

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗΣ ΑΕΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΚΑΙΡΟΠΟΙΗΣΗ ΓΝΩΣΕΩΝ ΑΠΟΦΟΙΤΩΝ ΑΕΙ (ΠΕΓΑ)

«Οι σύγχρονες τεχνικές βιο-ανάλυσης στην υγεία, τη γεωργία, το περιβάλλον και τη διατροφή»



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ
επένδυση στην κοινωνία της γνώσης

ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης





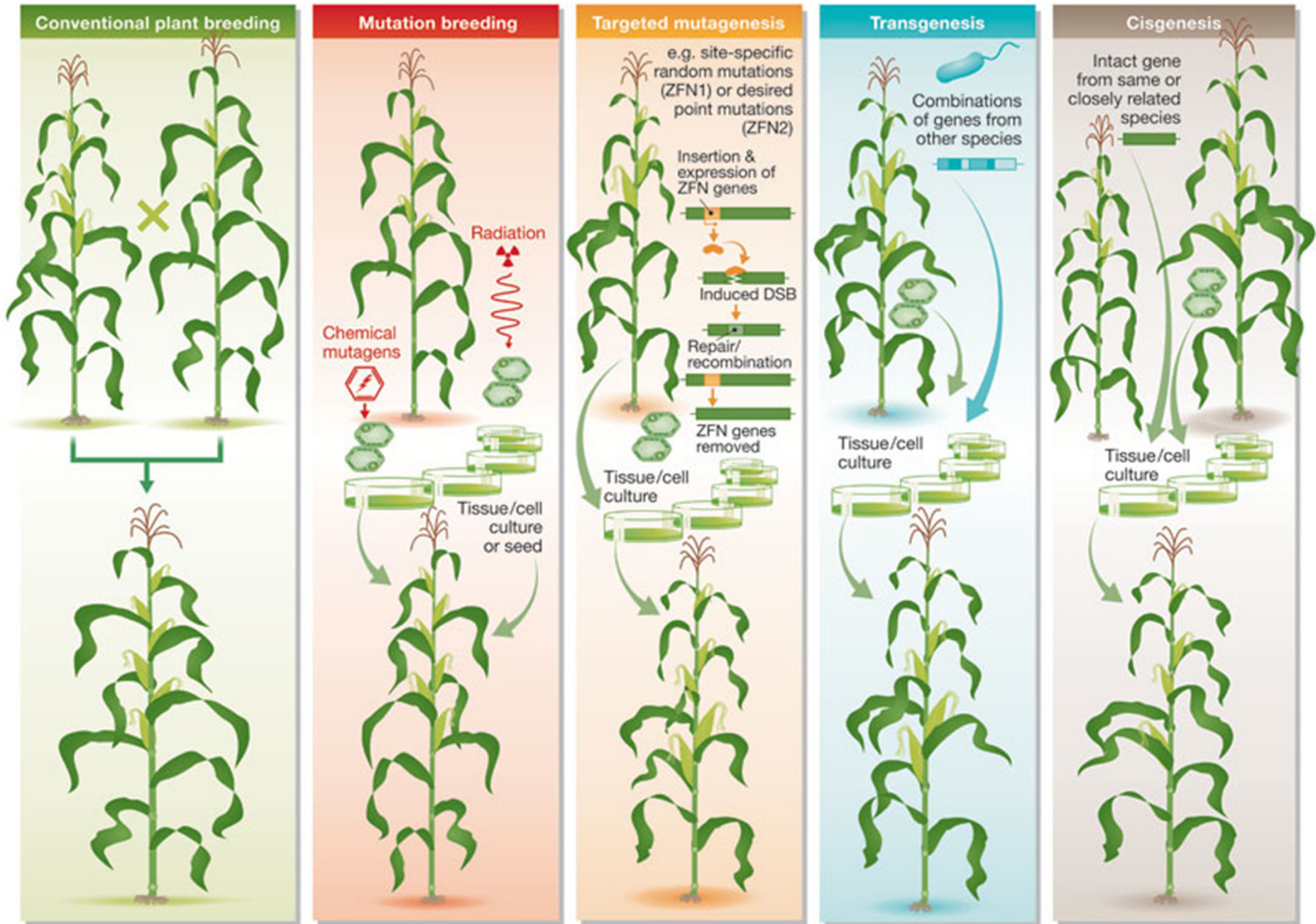
Department of Biochemistry and Biotechnology
University of Thessaly
Laboratory of Molecular Biology and Genomics

Γενετικά Τροποποιημένοι Οργανισμοί Βασικές τεχνολογικές προσεγγίσεις

Κώστας Μαθιόπουλος

Genetically Modified Organisms (GMOs)

- * Εισαγωγή εξωγενούς γενετικού υλικού στους οργανισμούς
 - * Νέες ιδιότητες
- * Όμως:
 - * Επιλεγμένες διασταυρώσεις και τεχνητή επιλογή
 - * Γενικευμένη μεταλλαξιγένεση
 - * Δημιουργία στοχευμένων μεταλλάξεων



Άνθρωπος: ~30,000 χρόνια

Άνθρωπος: ~20 χρόνια
 Φύση: ~30,000 χρόνια

Άνθρωπος: ~15 χρόνια
 Φύση: ~30,000 χρόνια

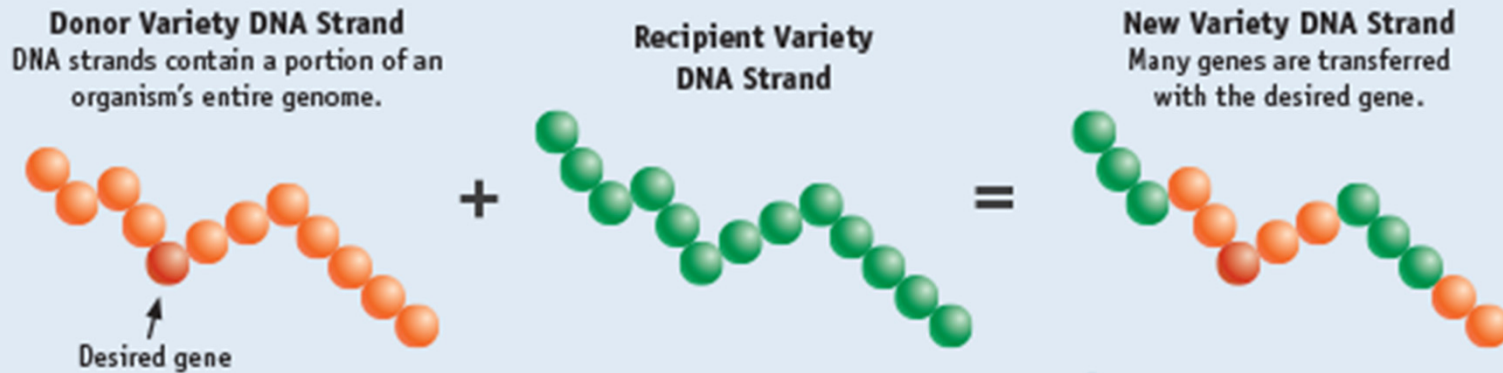
Άνθρωπος: ~20 χρόνια
 Φύση: ποτέ (??)

Άνθρωπος: ~20 χρόνια
 Φύση: ~30,000 χρόνια

Methods of Plant Breeding

Traditional

The traditional plant breeding process introduces a number of genes into the plant. These genes may include the gene responsible for the desired characteristic, as well as genes responsible for unwanted characteristics.

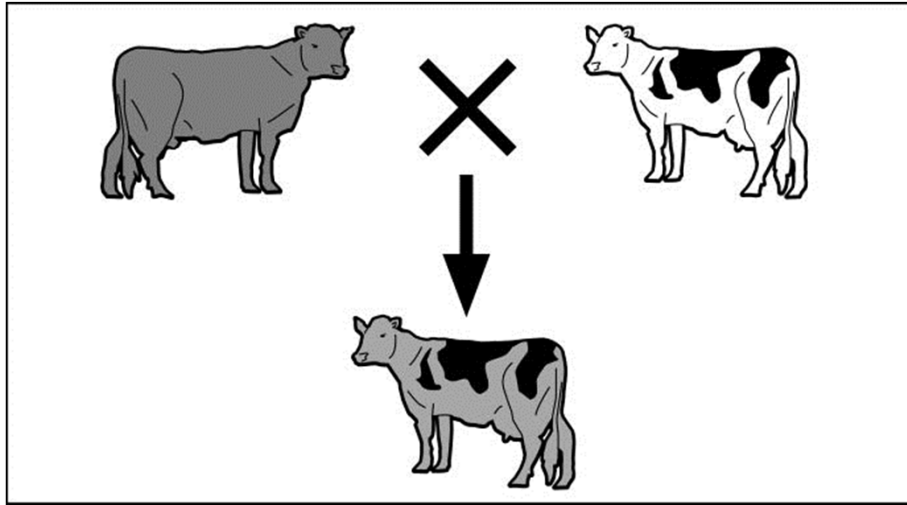


Genetic Engineering

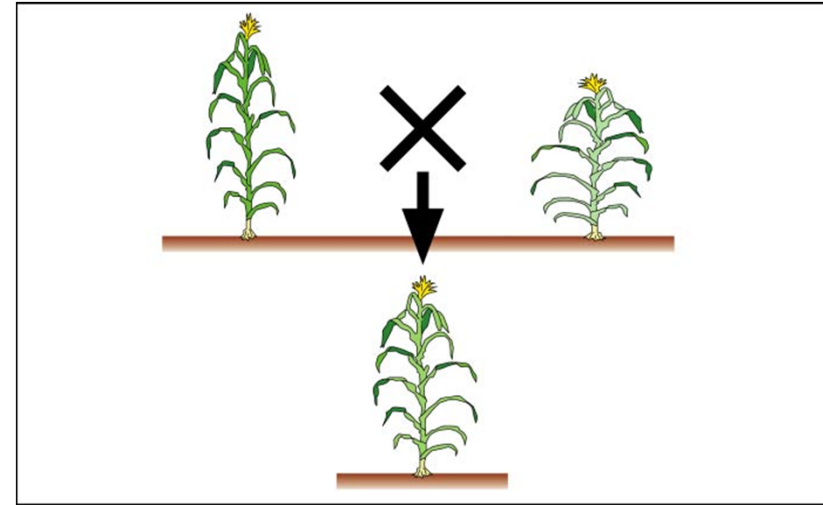
Genetic engineering enables the introduction into the plant of the specific gene or genes responsible for the characteristic(s) of interest. By narrowing the introduction to one or a few identified genes, scientists can introduce the desired characteristic without also introducing genes responsible for unwanted characteristics.



Παραδοσιακή εκτροφή



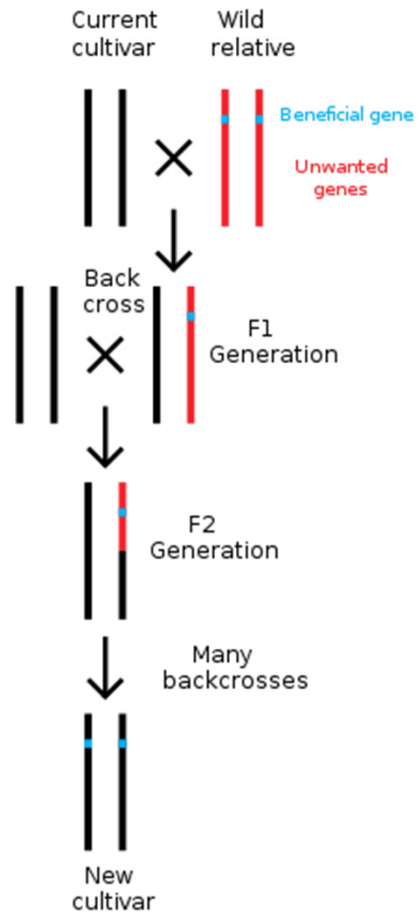
~25,000 γονίδια



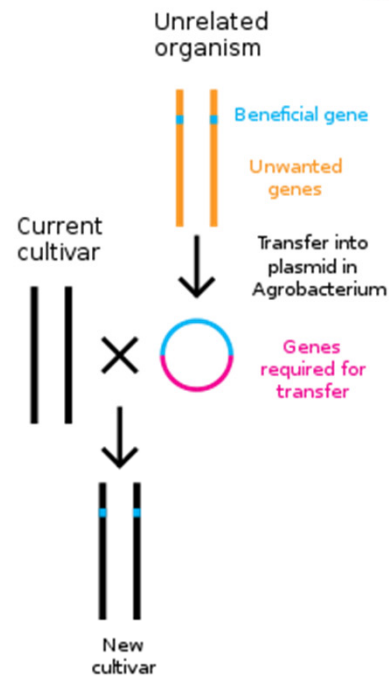
~45,000 γονίδια

- * Η τεχνολογία δεν είναι σημαντική
- * Περιορισμοί στο πλαίσιο των ειδών
- * Όλα τα γονίδια/χαρακτήρες αναμειγνύονται

