας ασθένειας σε ένα άτομο θα ήταν δυνατό να είναι κληρονομήσιμη μόνο αν τα κύτταρα-στόχοι που θα δεχόταν το φυσιολογικό αλληλόμορφο του γονιδίου, ήταν τα μειοκύτταρα του ατόμου στο οποίο εφαρμόστηκε η γονιδιακή θεραπεία ή οι γαμέτες του ή εάν εφαρμοζόταν στο ζυγωτό κύτταρο του οργανισμού. Όπως γνωρίζουμε οι γαμέτες δημιουργούνται μετά από μείωση που υφίστανται ειδικά κύτταρα του οργανισμού μας, τα μειοκύτταρα.

Η γονιδιακή θεραπεία, όπως ακριβώς και μία μετάλλαξη σε ένα σωματικό κύτταρο, δεν κληρονομείται εφόσον δε συμβαίνει στους γαμέτες ή στα κύτταρα που θα δώσουν τους γαμέτες (μειοκύτταρα).

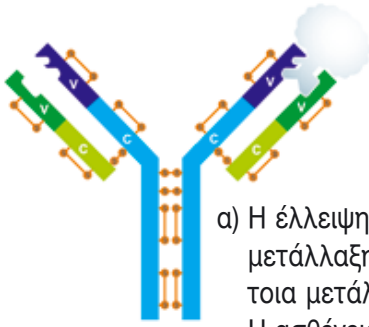
B. ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ - ΕΡΓΑΣΙΕΣ

1. Η γονιδιακή θεραπεία εφαρμόστηκε για πρώτη φορά το 1990 σε ένα κοριτσάκι, που έπασχε από ανεπάρκεια του ανοσοποιητικού συστήματος εξαιτίας της έλλειψης του ενζύμου ADA.

α) Πού οφείλεται η έλλειψη αυτή;

β) Ποιες είναι οι συνέπειες από την έλλειψη του ενζύμου ADA;

γ) Να περιγράψετε τη διαδικασία που ακολουθείται κατά τη γονιδιακή θεραπεία της ADA.



- α) Η έλλειψη του ενζύμου απαμινάσης της αδενοσίνης (ADA) οφείλεται σε υπολειπόμενη μετάλλαξη του γονιδίου που κωδικοποιεί το ένζυμο αυτό. Το γονίδιο έχει υποστεί τέτοια μετάλλαξη που είτε δεν εκφράζεται είτε κωδικοποιεί ένα μη-λειτουργικό προϊόν. Η ασθένεια που οφείλεται σε έλλειψη του ενζύμου ADA κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο κληρονόμησης οπότε νοσούν τα άτομα που είναι ομόζυγα για το υπολειπόμενο παθολογικό αλληλόμορφο.
- β) Άτομα που εμφανίζουν έλλειψη του ενζύμου ADA είναι ομόζυγα για το υπολειπόμενο παθολογικό αλληλόμορφο του γονιδίου που κωδικοποιεί αυτό το ένζυμο και εμφανίζουν ανεπάρκεια του ανοσολογικού συστήματος. Το ένζυμο ADA μετέχει στο μεταβολισμό των πουρινών στα κύτταρα του μυελού των οστών που αποτελεί το κέντρο της αιμοποίησης. Τα λευκά αιμοσφαίρια, ορισμένα από τα οποία είναι Β-λεμφοκύτταρα που διαφοροποιούνται στο μυελό των οστών συνιστούν μέρος του μηχανισμού ειδικής άμυνας του οργανισμού μας. Οι ασθενείς πάσχουν από χρόνιες μολύνσεις, έχουν προδιάθεση για ανάπτυξη καρκίνου σε πολύ μικρή ηλικία και πολλοί πεθαίνουν ύστερα από λίγους μήνες ζωής.
- γ) Η διαδικασία που ακολουθείται στη γονιδιακή θεραπεία της παραπάνω ασθένειας είναι η εξής:
- Λεμφοκύτταρα του ασθενούς παραλαμβάνονται και πολλαπλασιάζονται σε κυτταροκαλλιέργειες.
 - Το φυσιολογικό γονίδιο της απαμινάσης της αδενοσίνης ενσωματώνεται σε ένα ιό-φορέα (ο οποίος έχει καταστεί αβλαβής) με τις τεχνικές του ανασυνδυασμένου DNA.
 - Ο γενετικά τροποποιημένος ιός εισάγεται στα λεμφοκύτταρα.
 - Τα γενετικά τροποποιημένα λεμφοκύτταρα εισάγονται με ενδοφλέβια ένεση στην ασθενή και παράγουν το ένζυμο ADA.

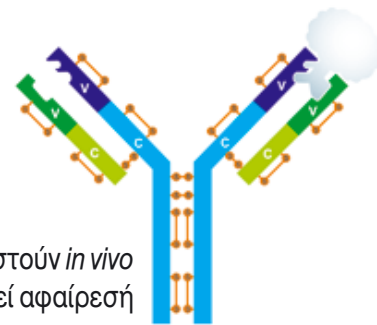
Βέβαια τα τροποποιημένα λεμφοκύτταρα δε ζουν για πάντα μέσα στον οργανισμό- δηλαδή η θεραπεία δεν είναι μόνιμη- και χρειάζεται συνεχής έγχυση τέτοιων κυττάρων. Όμως, όπως στην περίπτωση των διαβητικών, τα άτομα μπορούν να ζουν φυσιολογικά, κάνοντας σε τακτικά χρονικά διαστήματα αυτή τη θεραπεία (βλέπε και αντίστοιχο ένθετο).

2. Χρησιμοποιώντας τις γνώσεις σας από τη Γενετική Μηχανική, να περιγράψετε τον τρόπο με τον οποίο θα βοηθούσατε να θεραπευθεί ένα άτομο που πάσχει από μεσογειακή αναιμία.

Η μεσογειακή αναιμία οφείλεται σε έλλειψη των α ή β αλυσίδων των αιμοσφαιρινών. Η ασθένεια είναι μονογονιδιακή και ακολουθεί αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας. Τα γονίδια που κωδικοποιούν τις αλυσίδες α ή β των αιμοσφαιρινών έχουν χαρτογραφηθεί και είναι δυνατή η απομόνωση και η κλωνοποίησή τους. Γνωρίζουμε ότι τα γονίδια α ή β εκφράζονται στα πρόδρομα ερυθροκύτταρα, τα οποία είναι εμπύρνα και κωδικοποιούν τις αλυσίδες α ή β αντίστοιχα των αιμοσφαιρινών, που υπάρχουν στα απύρνα ώριμα ερυθρά αιμοσφαίρια.

Τα πρόδρομα ερυθροκύτταρα απαντούν στο μυελό των οστών ενώ τα απύρνα ώριμα ερυθρά αιμοσφαίρια κυκλοφορούν στο αίμα.