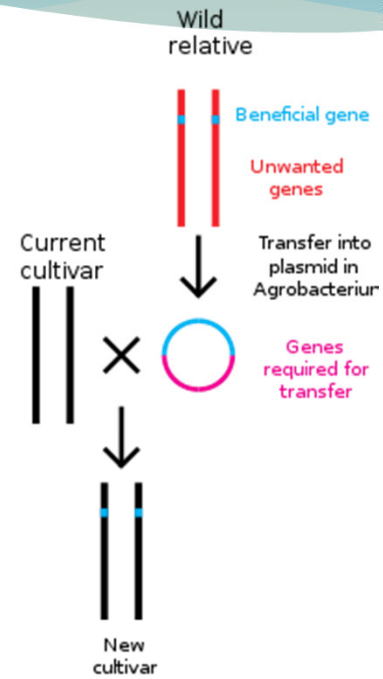
Conventional breeding



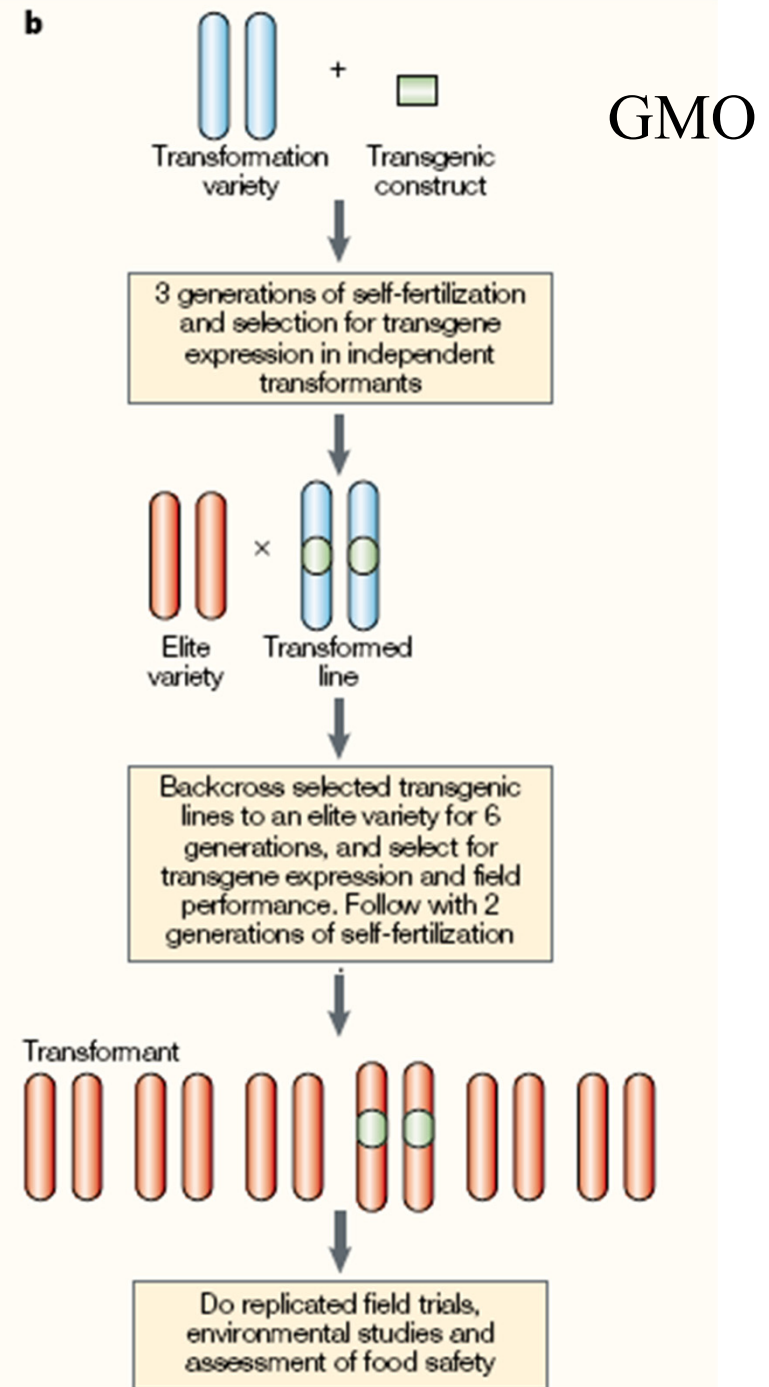
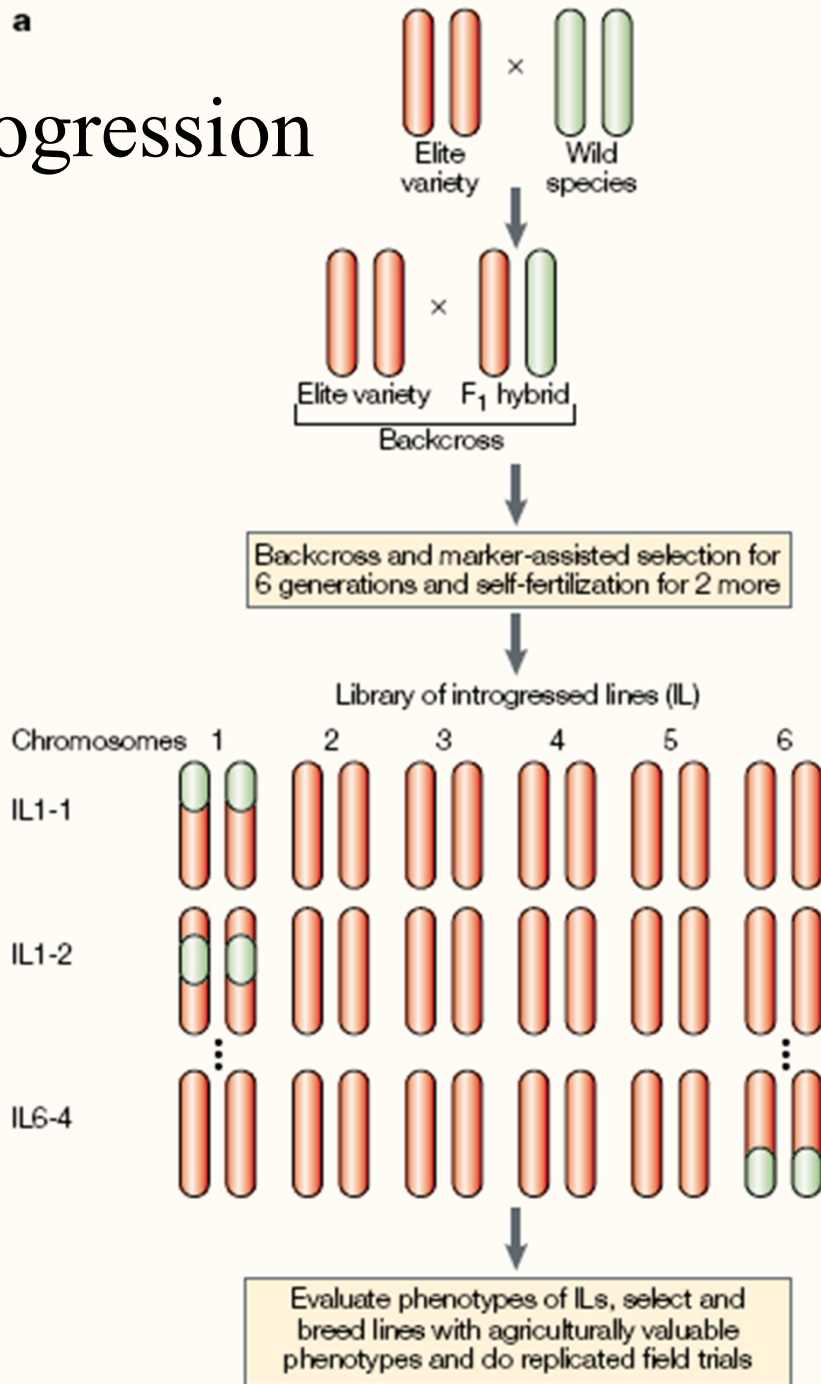
Transgenesis



Cisgenesis



Introgression



Η εξέλιξη του καλαμποκιού

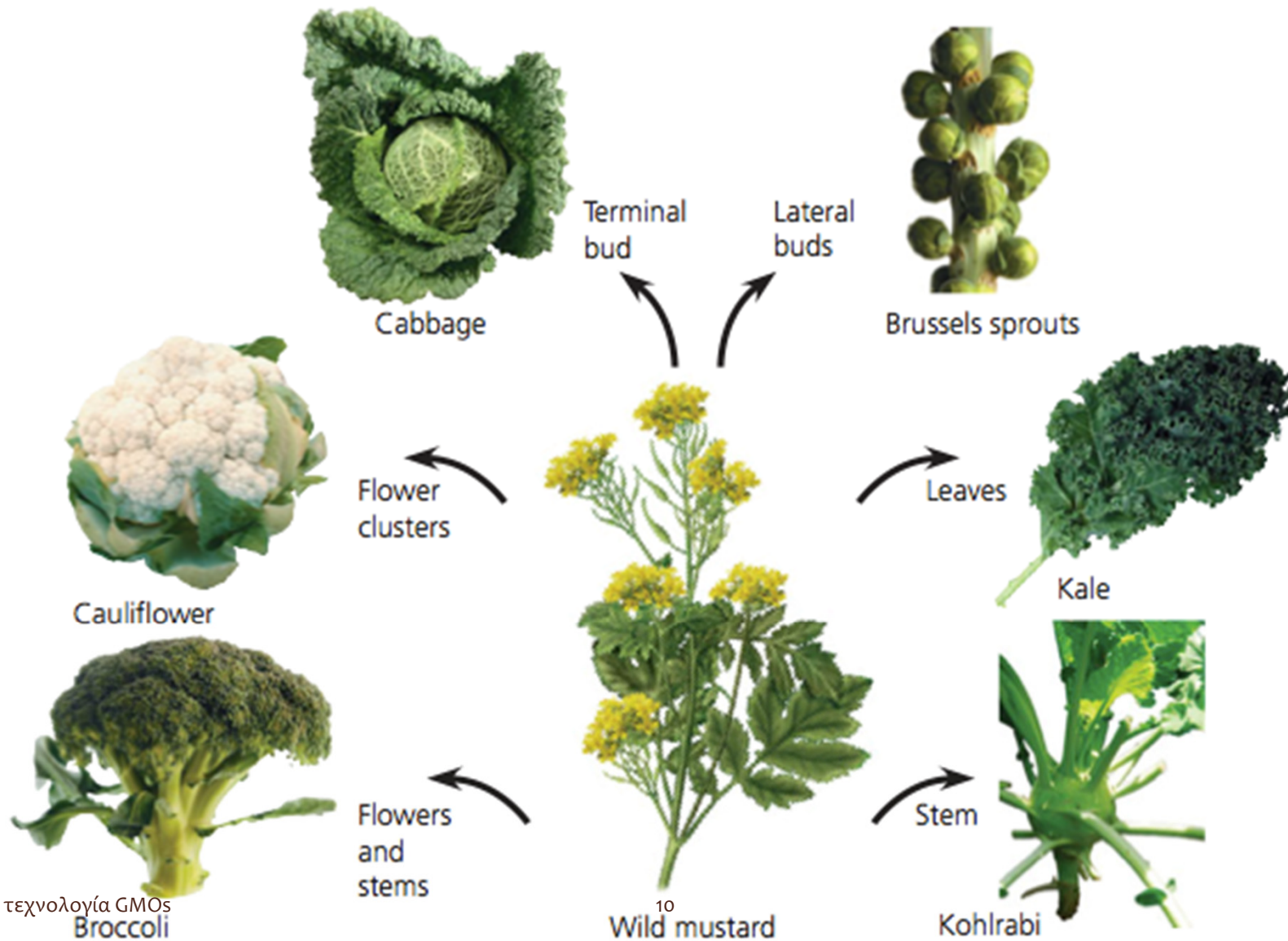


Teosinte



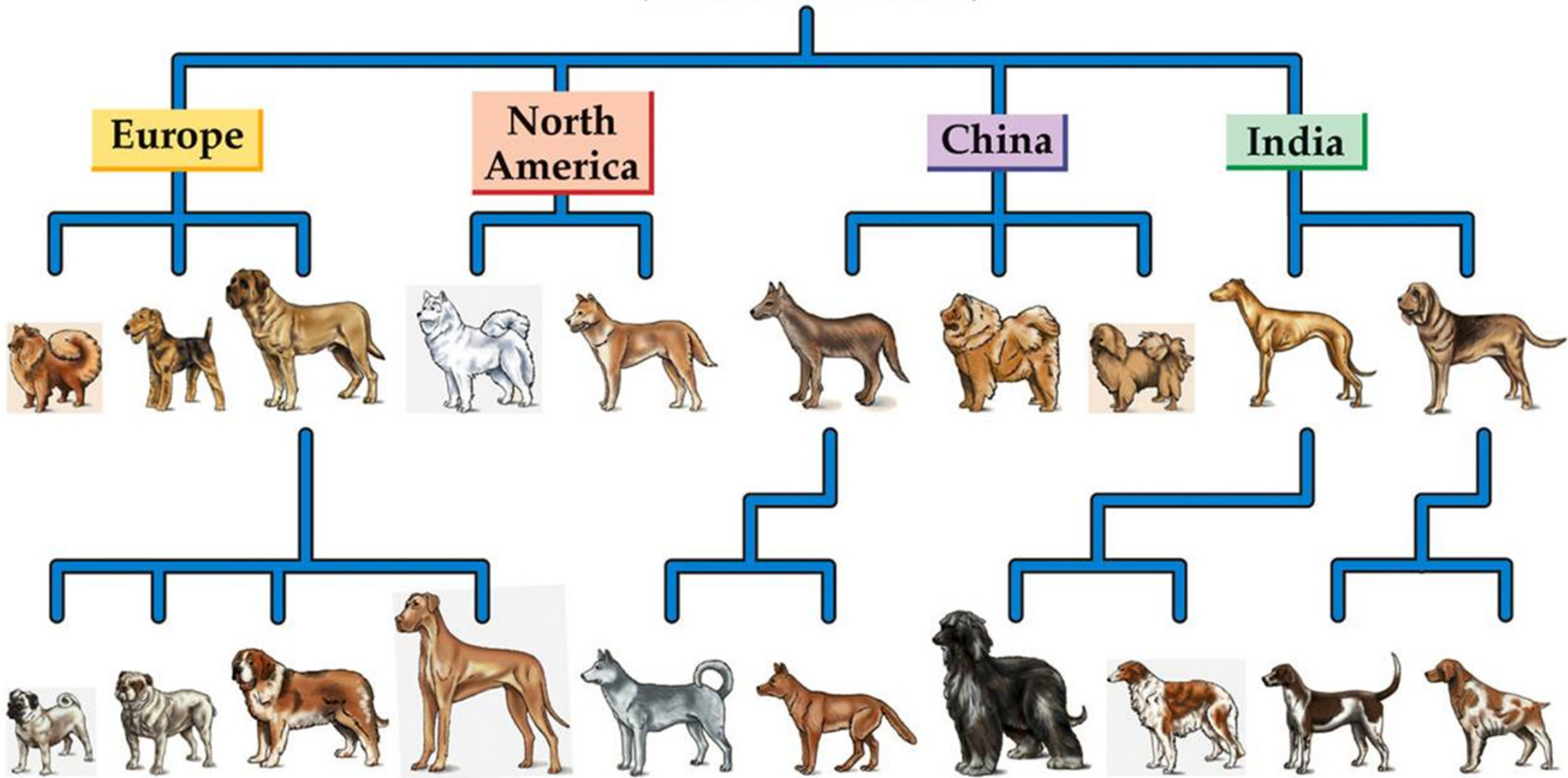
Modern Corn

Από την αγριουμoustάρδα στα λαχανάκια Βρυξελλών





Gray wolf
(Common ancestor)



Τα άκρα στις ράτσες των σκύλων: Chihuahua και Great Dane



Τα βελγικά μπλε βοοειδή έχουν εκτραφεί για
αυξημένη παραγωγή κρέατος



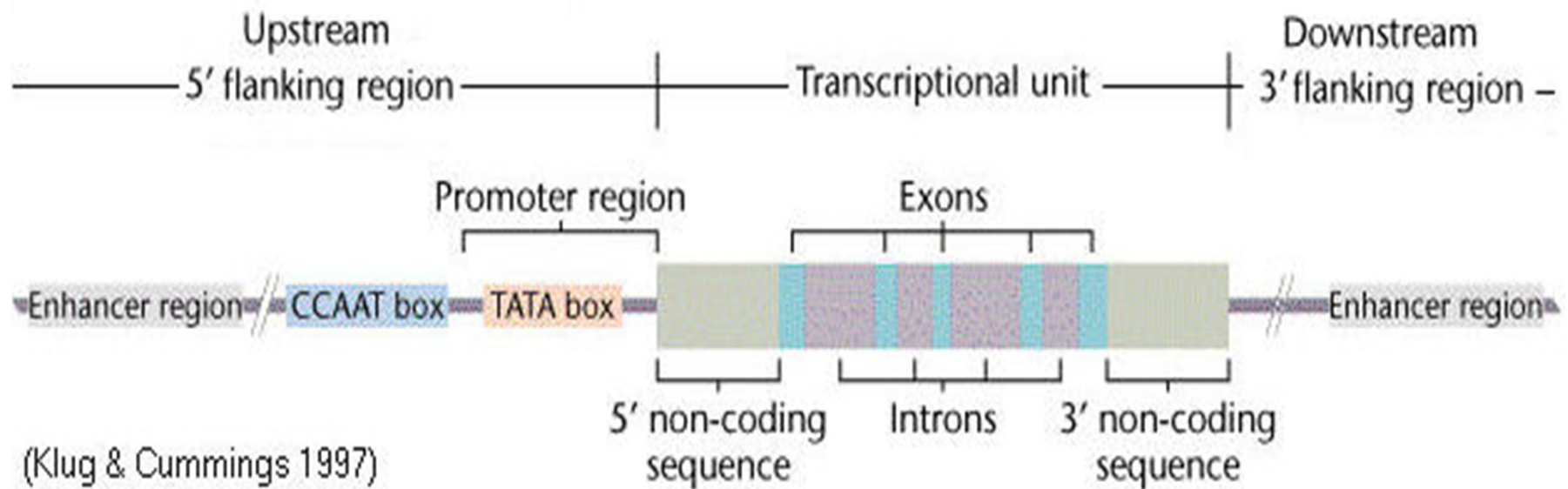
Glofish



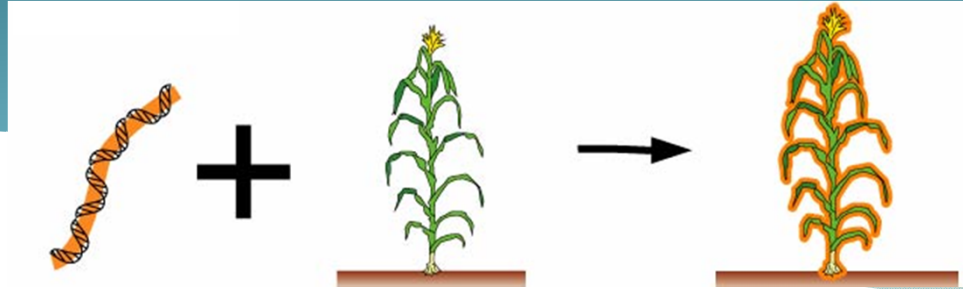
Βασικά στοιχεία των διαγονιδιακών κατασκευών

- * Ρυθμιστική περιοχή
- * Τερματιστής
- * Επιλέξιμος γενετικός δείκτης

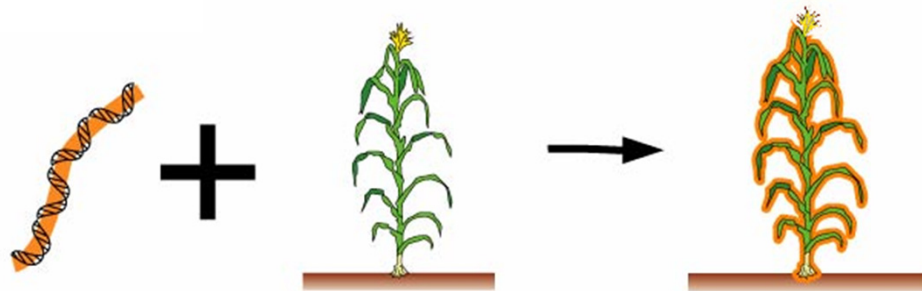
Βασική οργάνωση ευακρωτικού γονιδίου



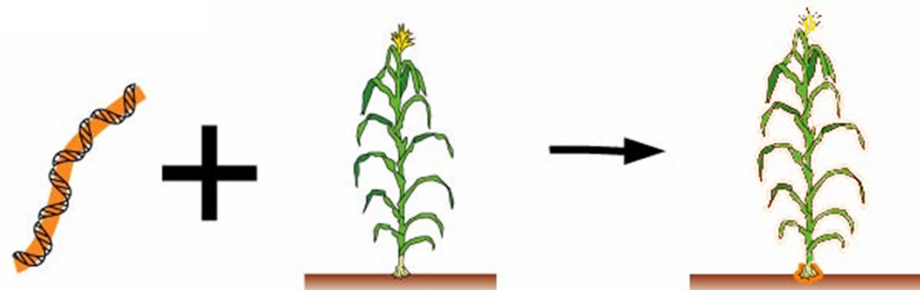
Ο υποκινητής καθορίζει την έκφραση



General Promoter: all tissues, all the time.

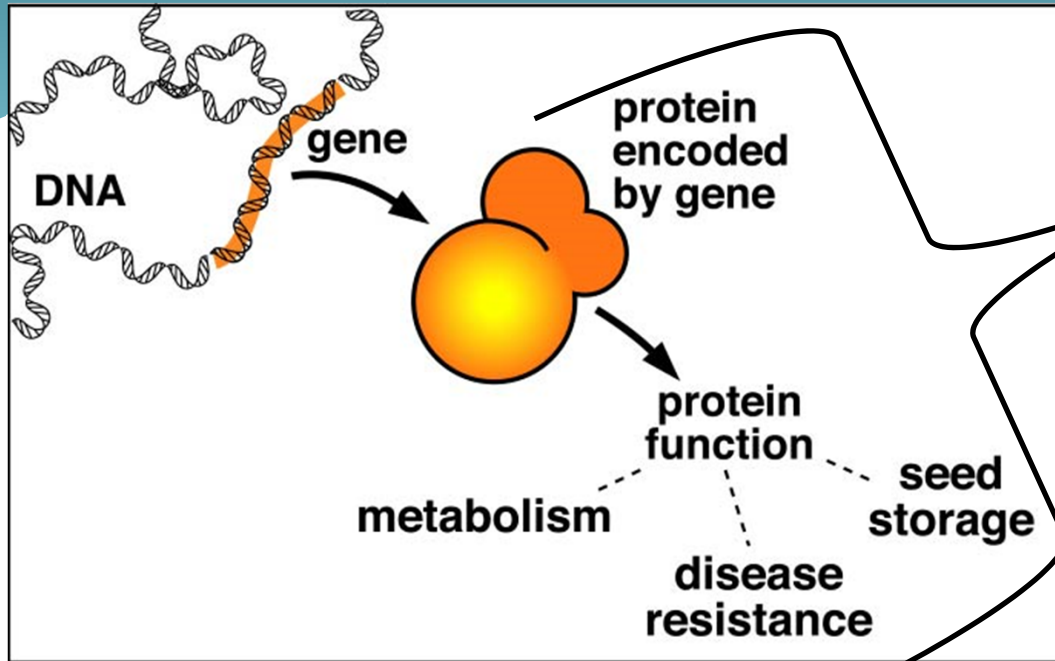


Vegetative Promoter: no flower, no fruit expression.



Root Promoter: only root expression.

Έκφραση = παραγωγή πρωτεϊνών



Οι πρωτεΐνες και οι πρωτεϊνικές λειτουργίες είναι παρούσες μόνο στους ιστούς που είναι ενεργοί οι υποκινητές

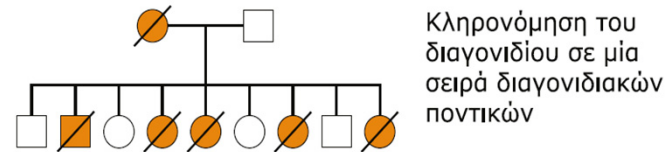
Tissue Specific Expression

Time Specific Expression

“Suicide” Promoters, etc.

Ενισχυτής-υποκινητής
του γονιδίου της ινσου-
λίνης του αρουραίου

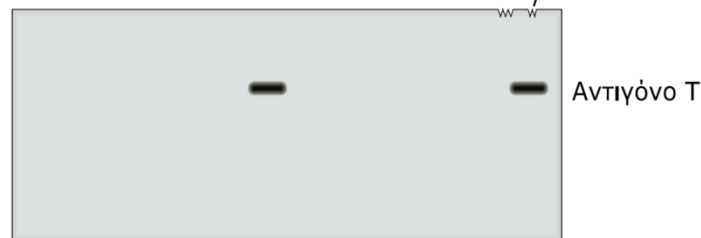
Μεγάλο αντιγόνο
T του SV40



Κληρονόμηση του
διαγονιδίου σε μία
σειρά διαγονιδιακών
ποντικών

- Μη διαγονιδιακό αρσενικό
- Μη διαγονιδιακό θηλυκό
- Διαγονιδιακό αρσενικό
- Διαγονιδιακό θηλυκό
- / Άτομο που έχει πεθάνει σε ηλικία μικρότερη των 12 εβδομάδων

Εγκοπές-σημάδια που επιτρέπουν τη σωστή
διευθέτηση του φιλμ στον οριζόντιο και στον
κάθετο άξονα (αριστερά-δεξιά και επάνω-κάτω)