Με βάση τα παραπάνω, η γονιδιακή θεραπεία της ασθένειας είναι δυνατή με ένθεση του φυσιολογικού αλληλομόρφου του γονιδίου που ευθύνεται για τη νόσο στα πρόδρομα ερυ-



θρά αιμοσφαίρια του ασθενούς στο μυελό των οστών του.

Τα εμπύρηννα πρόδρομα ερυθροκύτταρα του μυελού των οστών μπορούν να υποστούν *in vivo* γονιδιακή θεραπεία, εφόσον δεν αφαιρεθούν από το σώμα. Εάν πραγματοποιηθεί αφαίρεσή τους από το σώμα, τότε είναι δυνατή η *ex vivo* γονιδιακή θεραπεία.

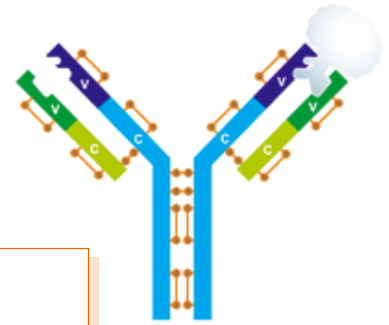
Ωστόσο, τα παραπάνω δεν αναφέρονται στην ύλη του σχολικού βιβλίου της Βιολογίας Γ' Λυκείου Θετικής Κατεύθυνσης, επομένως βασιζόμενοι στα δεδομένα του σχολικού βιβλίου μπορούμε να πούμε ότι για τη γονιδιακή θεραπεία της μεσογειακής αναιμίας θα ακολουθήσουμε *ex vivo* θεραπεία, αφού η ασθένεια αφορά κύτταρα του αιμοποιητικού συστήματος που μπορούν να τροποποιούνται γενετικά, να αναπτύσσονται σε κυτταροκαλλιέργειες και να εισάγονται με ενδοφλέβια ένεση ξανά στον οργανισμό.

Η διαδικασία που θα ακολουθήσουμε λοιπόν για τη γονιδιακή θεραπεία της μεσογειακής αναιμίας είναι η εξής:

- Πρόδρομα ερυθροκύτταρα παραλαμβάνονται από τον ερυθρό μυελό των οστών και πολλαπλασιάζονται σε κυτταροκαλλιέργεια.
- Το φυσιολογικό επικρατές αλληλόμορφο του γονιδίου α ή β ανάλογα με την αιτία της μεσογειακής αναιμίας ενσωματώνεται σε έναν ιό-φορέα (ο οποίος έχει καταστεί αβλαβής) με τεχνικές της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA.
- Ο γενετικά τροποποιημένος ιός εισάγεται στα πρόδρομα εμπύρηννα-ερυθροκύτταρα.
- Τα γενετικά τροποποιημένα κύτταρα εισάγονται με ενδοφλέβια ένεση στον ασθενή και κωδικοποιούν τις φυσιολογικές αλυσίδες των αιμοσφαιρινών σε επαρκείς ποσότητες (βλέπε επίσης εικ. 8.16).



ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ ΚΑΤΑΝΟΗΣΗΣ



1. Μία φαρμακοβιομηχανία σκοπεύει να παράγει μία φαρμακευτική πρωτεΐνη. Για τον σκοπό αυτό πρόκειται να δημιουργήσει γενετικώς τροποποιημένα βακτήρια, τα οποία θα αναπτύξει σε βιοαντιδραστήρα. Ποια είναι τα ένζυμα που θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν;
2. Προτείνετε δύο τρόπους για την βιοτεχνολογική παραγωγή ινσουλίνης.
3. Όταν ένας διαβητικός δεν κάνει χρήση της ινσουλίνης πρέπει να αποφεύγει τροφές πλούσιες σε υδατάνθρακες. Γιατί υπάρχει αυτός ο περιορισμός;
4. Ποια είναι τα πλεονεκτήματα του σημερινού τρόπου παραγωγής των ιντερφερόνων;
5. Προκειμένου να παράγουμε φαρμακευτικές πρωτεΐνες από βακτήρια εισάγουμε με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής το γονίδιο της ανθρώπινης πρωτεΐνης σε πλασμίδιο και με αυτό μετασχηματίζουμε βακτηριακά κύτταρα, τα οποία εκφράζουν σε μεγάλη ποσότητα τη φαρμακευτική πρωτεΐνη. Με ποιο τρόπο γίνεται δυνατή η έκφραση ενός ευκαρυωτικού γονιδίου σε προκαρυωτικό κύτταρο;
6. Ο όρος αντισώματα είναι γενικότερος του όρου μονοκλωνικά αντισώματα. Τι εννοούμε σε κάθε περίπτωση;
7. Ο όρος αντιγόνο είναι γενικότερος του όρου αντιγονικός καθοριστής. Τι εννοούμε σε κάθε περίπτωση;
8. Ένα μικροβιακό κύτταρο μόλυνε ένα άτομο. Το μικρόβιο φέρει στην κυτταροπλασματική μεμβράνη του τρεις πρωτεΐνες που λειτουργούν ως αντιγονικοί καθοριστές. Πόσα είδη μονοκλωνικών αντισωμάτων θα παράγει το άτομο εναντίον αυτού του μικροβίου;
9. Ένα άτομο υποβλήθηκε σε εξετάσεις για τον προσδιορισμό της ομάδας αίματός του.
 - α. Με ποιον τρόπο μπορεί να γίνει αυτή η εξέταση;
 - β. Ο οργανισμός αυτού του ατόμου ποια αντισώματα δεν παράγει αν διαπιστωθεί ότι είναι ομάδας αίματος AB;
10. Στην περίπτωση που νοσούμε από μία ιογενή λοίμωξη είναι δύσκολο να νοσήσουμε ταυτόχρονα και από μία άλλη διαφορετική ίωση. Μπορείτε να δώσετε μία εξήγηση γι' αυτό;



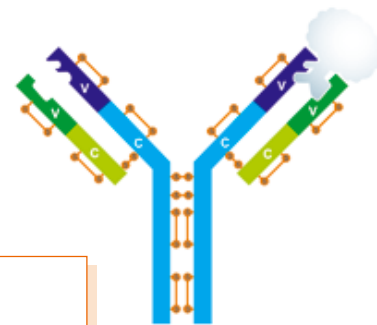
11. Προκειμένου να παράγουμε ινσουλίνη ή ιντερφερόνες σε μεγάλες ποσότητες, χρησιμοποιούμε την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA και δημιουργούμε γενετικά τροποποιημένα βακτήρια που φέρουν και εκφράζουν τα αντίστοιχα ανθρώπινα γονίδια. Μπορείτε να δώσετε μία εξήγηση γιατί δεν κάνουμε το ίδιο και για την παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων; Αντίθετα για την παραγωγή τους χρησιμοποιούμε την τεχνολογία των υβριδωμάτων.
12. Παρατηρώντας την εικόνα του σχολικού βιβλίου για τη δημιουργία των υβριδωμάτων, απαντήστε στο ερώτημα τί είναι μύελωμα.
13. Στα πλαίσια ενός ερευνητικού προγράμματος για την περιορισμένη ανάπτυξη των παιδιών, προσδιορίζεται ποσοτικά η ορμόνη IGF I. Μπορείτε να σχεδιάσετε τα βήματα για την παραγωγή των μονοκλωνικών αντισωμάτων, που θα χρησιμοποιηθούν για την μέτρηση της ορμόνης αυτής στα παιδιά;
14. Πώς θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν τα αντισώματα στη διαδικασία προσδιορισμού της αποικίας που εκφράζει το ετερόλογο επιθυμητό γονίδιο μεταξύ των βακτηριακών κλώνων μίας βιβλιοθήκης; Ποια εναλλακτική τεχνική ανίχνευσης ενός επιθυμητού γονιδίου γνωρίζετε;
15. Με ποιους τρόπους μπορούν να φανούν χρήσιμοι οι ιοί στην τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA;
16. Με ποιο τρόπο σήμερα συμβάλλει η Βιοτεχνολογία στην καταπολέμηση του καρκίνου; Ποια εφαρμογή της Βιοτεχνολογίας γνωρίζετε που μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη καρκίνου, ποιες άλλες δυσκολίες εμφανίζει ακόμη η εφαρμογή αυτή;
17. Ποιες είναι οι απαιτούμενες προϋποθέσεις για την εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας εναντίον μίας νόσου;
18. Από τι εξαρτάται η επιλογή του τύπου της γονιδιακής θεραπείας που θα ακολουθηθεί για μία νόσο;
19. Με ποιον τρόπο θα μπορούσε να θεραπευτεί, με γονιδιακή θεραπεία, ένα άτομο που νοσεί από δρεπανοκυτταρική αναιμία;
20. Προτείνετε τρεις διαφορετικούς τρόπους θεραπείας μίας μεταβολικής υπολειπόμενης νόσου.
21. Ποιο ανθρώπινο χρωμόσωμα πιστεύετε ότι χαρτογραφήθηκε πρώτο με μεθόδους κλασικής Γενετικής;



- 22.** Στην περίπτωση των γενετικών νοσημάτων που ακολουθούν υπολειπόμενο τρόπο κληρονομής και είναι μονογονιδιακοί χαρακτήρες, η γονιδιακή θεραπεία στηρίζεται στην εισαγωγή του επικρατούς φυσιολογικού αλληλόμορφου στα κύτταρα του ιστού που εκφράζεται το γονίδιο της νόσου. Στηριζόμενοι στα δεδομένα του σχολικού βιβλίου, μπορούμε με τη γονιδιακή θεραπεία να αντιμετωπίσουμε μία ασθένεια που κληρονομείται με επικρατή τρόπο κληρονομής;
- 23.** Το AIDS, όπως είναι γνωστό, δεν αποτελεί κληρονομική ασθένεια, αλλά επίκτητο νόσημα. Παρόλο λοιπόν που το AIDS, δεν είναι γενετικό νόσημα, θεωρητικά θα είναι δυνατή η θεραπεία του με τη γονιδιακή θεραπεία. Προτείνετε μια στρατηγική που θα πρέπει να ακολουθήσουμε ώστε να γίνει δυνατό κάτι τέτοιο.
- 24.** Ενώ ο αριθμός των γονιδίων μας είναι περίπου 25.000, πώς μπορεί να εξηγηθεί το γεγονός ότι ο αριθμός των πρωτεϊνών που διαθέτουμε είναι κατά πολλές χιλιάδες φορές μεγαλύτερος;
- 25.** Ο αριθμός των διαφορετικών αντισωμάτων που μπορεί να συνθέσει ο ανθρώπινος οργανισμός είναι πολύ μεγάλος ($>10^9$). Πώς μπορεί να είναι δυνατό κάτι τέτοιο, με δεδομένο τον συγκριτικά μικρό αριθμό γονιδίων που διαθέτουμε;



ΑΠΑΝΤΗΣΕΙΣ ΣΧΟΛΙΚΟΥ ΒΙΒΛΙΟΥ



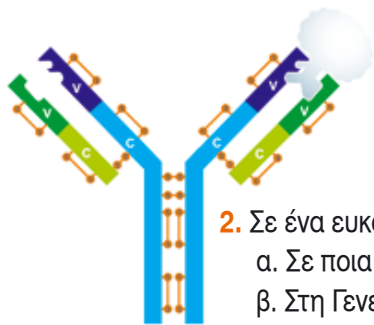
1. Ποια συστατικά χρειάζονται, για να παραχθεί ανθρώπινη ινσουλίνη από κύτταρα *E. coli*;

Η πορεία που πρέπει να ακολουθήσουμε, είναι:

- Λήψη κυττάρων υγιούς ανθρώπινου παγκρέατος, στα οποία υπερεκφράζεται το γονίδιο που κωδικοποιεί την ινσουλίνη.
- Απομόνωση ολικού ώριμου mRNA από το κυτταρόπλασμα των παγκρεατικών κυττάρων.
- Επιλογή του ώριμου mRNA της ινσουλίνης με τη χρήση κατάλληλου ανιχνευτή.
- Κατασκευή υβριδικού μορίου mRNA-cDNA με τη χρήση του ένζυμου αντίστροφη μεταγραφάση και την παρουσία ελεύθερων δεοξυνουκλεοτιδίων.
- Αποδιάταξη του υβριδικού μορίου και καταστροφή του mRNA με τη χρήση αλκαλικού διαλύματος ή θέρμανσης.
- Κατασκευή δίκλωνου μορίου DNA, με μήτρα το cDNA, με τη βοήθεια της DNA πολυμεράσης και την παρουσία ελεύθερων δεοξυνουκλεοτιδίων.
- Πολλαπλασιασμός του δίκλωνου μορίου με τη μέθοδο PCR, ώστε να παραχθούν πολλά αντίγραφα.
- Προσθήκη κολλωδών άκρων στα δίκλινα μόρια DNA.
- Πέψη των πλασμιδίων με την χρήση περιοριστικής ενδονουκλεάσης.
- Ανασυνδυασμός των πλασμιδίων με το δίκλινο μόριο DNA, με τη χρήση DNA δεσμάσης.
- Μετασχηματισμός υγρής βακτηριακής καλλιέργειας με τη χρήση κατάλληλων χημικών ουσιών.
- Επιλογή των μετασχηματισμένων με το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο βακτηρίων, σε στέρεο θρεπτικό υλικό με τη βοήθεια κατάλληλων αντιβιοτικών.
- Ανάπτυξη των βακτηρίων με το γονίδιο της ανθρώπινης ινσουλίνης σε βιοαντιδραστήρα.
- Συλλογή της προϊνσουλίνης με κατάλληλες τεχνικές διαχωρισμού.
- Εργαστηριακή μετατροπή της προϊνσουλίνης σε ινσουλίνη με τη χρήση κατάλληλου ένζυμου.