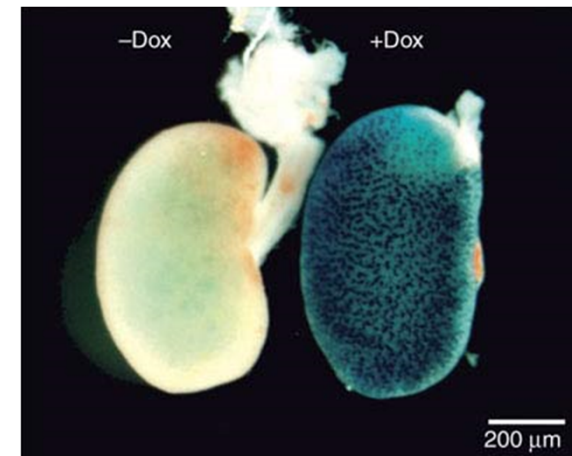
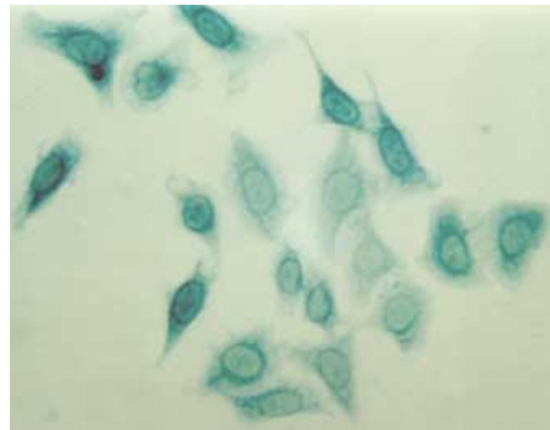
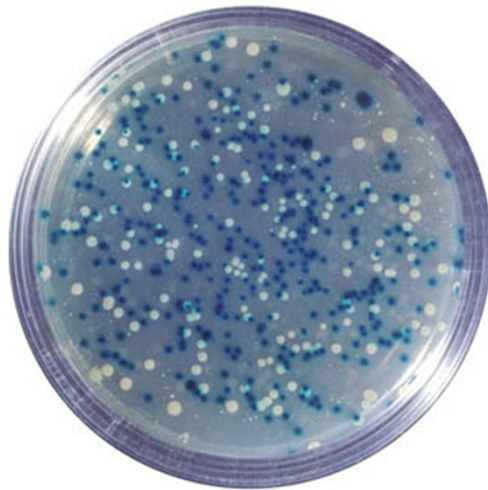
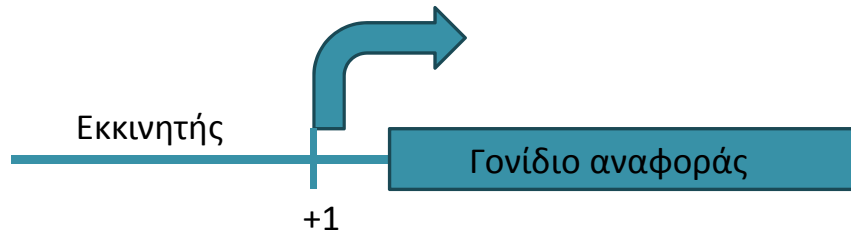
Έντερο
Νεφρό
Ήπαρ
Πνεύμονας
Μυς
Πάγκρεας
Δέρμα
Σπλήνας
Στομάχι
Όρχις
Θύμος
Κύτταρα COS

Ιστο-ειδική έκφραση του διαγονιδίου

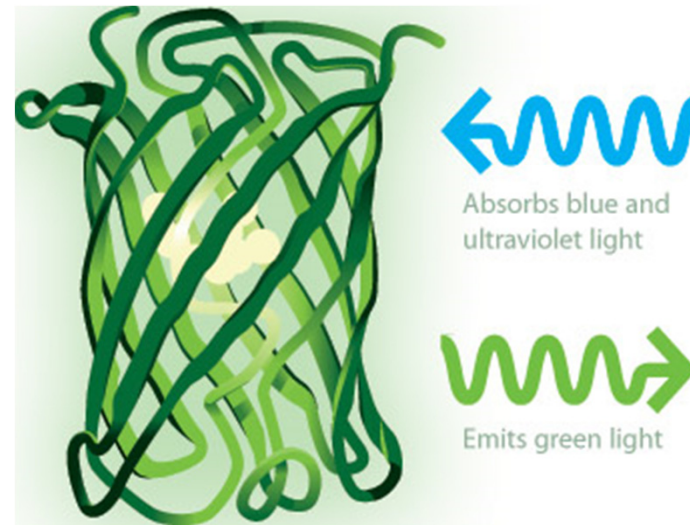
Επιλέξιμοι γενετικοί δείκτες

- * Ανθεκτικότητα σε αντιβιοτικά
- * Χρωματικοί δείκτες
 - * β-γαλακτοσιδάση/X-gal
 - * Green Fluorescent Protein
 - * β-γλυκουρονιδάση

β-γαλακτοσιδάση

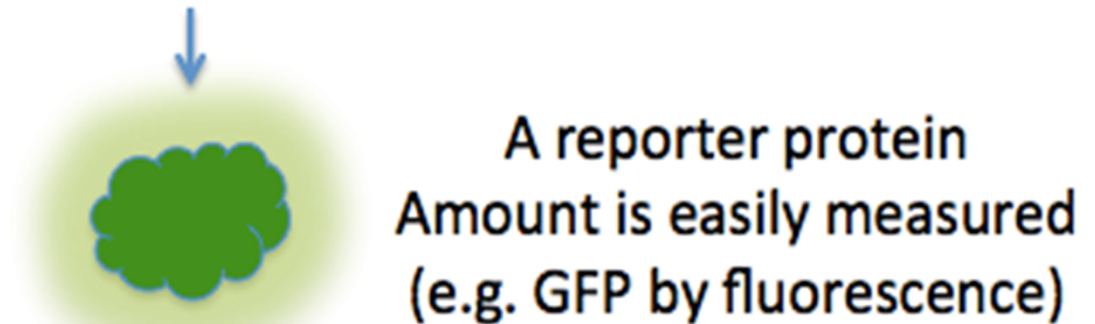
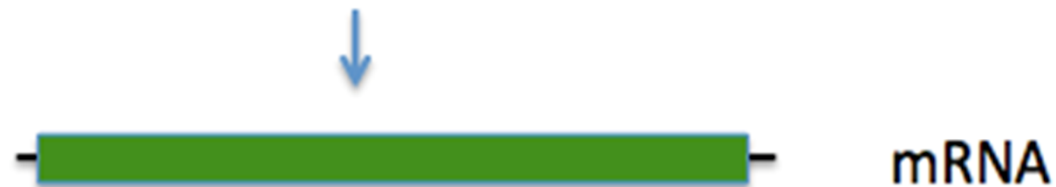


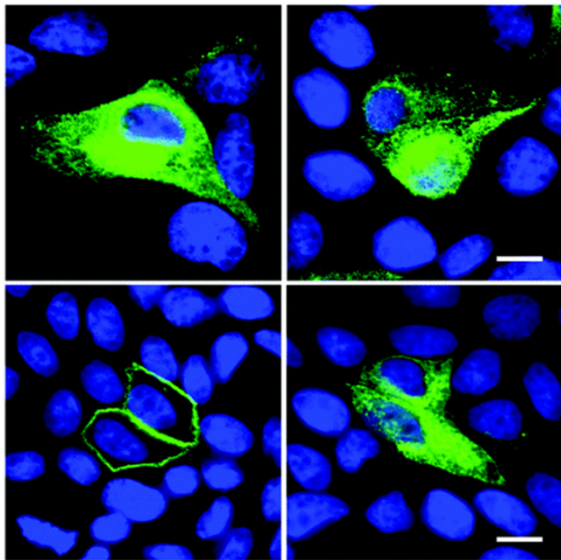
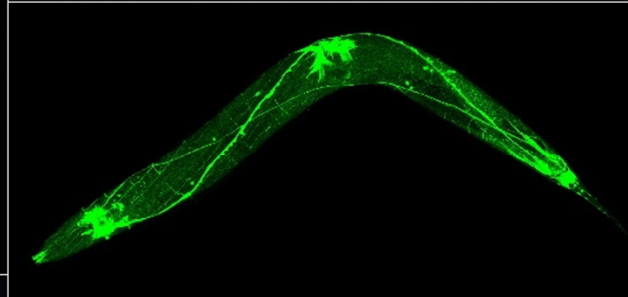
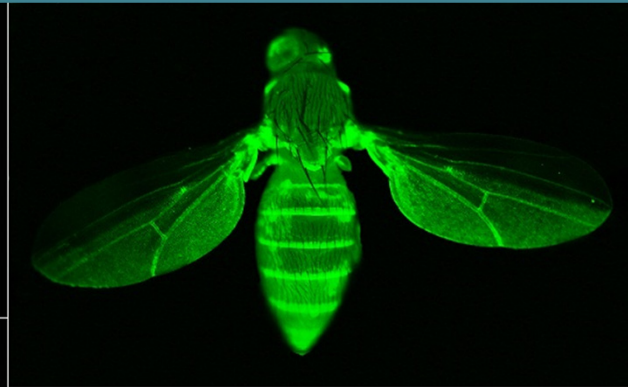
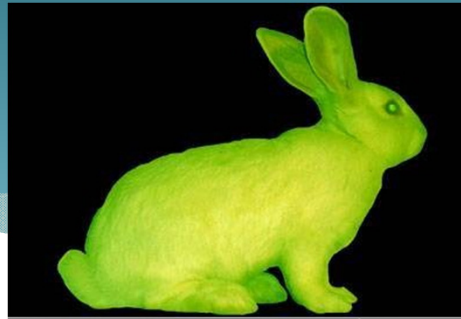
Green fluorescent protein



Regulatory sequence to
be studied
(e.g. a gene's promoter)

Reporter gene
(e.g. encoding GFP or
luciferase)



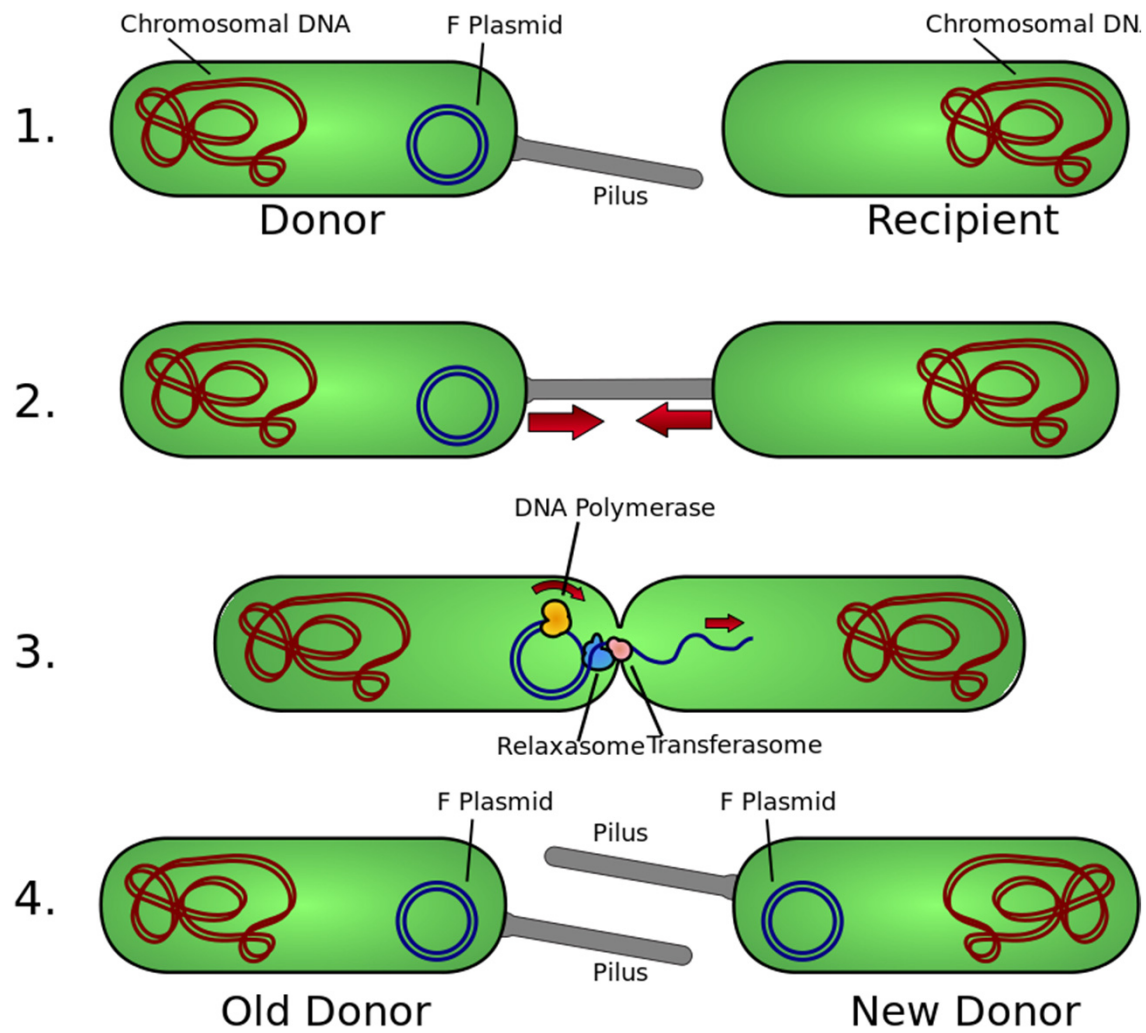


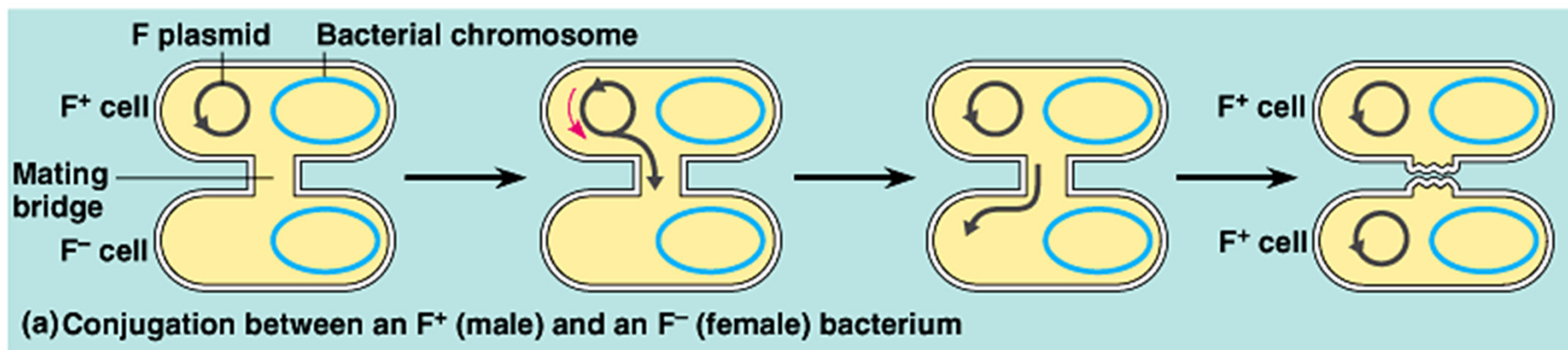
Μέθοδοι μετασχηματισμού κυττάρων

- * Προκαρυωτικά κύτταρα
 - * Σύζευξη
 - * Μεταγωγή
 - * Μετασχηματισμός
- * Προκαρυωτικά / Ευκαρυωτικά κύτταρα
 - * Ηλεκτροδιάτρηση
 - * Μικροέγχυση
 - * Λιποσώματα
 - * Βιολιστική
 - * Ιοί και μεταθετά στοιχεία