Συνοπτικά λοιπόν για να παραχθεί ανθρώπινη ινσουλίνη από κύτταρα *E. coli* χρειάζονται:

mRNA από κύτταρα ανθρώπινου παγκρέατος, ανιχνευτής, ένζυμο (αντίστροφη μεταγραφάση, DNA δεσμάση, ένζυμο για τη μετατροπή της προϊνσουλίνης σε ινσουλίνη), φορέας κλωνοποίησης (π.χ. πλασμίδιο), κύτταρα *E. coli*, χημικές ουσίες για τον μετασχηματισμό, θρεπτικό υλικό, βιοαντιδραστήρας, αντιβιοτικά, κατάλληλα υλικά για τον διαχωρισμό και απαραίτητα συστατικά για την αντίδραση PCR, κατάλληλος εργαστηριακός εξοπλισμός.



2. Σε ένα ευκαρυωτικό κύτταρο παράγεται ινσουλίνη:

- α. Σε ποια θέση στο κύτταρο γίνονται η μεταγραφή και η μετάφραση;
- β. Στη Γενετική Μηχανική η ινσουλίνη παράγεται από mRNA και όχι από DNA. Γιατί;

α. Η μεταγραφή γίνεται στον πυρήνα του κυττάρου και η μετάφραση γίνεται στα ριβοσώματα, που βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου.

β. Η παραγωγή ινσουλίνης στη Γενετική Μηχανική (από γενετικώς τροποποιημένα βακτήρια) γίνεται από mRNA και όχι από DNA. Αυτό συμβαίνει γιατί έτσι εξασφαλίζεται η απομόνωση μόνο των αλληλουχιών του ευκαρυωτικού γονιδίου που απαιτούνται για τη μετάφραση του από το προκαρυωτικό κύτταρο χωρίς την παρουσία των εσωνίων. Μην ξεχνάμε ότι τα βακτήρια δε διαθέτουν μηχανισμούς μετα-μεταγραφικής ρύθμισης.

☑ **ΣΗΜΕΙΩΣΗ:** Σε όλα τα κύτταρα όλων των οργανισμών, όλες οι πρωτεΐνες, παράγονται πάντα από mRNA, το οποίο αποτελεί το κινητό αντίγραφο της γενετικής πληροφορίας που βρίσκεται αποθηκευμένη στο γονίδιο (DNA). Μία σωστότερη διατύπωση του ερωτήματος β θα ήταν: **Στην παραγωγή της ινσουλίνης με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής, το γονίδιο της ινσουλίνης απομονώνεται από cDNA βιβλιοθήκη και όχι από γονιδιωματική, γιατί;**

3. Παρ' ότι ο ποντικός και ο αρουραίος δεν είναι κτηνοτροφικής σημασίας ζώα, καταναλώνονται υπέρογκα ποσά για τη χαρτογράφηση του γονιδιώματός τους. Γιατί πιστεύετε ότι συμβαίνει κάτι τέτοιο;

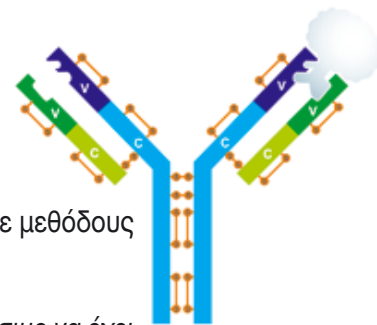
Τόσο το ποντίκι όσο και ο αρουραίος αποτελούν κλασικά πειραματόζωα για την επιστήμη, διότι:

- Είναι θηλάστικα, όπως και ο άνθρωπος.
- Είναι μικρά σε μέγεθος ζώα και έτσι καταλαμβάνουν περιορισμένο χώρο στο εργαστήριο, όπου μπορούν να εκτραφούν με μικρό κόστος.
- Έχουν μικρό χρόνο γενεάς και σε κάθε γενεά δίνουν πολλούς απογόνους.

Χρησιμοποιούνται, για:

- Για τη μελέτη της οργάνωσης και της λειτουργίας του γενετικού υλικού των ανώτερων θηλαστικών.
- Για τον έλεγχο των νέων ιατρικών εφαρμογών (φάρμακα κ.ά.).
- Για την εργαστηριακή παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων.
- Για την μελέτη του γονιδιώματός τους που θα συμβάλει στην αποκάλυψη των εξελικτικών σχέσεων που υπάρχουν μεταξύ των ειδών.

Στο παρελθόν τα ποντίκια έχουν βοηθήσει καθοριστικά την πρόοδο της επιστήμης της Βιολογίας. Θυμηθείτε τα κλασικά πειράματα του Griffith και της ομάδας του Avery.



4. Αναφέρετε τα πλεονεκτήματα παραγωγής ανθρώπινης αυξητικής ορμόνης με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής σε σχέση με την εξαγωγή της από πτώματα.

✓ **ΣΗΜΕΙΩΣΗ:** Για να απαντήσει ο μαθητής σε αυτήν την ερώτηση είναι χρήσιμο να έχει διαβάσει προηγουμένως το μπλε ένθετο στην σελίδα 118 του σχολικού βιβλίου.

Πριν από την ανάπτυξη της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA, η παραγωγή ανθρώπινης αυξητικής ορμόνης γινόταν με την εξαγωγή της από εγκεφάλους ανθρώπινων πτωμάτων, με αποτέλεσμα να ελλοχεύει κίνδυνος μετάδοσης ασθενειών από το δοτή στο δέκτη ή ανάπτυξη αλλεργικής αντίδρασης στο δέκτη. Επίσης, αυτός ο τρόπος είχε ως αποτέλεσμα, η ορμόνη να είναι διαθέσιμη σε πολύ μικρές ποσότητες και κατά συνέπεια να στοιχίζει πολύ ακριβά. Το τελευταίο καθιστούσε τη χρήση της απαγορευτική για τα χαμηλά κοινωνικά στρώματα και ασύμφορη για τα πειράματα που θα αποσκοπούσαν στην πληρέστερη κατανόηση της λειτουργίας της. Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA, έδωσε τη δυνατότητα παραγωγής ανθρώπινης αυξητικής ορμόνης σε μεγάλες ποσότητες, με μικρό κόστος και σε καθαρότερη μορφή.

5. Η ινσουλίνη ήταν η πρώτη πρωτεΐνη που παρήχθη με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής. Για ποιο λόγο νομίζετε ότι παρήχθη η ορμόνη αυτή;

Η ινσουλίνη είναι μία ορμόνη που παράγεται από ειδικά κύτταρα του παγκρέατος. Η ορμόνη αυτή ρυθμίζει το μεταβολισμό των υδατανθράκων και ειδικότερα το ποσοστό της γλυκόζης στο αίμα. Η έλλειψη ή η μείωση της ινσουλίνης στον ανθρώπινο οργανισμό οδηγεί στην ασθένεια που ονομάζεται διαβήτης.

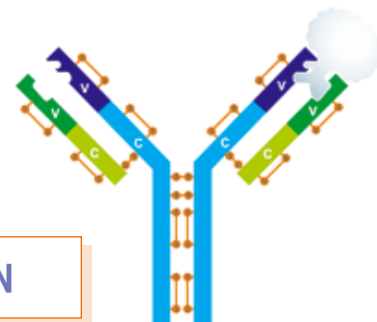
- Επειδή ένας αρκετά μεγάλος αριθμός ανθρώπων νοσεί από διαβήτη, πάνω από 60.000.000 άτομα παγκοσμίως, ήταν αναγκαία η παραγωγή της ινσουλίνης σε μεγάλες ποσότητες με μικρό κόστος και καθαρότερη μορφή.
- Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA παρείχε τις δυνατότητες παραγωγής της ινσουλίνης.

6. Τι είναι τα εμβόλια υπομονάδες;

Τα εμβόλια υπομονάδες αποτελούνται μόνο από πρωτεΐνες ενός παθογόνου οργανισμού, που έχουν αντιγονική ιδιότητα και προκαλούν ανοσολογική αντίδραση στον οργανισμό που προσβάλλει ο παθογόνος οργανισμός. Γονίδια του παθογόνου οργανισμού που κωδικοποιούν την πρωτεΐνη με την αντιγονική δράση, εισάγονται σε κυτταροκαλλιέργειες και παράγουν την πρωτεΐνη αυτή σε μεγάλες ποσότητες. Στη συνέχεια η πρωτεΐνη καθαρίζεται και χρησιμοποιείται ως εμβόλιο.



ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΓΙΑ ΤΗ ΛΥΣΗ ΤΩΝ ΑΣΚΗΣΕΩΝ



Οι ασκήσεις αυτού του κεφαλαίου μπορεί να αφορούν:

- ✓ Ασκήσεις που σχετίζονται με τη δημιουργία γενετικά τροποποιημένων βακτηρίων για την παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών.

Για τη λύση αυτών των ασκήσεων απαιτείται η καλή γνώση των προηγούμενων κεφαλαίων 4 και 7. Βλέπε μεθοδολογία για τη λύση των ασκήσεων των κεφαλαίων 4 και 7.

- Για την έκφραση ενός ανθρώπινου (ευκαρυωτικού) γονιδίου σε προκαρυωτικό οργανισμό, θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί πλασμίδιο φορέας-έκφρασης, στο οποίο θα ενθέθει το ανθρώπινο γονίδιο. Ένα πλασμίδιο φορέας κλωνοποίησης μπορεί να λειτουργήσει ως φορέας έκφρασης όταν διαθέτει μπροστά από τη θέση ένθεσης του ανθρώπινου γονιδίου έναν ισχυρό υποκινητή που υπερεκφράζεται στο βακτήριο ξενιστή. Ο υποκινητής αυτός μπορεί να είναι υποκινητής κάποιου γονιδίου του ξενιστή ή κάποιου ιϊκού γονιδίου ενός ιού, που προσβάλλει το ξενιστή.
- Δεδομένου ότι τα βακτήρια δεν επιτελούν μετα-μεταγραφικές τροποποιήσεις θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί cDNA βιβλιοθήκη για την απομόνωση του ανθρώπινου γονιδίου.
- Δεδομένου επίσης ότι τα βακτήρια δεν επιτελούν τις εκτεταμένες μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις των ευκαρυωτικών οργανισμών θα πρέπει, αν αυτό είναι αναγκαίο, να επεξεργαστούμε *in vitro* την παραγόμενη από τα βακτήρια πρόδρομη μορφή της ανθρώπινης πρωτεΐνης, ώστε αυτή να καταστεί λειτουργική.

- ✓ Ασκήσεις που σχετίζονται με τις ιδιότητες και τις χρήσεις των αντισωμάτων.

- Τα αντισώματα εμφανίζουν απόλυτη εξειδίκευση. Κάθε μονοκλωνικό αντίσωμα συνδέεται αποκλειστικά με ένα μόνο είδος αντιγονικού καθοριστή.
- Τα αντισώματα χρησιμοποιούνται ως διαγνωστικά και θεραπευτικά.

- ✓ Ασκήσεις που σχετίζονται με τις γενετικές ασθένειες και τη γονιδιακή θεραπεία. Για τη λύση αυτών των ασκήσεων απαιτείται καλή γνώση των προηγούμενων κεφαλαίων 5 και 6. Βλέπε μεθοδολογία για τη λύση των ασκήσεων των κεφαλαίων 5 και 6.

- Οι γενετικές ασθένειες οφείλονται σε μεταλλάξεις.
- Οι γενετικές ασθένειες που εξετάζονται είναι συνήθως υπολειπομένες.
- Κατά τη γονιδιακή θεραπεία των γενετικών ασθενειών (εξετάζουμε μόνο υπολειπόμενες νόσους) **δεν γίνεται αντικατάσταση του παθολογικού υπολειπόμενου**



αλληλόμορφου του υπεύθυνου γονιδίου από το φυσιολογικό επικρατές του αλληλόμορφο. Αντίθετα, γίνεται προσθήκη, σε τυχαία θέση σε τυχαίο χρωμόσωμα, του φυσιολογικού επικρατούς αλληλόμορφου του υπεύθυνου για την ασθένεια γονιδίου. Η γονιδιακή θεραπεία εφαρμόζεται σε ομόζυγα άτομα για το υπολειπόμενο παθολογικό αλληλόμορφο που ευθύνεται για τη νόσο.

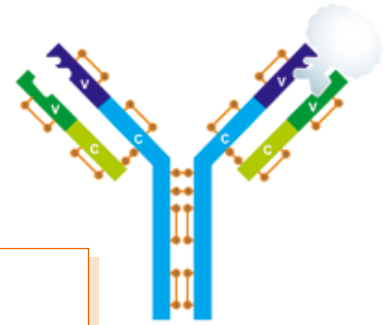
- Οι φορείς (ιοί) που θα χρησιμοποιηθούν για την μεταφορά και ένθεση του φυσιολογικού αλληλόμορφου, πρέπει να είναι ιστο-ειδικοί, δηλαδή να εμφανίζουν εξειδίκευση και να μολύνουν μόνο τα κύτταρα του ιστού που εκφράζεται το γονίδιο που ελέγχει τη νόσο.
- Το φυσιολογικό αλληλόμορφο του γονιδίου απομονώνεται από ένα ομόζυγο άτομο δότη για το φυσιολογικό επικρατές αλληλόμορφο μαζί με τον υποκινητή του, διότι πρόκειται για ανθρώπινο γονίδιο που θα ενθέθει στο γονιδίωμα επίσης ανθρώπινου κυττάρου το οποίο διαθέτει τους κατάλληλους μεταγραφικούς παράγοντες για την μεταγραφή του γονιδίου αυτού.
- Η γονιδιακή θεραπεία εφαρμόζεται αποκλειστικά μόνο σε σωματικά κύτταρα και απαγορεύεται η εφαρμογή της στα μειοκύτταρα και στους γαμέτες. Έτσι, οι γαμέτες ενός ατόμου που νοσεί και έχει υποστεί γονιδιακή θεραπεία φέρουν από ένα αντίγραφο του παθολογικού υπολειπόμενου αλληλόμορφου του γονιδίου που ευθύνεται για τη νόσο.