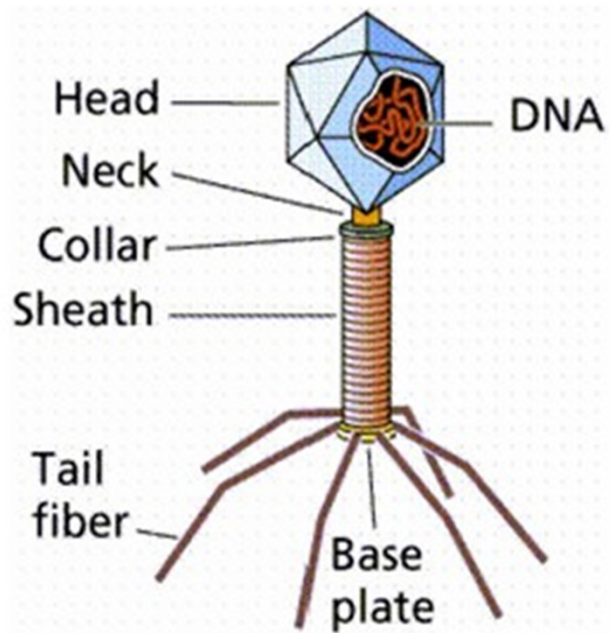
Βακτηριακή σύζευξη



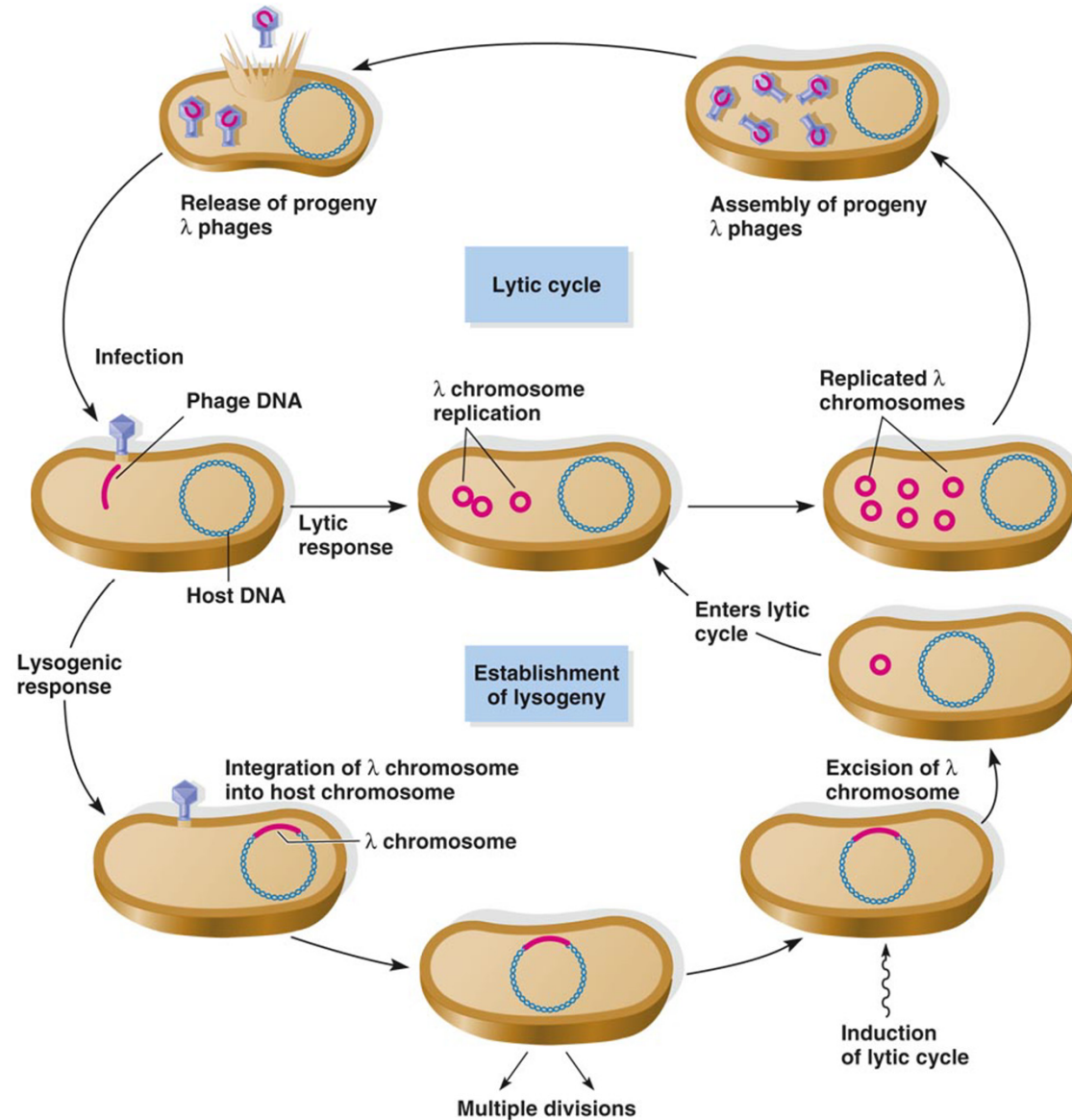


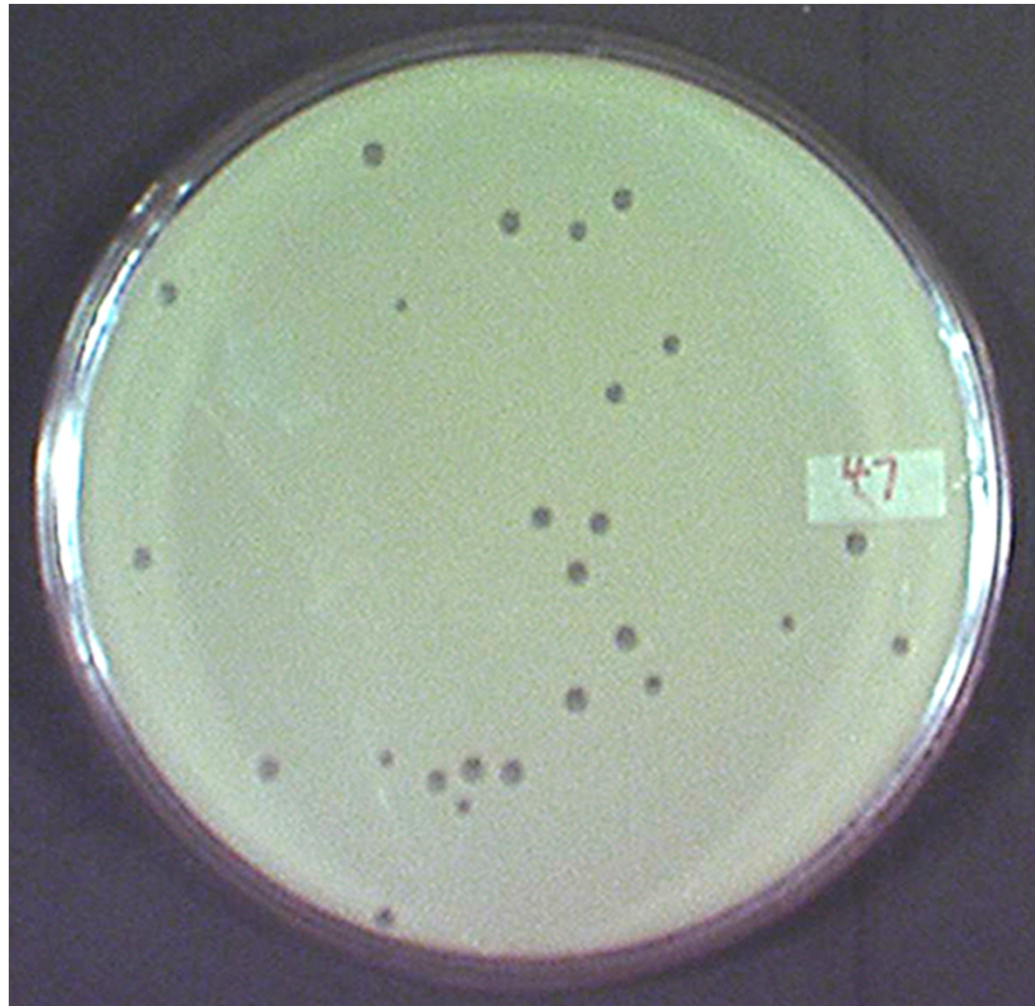


Βακτηριοφάγοι

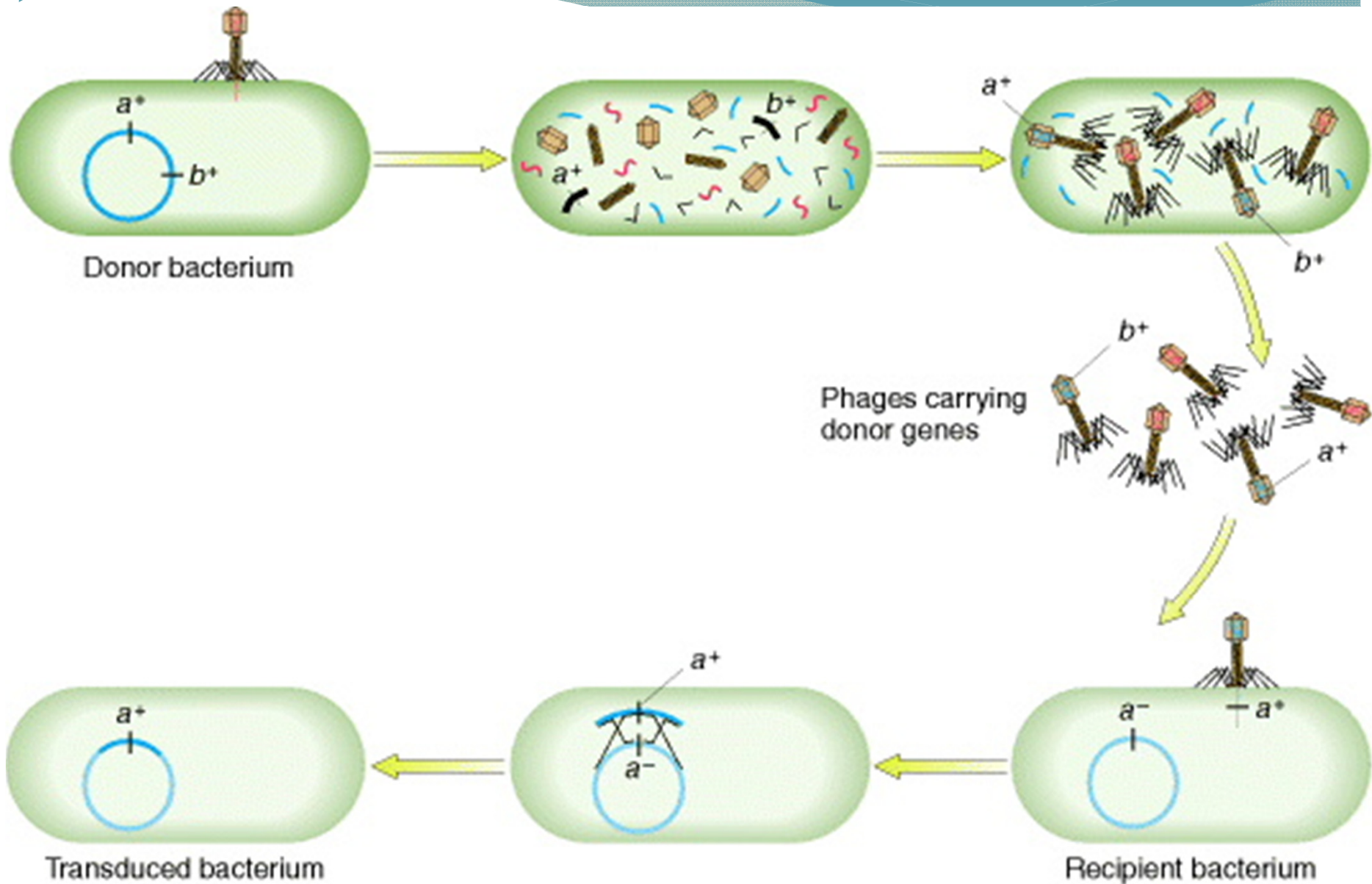


Ο κύκλος ζωής του φάγου

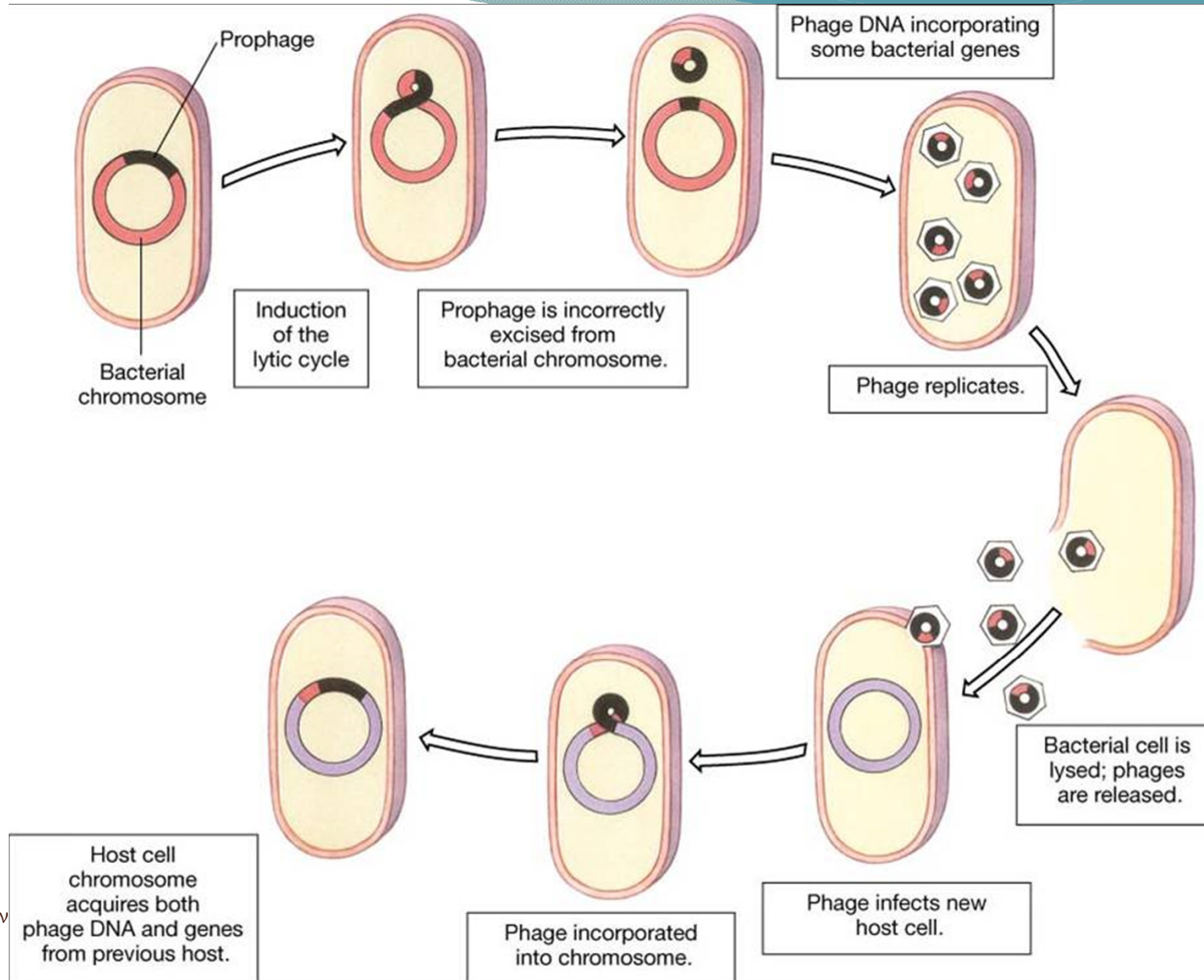




Γενικευμένη μεταγωγή

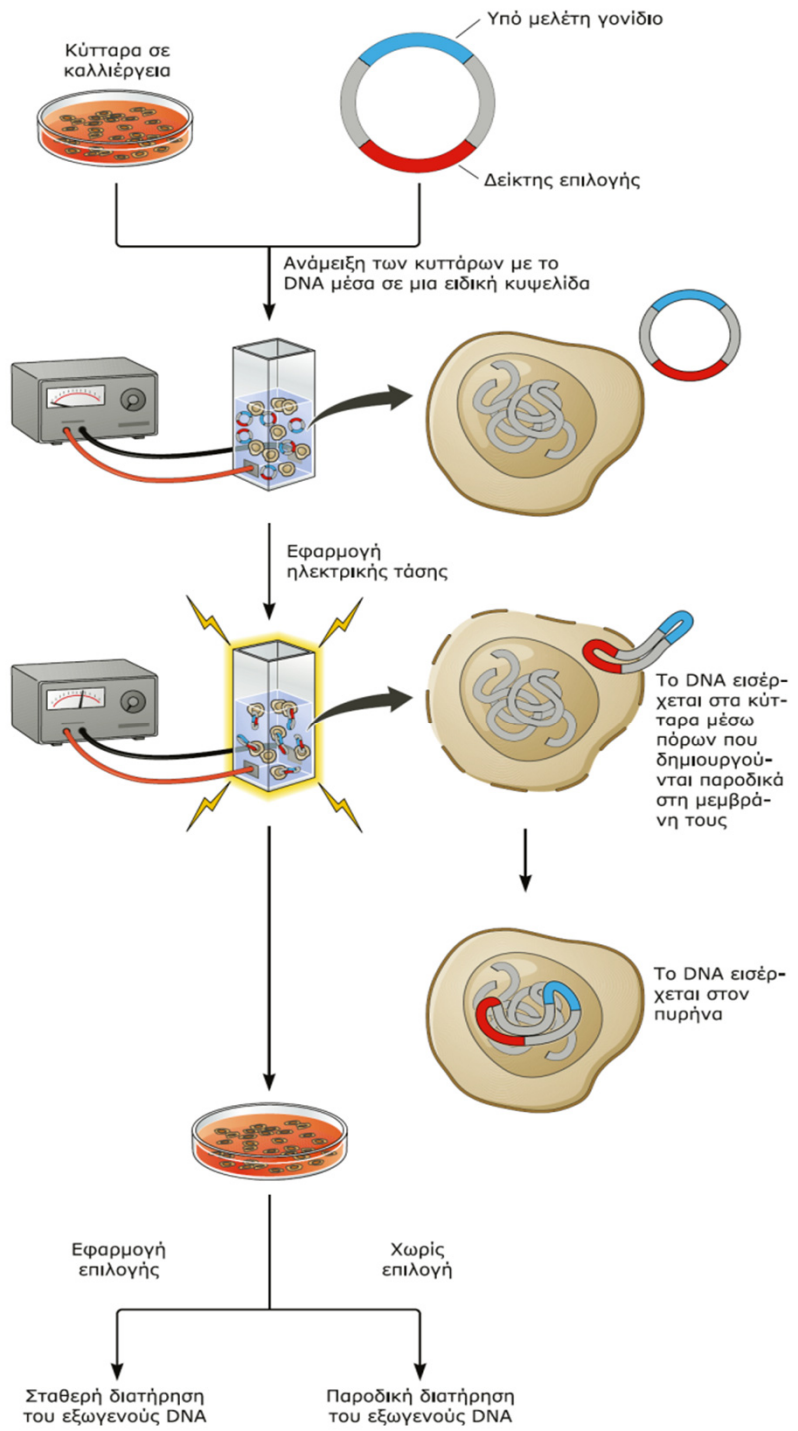


Ειδικευμένη μεταγωγή

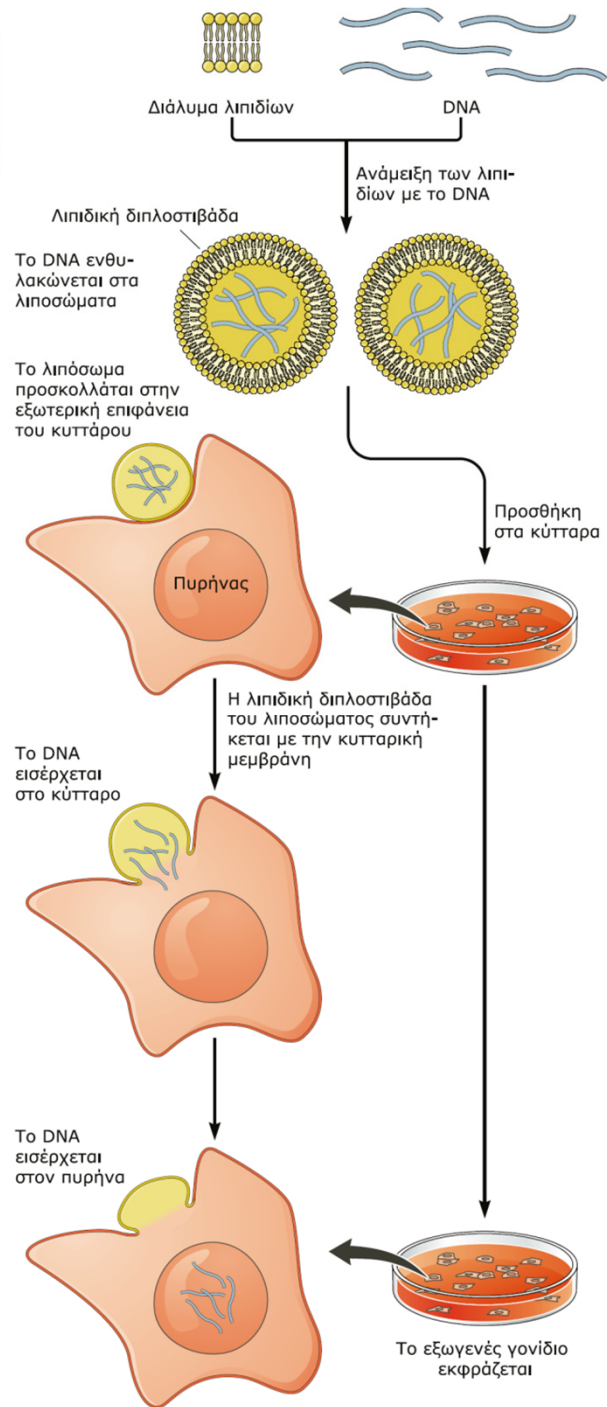


Βασική τεχν

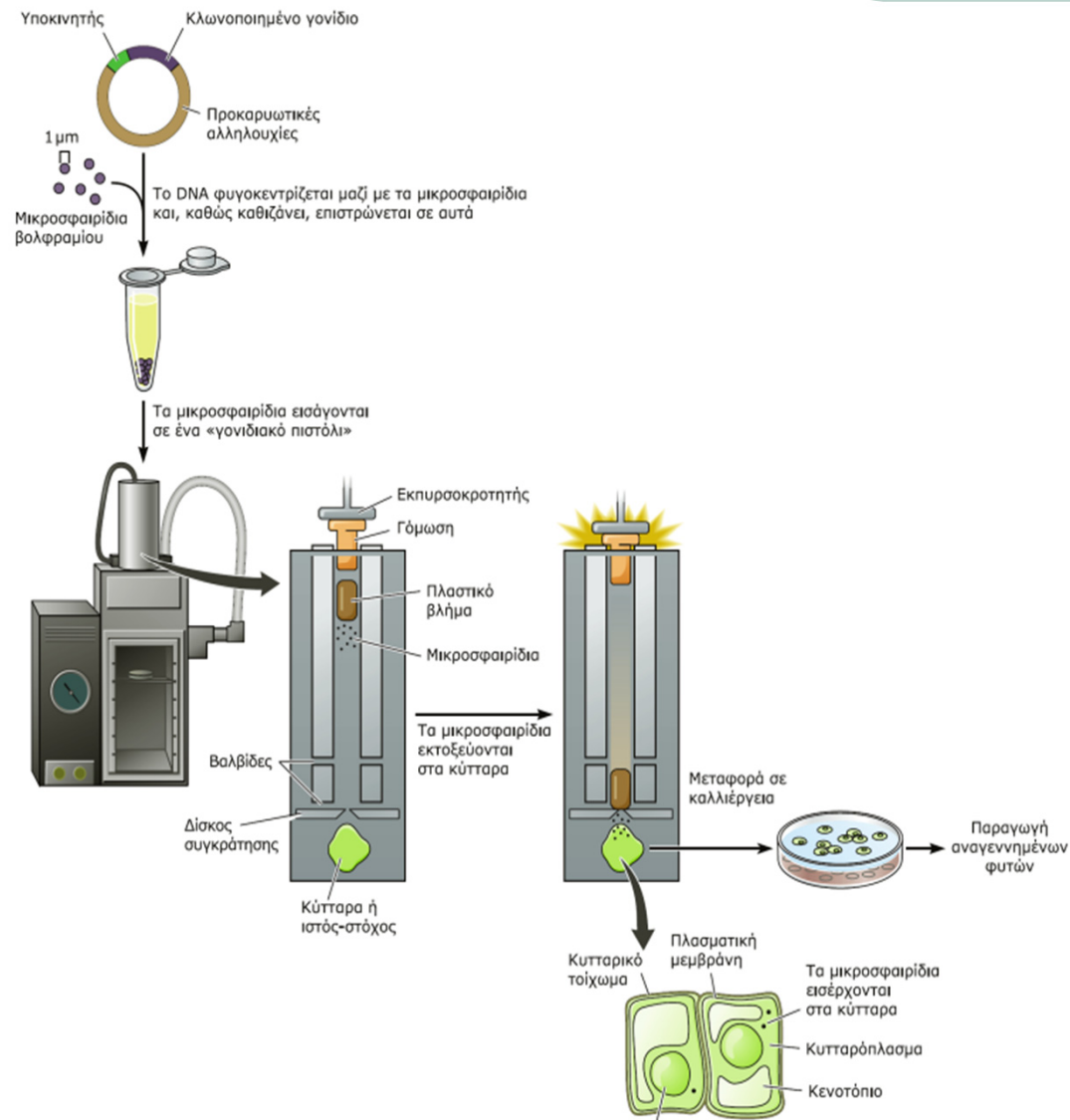
Ηλεκτροδιάτρηση



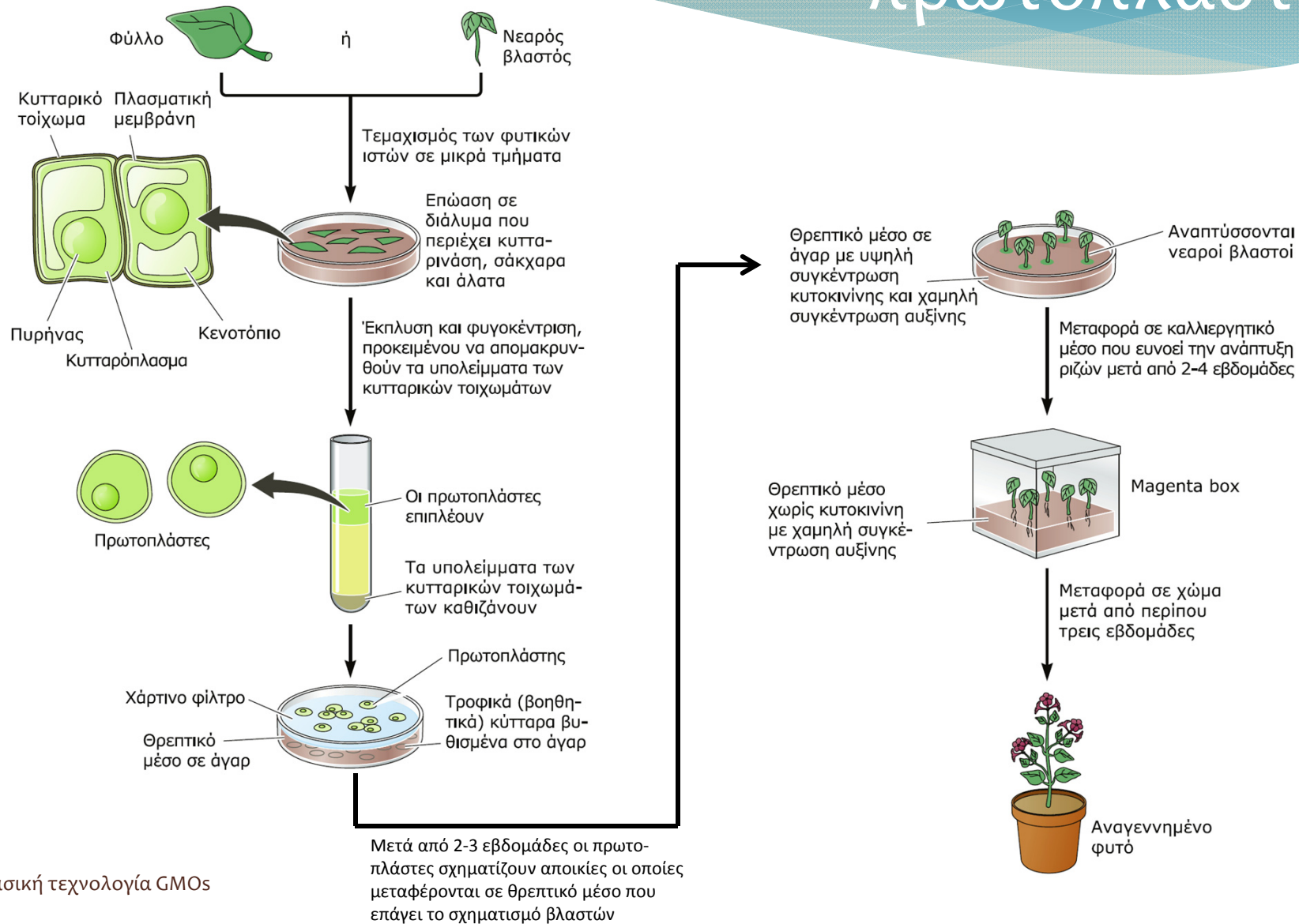
Χρήση λιποσωμάτων



Άμεση μεταφορά DNA σε φυτικά κύτταρα με βομβαρδισμό μικροσφαιριδίων