✓ Ασκήσεις που σχετίζονται με τη χαρτογράφηση γονιδίων. Οι ασκήσεις αυτές θα αναφέρονται σε μεθόδους κλασικής Γενετικής, οπότε απαιτείται καλή γνώση του κεφαλαίου 5.

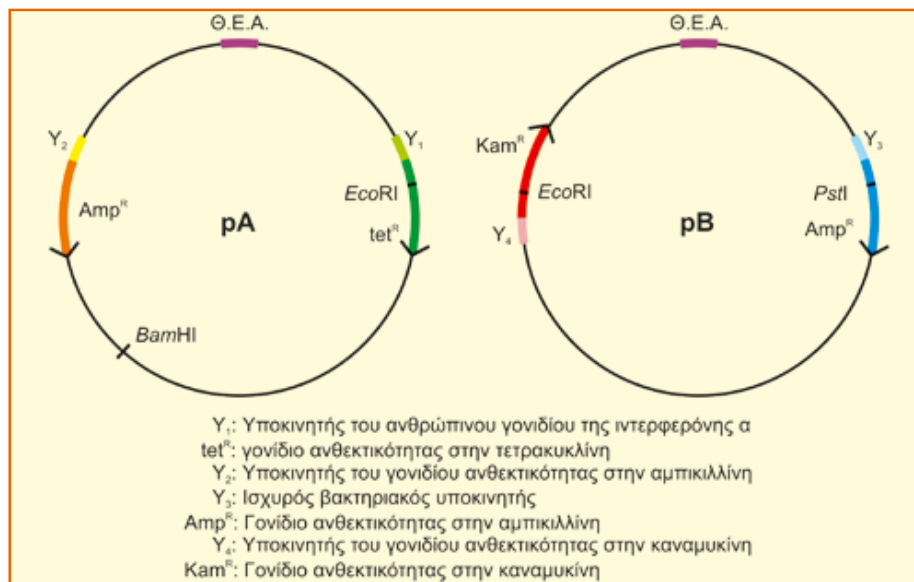
- Τα φυλοσύνδετα γονίδια αναγνωρίζονται εύκολα σε ένα γενεαλογικό δένδρο εξαιτίας του εύκολα αναγνωρίσιμου προτύπου που ακολουθεί η φυλοσύνδετη κληρονομικότητα. Έτσι από ένα γενεαλογικό δένδρο μπορούμε να γνωρίζουμε αν το γονίδιο που ελέγχει τον χαρακτήρα εδράζεται σε φυλετικό ή αυτοσωμικό χρωμόσωμα.
- Με τη βοήθεια των αντισωμάτων και την ανάπτυξη κυττάρων σε ειδικές κυτταροκαλλιέργειες μπορούμε να εντοπίσουμε το χρωμόσωμα στο οποίο εδράζεται το γονίδιο που κωδικοποιεί για ένα συγκεκριμένο πεπτίδιο (βλέπε άσκηση 7).



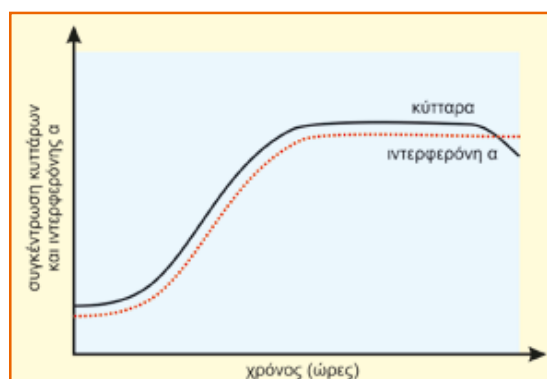
ΑΣΚΗΣΕΙΣ - ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΓΙΑ ΛΥΣΗ



1. Μία φαρμακοβιομηχανία ενδιαφέρεται να παράγει σε μεγάλες ποσότητες την ανθρώπινη ιντερφερόνη α για τη θεραπεία μίας μορφής καρκίνου.
 - α. Ποια μέθοδο θα χρησιμοποιήσει;
 - β. Από ποιον ιστό θα πρέπει να δημιουργηθεί βιβλιοθήκη για την απομόνωση του ανθρώπινου γονιδίου;
 - γ. Τι είδους βιβλιοθήκη θα δημιουργηθεί;
 - δ. Ποιος από τους παρακάτω φορείς κλωνοποίησης θα χρησιμοποιηθεί;



- ε. Ποια περιοριστική ενδονουκλεάση θα χρησιμοποιηθεί;
- στ. Σε πιο αντιβιοτικό εμφανίζουν ανθεκτικότητα τα μετασχηματισμένα βακτήρια;
- ζ. Με βάση το διπλανό διάγραμμα, η ιντερφερόνη α παράγεται από τα βακτήρια κατά τη στατική ή κατά την εκθετική φάση της καλλιέργειας;
- η. Τι είδους καλλιέργεια πρέπει να εφαρμόσει η φαρμακοβιομηχανία, κλειστή ή συνεχή;





2. Τέσσερις καπνιστές υποβάλλονται, στα πλαίσια μίας αντικαπνιστικής έρευνας, σε διαγνωστικό έλεγχο με τη χρήση δύο διαφορετικών αντισωμάτων, τα οποία συνδέονται εκλεκτικά με δύο διαφορετικά καρκινικά αντιγόνα των πνευμονικών κυττάρων. Οι καπνιστές ελέγχονται σε δύο διαφορετικές χρονικές στιγμές, όσο είναι καπνιστές καθώς και μετά από μακρό διάστημα αποχής από το κάπνισμα. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον παρακάτω πίνακα. Η αντίδραση αντισώματος - αντιγόνου σημειώνεται με ✓.

- Ποιος καπνιστής φαίνεται να έχει νοσήσει από καρκίνο του πνεύμονα;
- Ποιος φαίνεται να μην έχει νοσήσει;
- Ποιοι φαίνεται να είχαν νοσήσει αλλά δεν νοσούν πια;

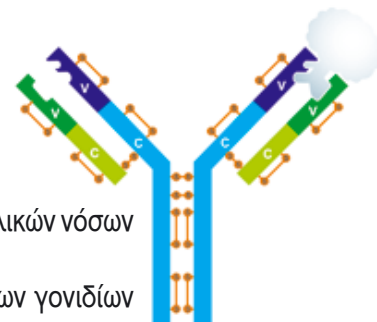
	1 ^{ος} ΑΣΘΕΝΗΣ		2 ^{ος} ΑΣΘΕΝΗΣ		3 ^{ος} ΑΣΘΕΝΗΣ		4 ^{ος} ΑΣΘΕΝΗΣ	
ΑΝΤΙΣΩΜΑ	ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ		ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ		ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ		ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ	
	1 ^η	2 ^η	1 ^η	2 ^η	1 ^η	2 ^η	1 ^η	2 ^η
1 ^ο	✓	–	–	–	✓	✓	–	–
2 ^ο	✓	–	✓	–	✓	✓	–	–

3. Το φυσιολογικό γονίδιο της ADA που εισήχθη με αδενοϊό δεν πέρασε σε όλα τα κύτταρα της ασθενούς που μολύνθηκαν από αυτόν. Εάν η ασθενής αποκτήσει απογόνους, τότε αυτοί έχουν μικρή πιθανότητα να πάσχουν από ανοσοανεπάρκεια. Δώστε μια πιθανή εξήγηση.

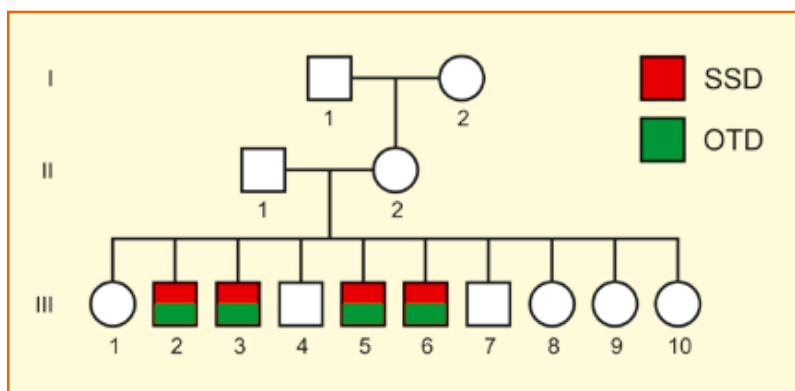
4. Ο ρόλος της ινσουλίνης στον οργανισμό είναι η πρόσδεσή της με μία κατάλληλη πρωτεΐνη υποδοχέα στην επιφάνεια των κυττάρων. Αποτέλεσμα αυτής της πρόσδεσης είναι η ενεργοποίηση ενός μεταβολικού μονοπατιού που οδηγεί σε ελάττωση των επιπέδων της γλυκόζης στο αίμα. Ο διαβήτης έχει δύο τύπους. Ο διαβήτης τύπου Α μπορεί να θεραπευθεί με χορήγηση ινσουλίνης στον ασθενή. Ο διαβήτης τύπου Β όμως δεν θεραπεύεται χορηγώντας ινσουλίνη.

- Ποιος από τους δύο τύπους της ασθένειας πιστεύετε ότι οφείλεται σε μετάλλαξη του γονιδίου της ινσουλίνης;
- Ποια μπορεί να είναι η αιτία για την εμφάνιση διαβήτη τύπου Β;
- Είναι δυνατόν ένας διαβητικός να έχει φυσιολογικό γονότυπο τόσο για το γονίδιο της ινσουλίνης όσο και για όλα τα γονίδια που κωδικοποιούν για τα ένζυμα του μεταβολικού μονοπατιού που επάγει η ινσουλίνη, καθώς και για τον υποδοχέα της;
- Πώς θα μπορούσαμε να διαγνώσουμε αν ένας άνθρωπος νοσεί από διαβήτη τύπου Α;

5. Οι επιστήμονες προσπαθούν να εφαρμόσουν γονιδιακή θεραπεία για την ίαση μίας μορφής καρκίνου. Έστω ότι αυτή η μορφή καρκίνου οφείλεται σε μετάλλαξη ενός μόνο γονιδίου. Πότε θα είναι δυνατή η εφαρμογή της γονιδιακής θεραπείας; Όταν το μεταλλαγμένο γονίδιο είναι ογκοκατασταλτικό ή πρωτο-ογκογονίδιο; Αιτιολογήστε την απάντησή σας.



6. Το παρακάτω γενεαλογικό δένδρο παρουσιάζει την κληρονόμηση δύο μεταβολικών νόσων στον άνθρωπο, της SSD* και της OTD**.
- Na προσδιοριστεί σε ποια χρωμοσώματα βρίσκονται οι γενετικοί τόποι των γονιδίων που ελέγχουν τα ένζυμα που ευθύνονται για τις νόσους.
 - Na βρεθούν οι γονότυποι των ατόμων της οικογένειας.



7. Ανθρώπινα κύτταρα καλλιεργούνται σε ειδικές κυτταροκαλλιέργειες *in vitro*, με αποτέλεσμα μετά από ορισμένες γενεές τα κύτταρα να έχουν χάσει το μεγαλύτερο αριθμό των χρωμοσωμάτων τους. Η απώλεια των χρωμοσωμάτων γίνεται τυχαία. Τα κύτταρα καλλιεργούνται ατομικά δημιουργώντας διαφορετικές κυτταρικές σειρές. Την τυχαία απώλεια των ανθρώπινων χρωμοσωμάτων την χρησιμοποιούμε για να προσδιορίσουμε σε ποιο χρωμόσωμα εδράζονται τα διάφορα γονίδια.
- Δίνονται οι παρακάτω κυτταροκαλλιέργειες Α, Β, Γ στις οποίες πραγματοποιείται έλεγχος παραγωγής έξι πεπτιδίων (α, β, γ, δ, ε, στ). Όταν σε μία κυτταροκαλλιέργεια παράγεται ένα πεπτίδιο τότε σημειώνεται με ✓, διαφορετικά σημειώνεται με -.

κυτταροκαλλιέργεια	υπάρχοντα χρωμοσώματα	πεπτίδια					
		α	β	γ	δ	ε	στ
A	1, 3, 9, 20	✓	-	✓	-	✓	✓
B	1, 3, 10, 22	✓	✓	-	-	✓	✓
Γ	1, 9, 10, 18	-	✓	✓	-	-	✓

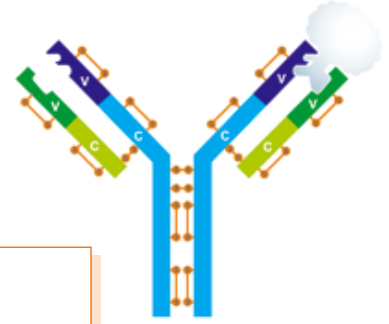
- Na εντοπιστούν τα χρωμοσώματα στα οποία εδράζονται τα γονίδια α, β, γ, δ, ε και στ.
- Με ποιο τρόπο έγινε ο έλεγχος παραγωγής των διαφόρων πεπτιδίων από τα κύτταρα;

* SSD = Ανεπάρκεια της σουλφατάσης των στεροειδών.