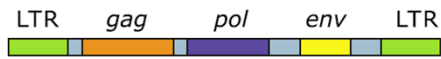


Αναγέννηση φυτών από πρωτοπλάστες

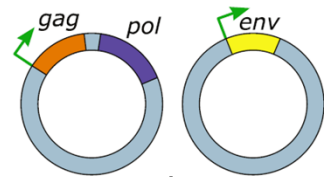


Βασική τεχνολογία GMOs

Χρήση ρετροϊικού φορέα



Κλωνοποίηση των γονιδίων συσκευασίας του ιού σε φορείς έκφρασης



Παρασκευή κυτταρικών σειρών που εκφράζουν τις πρωτεΐνες συσκευασίας



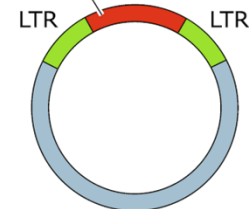
Συσκευασία



Τα κύτταρα εκφράζουν τις πρωτεΐνες συσκευασίας και το RNA που παράγεται από τον ανασυνδυασμένο φορέα συσκευάζεται σε μολυσματικά ιικά σωματίδια

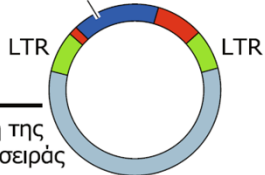
Απομάκρυνση από το ιικό γονιδίωμα μη απαραίτητων γονιδίων

Πολυσυνδέτης



Κλωνοποίηση στο ρετροϊικό φορέα του επιθυμητού γονιδίου

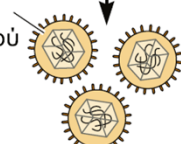
Υπό μελέτη γονίδιο



Διαμόλυνση της κυτταρικής σειράς συσκευασίας

Απομόνωση των σωματιδίων των ανασυνδυασμένων ιών

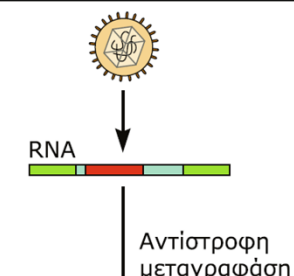
RNA του ρετροϊικού φορέα



Μόλυνση των επιθυμητών κυττάρων

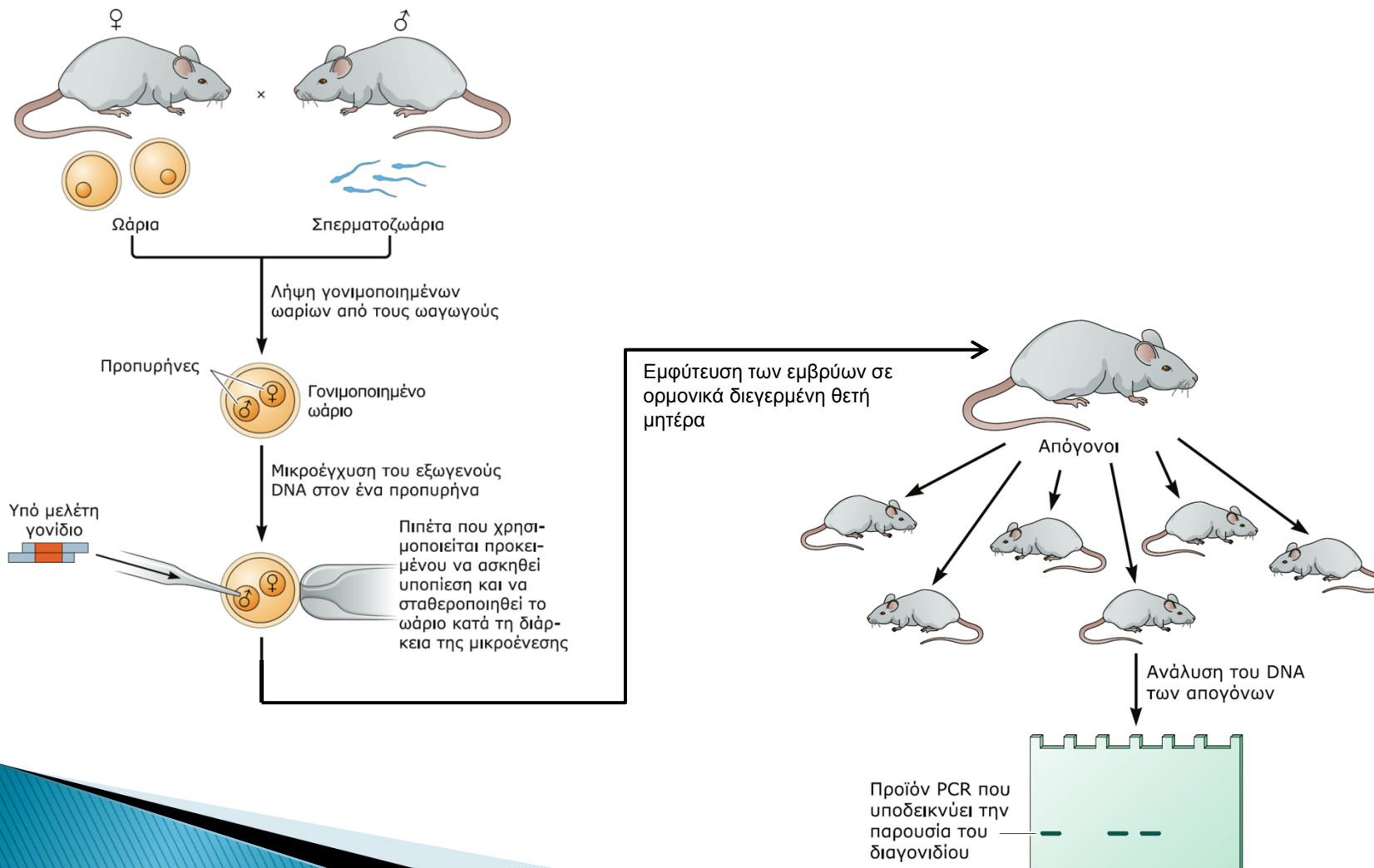


Η πλειονότητα των κυττάρων μολύνεται και σε αυτά εκφράζεται το εξωγενές γονίδιο

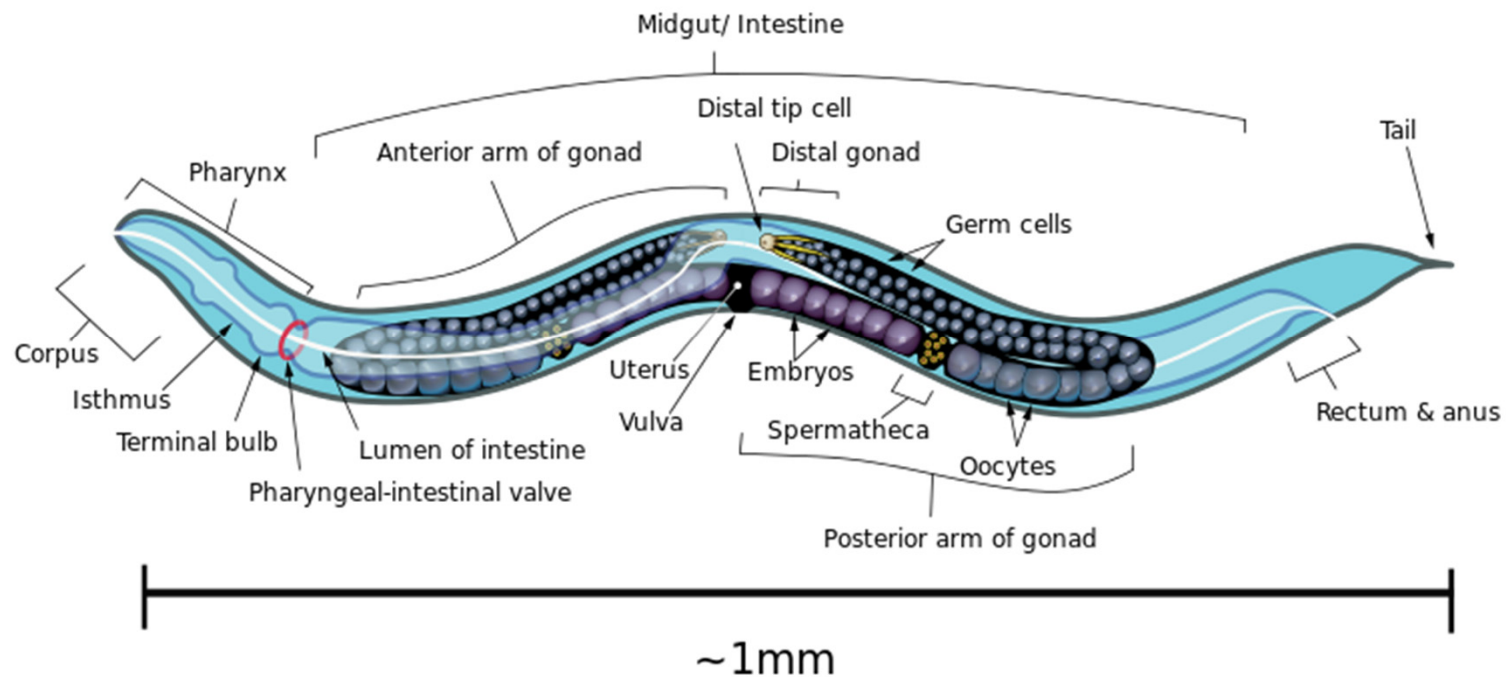


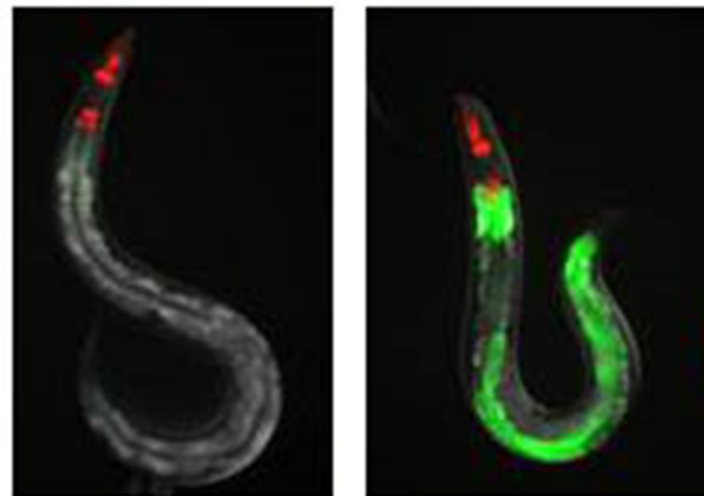
Ο ανασυνδυασμένος φορέας ενσωματώνεται στο χρωμοσωμικό DNA