**OTD = Ανεπάρκεια της τρανσκαρβαμυλάσης της ορνιθίνης.



ΔΙΑΓΩΝΙΣΜΑ



Ζήτημα 1ο

A. Να σημειώσετε τη σωστή απάντηση.

1. Η χαρτογράφηση γονιδίων:

- α. Δεν μπορεί να γίνει με Μενδελική Γενετική.
- β. Πραγματοποιήθηκε όταν αναπτύχθηκε η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA.
- γ. Είναι ο εντοπισμός του γενετικού τόπου του γονιδίου στα χρωμοσώματα.
- δ. Πραγματοποιείται με ειδικά Γεωγραφικά συστήματα.

2. Οι γενετικές ασθένειες:

- α. Όλες οδηγούν σε διανοητική καθυστέρηση, όπως η PKU.
- β. Οι μισές από αυτές οδηγούν στο θάνατο σε παιδική ηλικία.
- γ. Το ένα πέμπτο από αυτές οφείλονται σε αλληλεπίδραση δύο ή περισσότερων γονιδίων.
- δ. Οφείλονται συνήθως στη μετάλλαξη ενός φυσιολογικού αλληλόμορφου γονιδίου.

3. Κατά την ex vivo γονιδιακή θεραπεία:

- α. Οι φορείς του φυσιολογικού γονιδίου εισάγονται κατευθείαν στον οργανισμό.
- β. Απαιτείται συνεχής έκχυση γενετικά τροποποιημένων κυττάρων στον ασθενή.
- γ. Είναι μόνιμη.
- δ. Τα κύτταρα του ασθενούς τροποποιούνται εντός του οργανισμού του.

4. Τα μονοκλωνικά αντισώματα, φυσιολογικά παράγονται:

- α. Από όλους τους ανώτερους πολυκύτταρους ευκαρυωτικούς οργανισμούς.
- β. Μόνο από τον άνθρωπο.
- γ. Από υβριδώματα.
- δ. Από ένα κλώνο Β-λεμφοκυττάρων.

5. Τα αντισώματα δεν μπορούν να βρουν εφαρμογή:

- α. Ως ιχνηθετημένοι ανιχνευτές πρωτεϊνών.
- β. Ως ιχνηθετημένοι ανιχνευτές νουκλεϊκών οξέων.
- γ. Στην πρόληψη από μικροβιακές λοιμώξεις.
- δ. Σε πολύ ευαίσθητες βιοχημικές αναλύσεις.

(Μόρια 15)



B. Να χαρακτηρίσετε με σωστό (Σ) ή λάθος (Λ) τις παρακάτω προτάσεις:

1. Ένα άτομο με ομάδα αίματος AB φέρει δύο αντιγόνα, τα A και B στην επιφάνεια των ερυθροκυττάρων του, επομένως παράγει και τα αντισώματα αντι-A και αντι-B αντίστοιχα.
2. Η ινσουλίνη είναι μία ορμόνη πρωτεϊνικής φύσεως που παράγεται από ειδικά παγκρεατικά κύτταρα του ανθρώπου και συμμετέχει στη ρύθμιση των ποσοστών της γλυκόζης στο αίμα.
3. Ένα άτομο που έχει υποβληθεί σε γονιδιακή θεραπεία για την κυστική ίνωση εφόσον αποκτήσει απογόνους με ομόζυγο υγιές άτομο για την ασθένεια αυτή, κανείς από τους απογόνους του δε θα νοσεί.
4. Ένας ασθενής με AIDS θα μπορούσε να έχει πληροφορηθεί ότι νοσεί από την ασθένεια μετά από ανοσοδιάγνωση και θα μπορούσε να ελπίζει σε θεραπεία του με γονιδιακή θεραπεία.
5. Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA βρίσκει εφαρμογή στην Ιατρική τόσο στην ανάπτυξη της γονιδιακής θεραπείας όσο και στην παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων με υβριδώματα.

Σ Λ

☐ ☐

☐ ☐

☐ ☐

☐ ☐

☐ ☐

(Μόρια 10)

Ζήτημα 2ο

A. Ποια ήταν τα μειονεκτήματα των παλαιότερων μεθόδων παραγωγής φαρμακευτικών πρωτεϊνών, σε σχέση με τη χρήση γενετικώς τροποποιημένων βακτηρίων; Φέρτε ένα παράδειγμα.

(Μόρια 10)

B. Μία ερευνητική ομάδα που μελετάει τον καρκίνο του παγκρέατος, απομόνωσε πρωτεΐνες από την επιφάνεια καρκινικών κυττάρων που δεν απαντώνται στα φυσιολογικά κύτταρα του σώματος. Πώς θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν αυτές οι πρωτεΐνες για τη θεραπεία του καρκίνου του παγκρέατος;

(Μόρια 15)



Ζήτημα 3ο

A. Ένα παιδί νοσεί από τη γενετική ανεπάρκεια του ανοσοβιολογικού συστήματος. Ποιες βιοτεχνολογικές μέθοδοι μπορούν να εφαρμοστούν για την θεραπεία αυτού του παιδιού; Περιγράψτε με συντομία τις διαδικασίες που θα ακολουθηθούν σε κάθε περίπτωση. Τι είδους υποκινητές γονιδίων θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν κάθε φορά;

(Μόρια 15)

B. Ποιες είναι οι διαφορές μεταξύ της *ex vivo* και της *in vivo* γονιδιακής θεραπείας;

(Μόρια 10)

Ζήτημα 4ο

Ερευνητές προσπαθούν να αναπτύξουν τη γονιδιακή θεραπεία για μία κληρονομική νόσο. Η νόσος αυτή οφείλεται στη δυσλειτουργία του πνεύμονα και της καρδιάς. Έχει βρεθεί ότι στον πνεύμονα δεν είναι λειτουργική μία πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από δύο διαφορετικά γονίδια. Όταν ένα άτομο είναι ομόζυγο και για τα δύο υπολειπόμενα αλληλόμορφα των γονιδίων τότε δεν μπορεί να σχηματιστεί η πρωτεΐνη. Έχει βρεθεί επίσης, ότι στην καρδιά δεν σχηματίζεται καθόλου μία πρωτεΐνη, όταν το άτομο που νοσεί από αυτήν την ασθένεια είναι ομόζυγο για το υπολειπόμενο γονίδιο που την κωδικοποιεί. Άτομο ομόζυγο για τα υπολειπόμενα αλληλόμορφα για τους τρεις γενετικούς τύπους, νοσεί από την ασθένεια αυτή.

- Ποια γονίδια απαιτούνται για τη γονιδιακή θεραπεία αυτής της ασθένειας;
- Τι γονότυπο πρέπει να έχει το άτομο δότης των γονιδίων αυτών;
- Από πόσους και ποιους ιστούς θα πρέπει να απομονωθούν τα κύτταρα του δότη για τα φυσιολογικά αλληλόμορφα των γονιδίων;
- Πόσα διαφορετικά είδη ιών-φορέων των φυσιολογικών αλληλόμορφων απαιτούνται για τη γονιδιακή θεραπεία;

(Μόρια 25)