Κατασκευή διαγονιδιακών ποντικών με μικρόνευση



Δημιουργία διαγονιδιακών σκωλήκων *Caenorhabditis elegans*

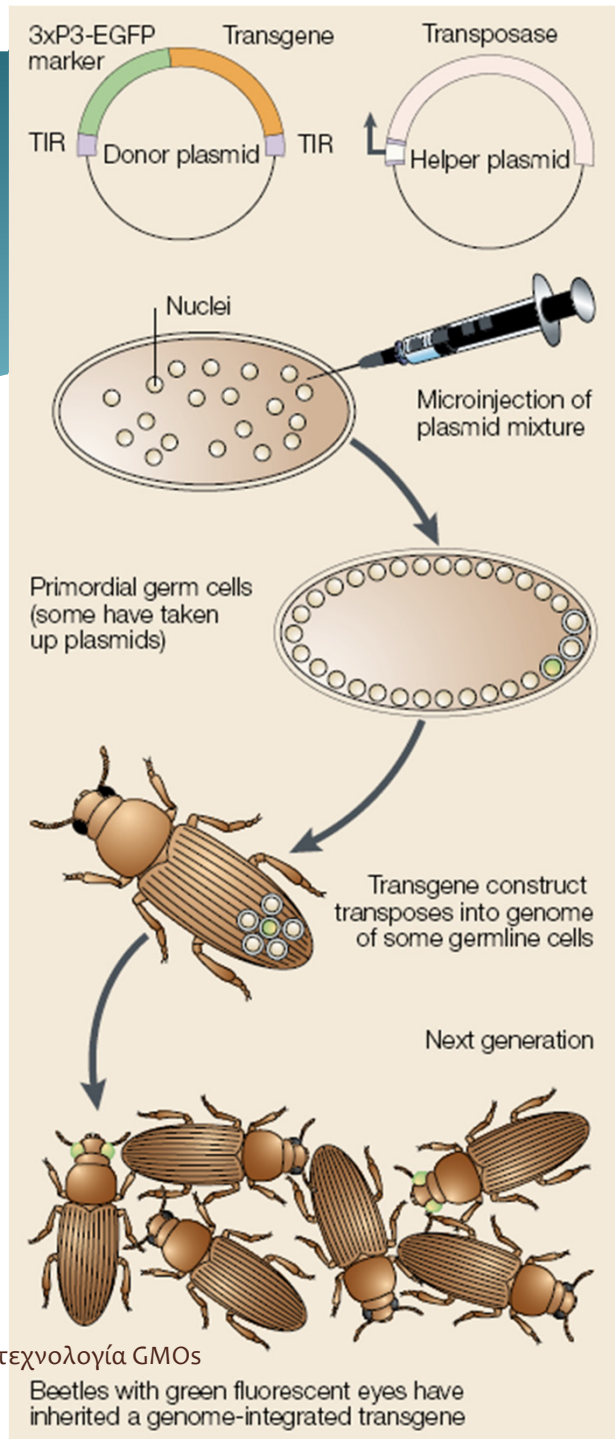




Βασική τεχνολογία GMOs

Fig. 1. Infection response gene induction in the *C. elegans* intestine.

Δημιουργία διαγονιδιακών εντόμων



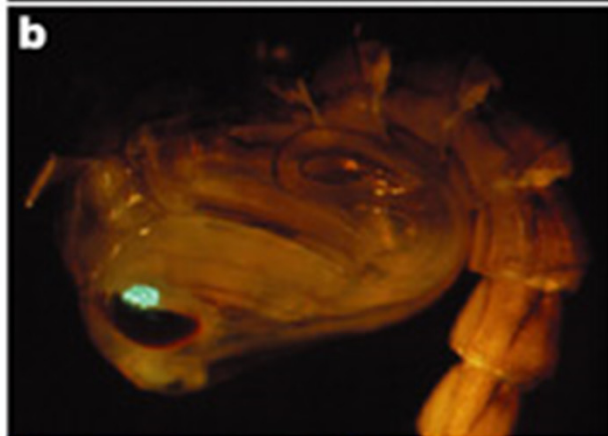
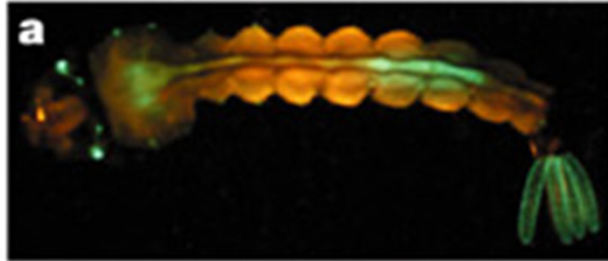
Βασική τεχνολογία GMOs

Beetles with green fluorescent eyes have inherited a genome-integrated transgene

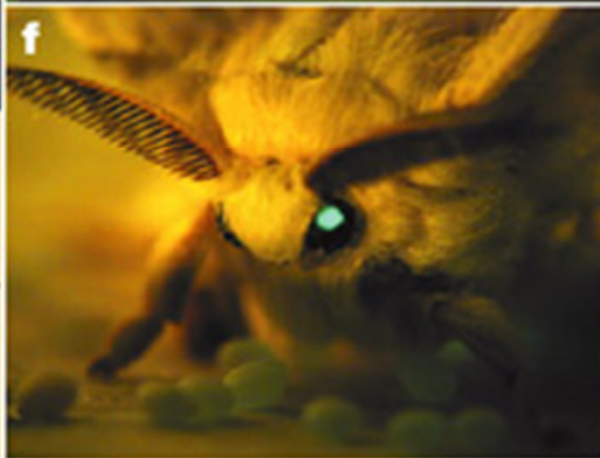
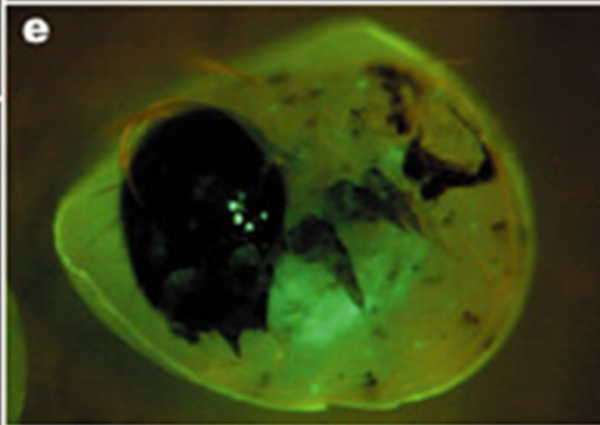
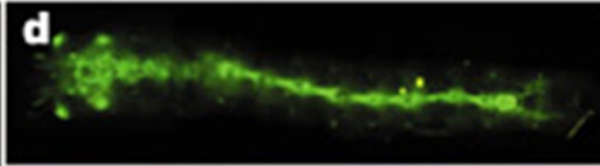
- * Κουνούπια χωρίς ελονοσία
- * Φρούτουμεγες που δεν αρέσκονται στα φρούτα
- * Χρωματιστά μετάξια

Έκφραση του δείκτη EGFP

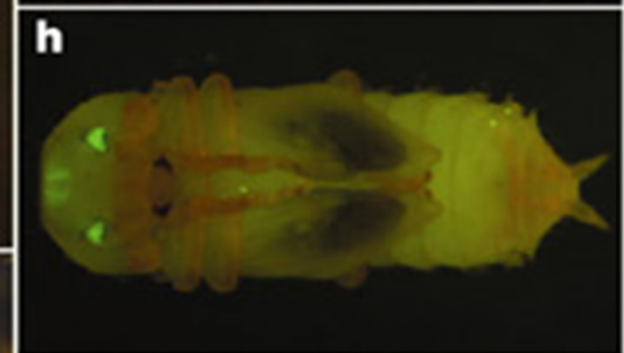
Aedes aegypti



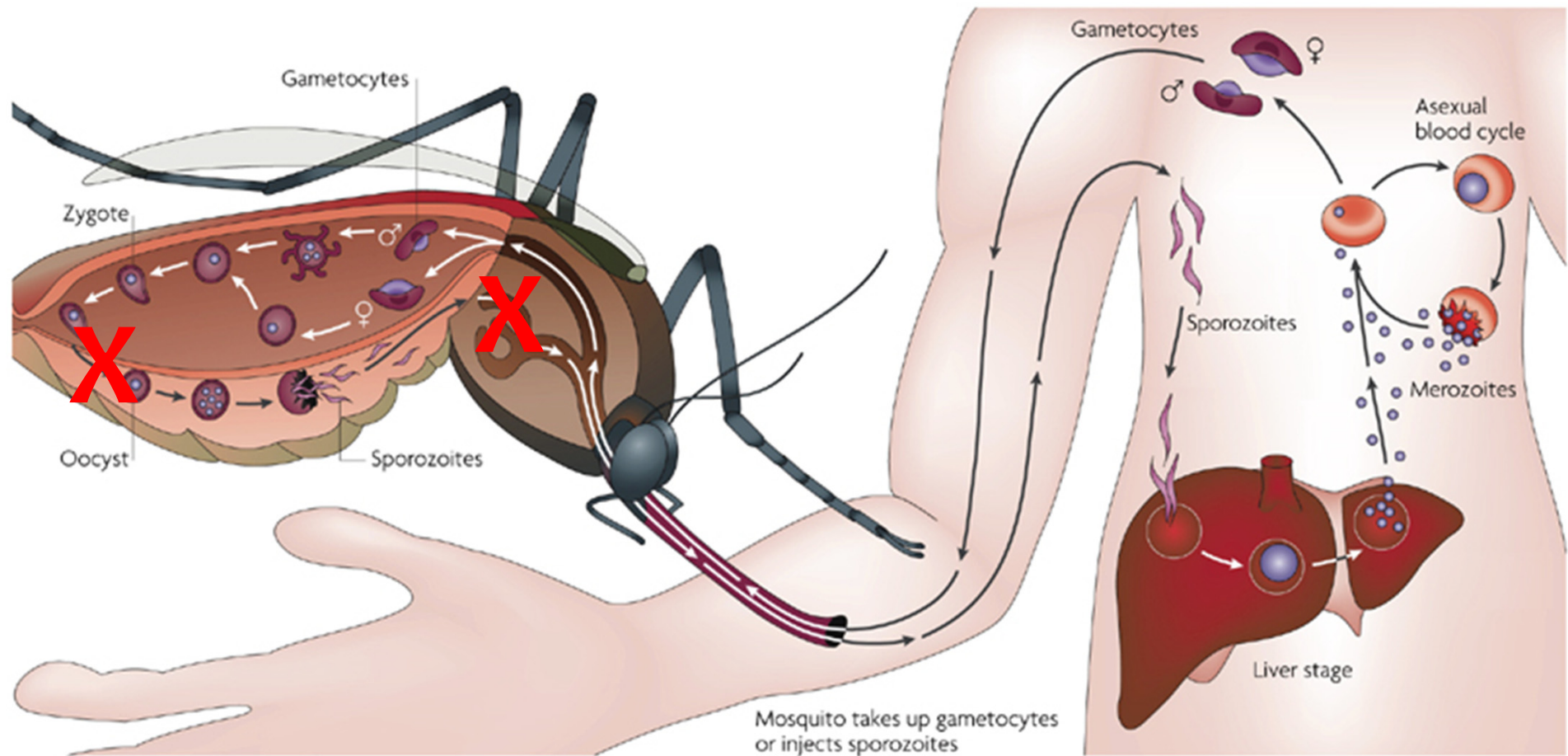
Bombyx mori



Tribolium castaneum



Ο κύκλος ζωής της ελονοσίας



Άλλες εφαρμογές....



