

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

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



# Βιοτεχνολογία Ζώων



# Τι είναι Βιοτεχνολογία;

## Γενικός ορισμός

*Η εφαρμογή της τεχνολογίας για την τροποποίηση ή βελτίωση ενός βιολογικού οργανισμού*

## Περιγραφικός ορισμός

*Η εφαρμογή της τεχνολογίας για την τροποποίηση της βιολογικής λειτουργίας ενός οργανισμού με την πρόσθεση, τροποποιημένων ή μη, γονιδίων από άλλους οργανισμούς*

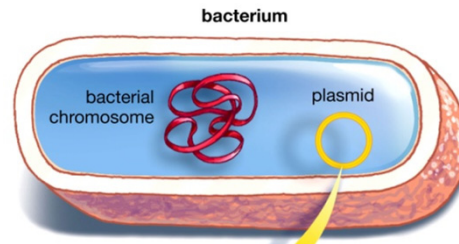
# Βιοτεχνολογία Ζώων

Θα εξετάσουμε:



Alba, το φωσφορίζον  
διαγονιδιακό κουνέλι  
(2000)

Γονιδιακή κλωνοποίηση  
για παραγωγή  
φαρμάκων



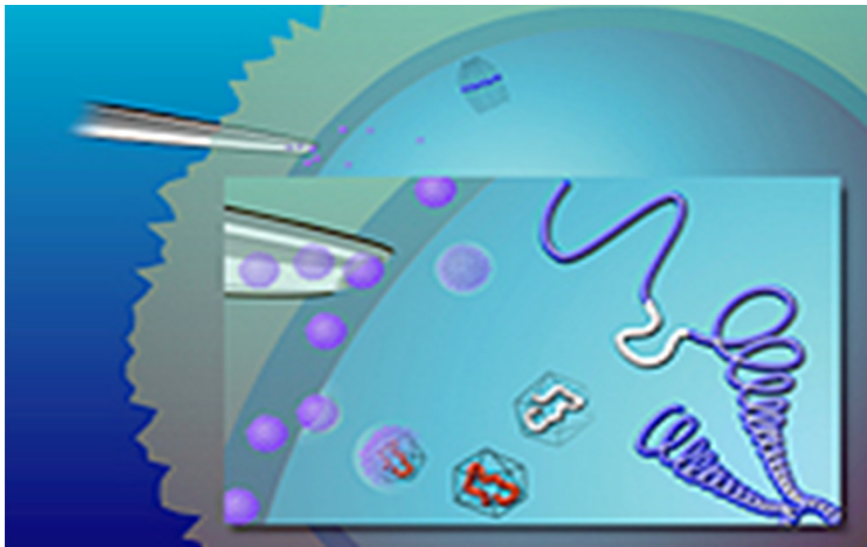
Κλωνοποίηση ζώων



DNA και  
βιοποικιλότητα

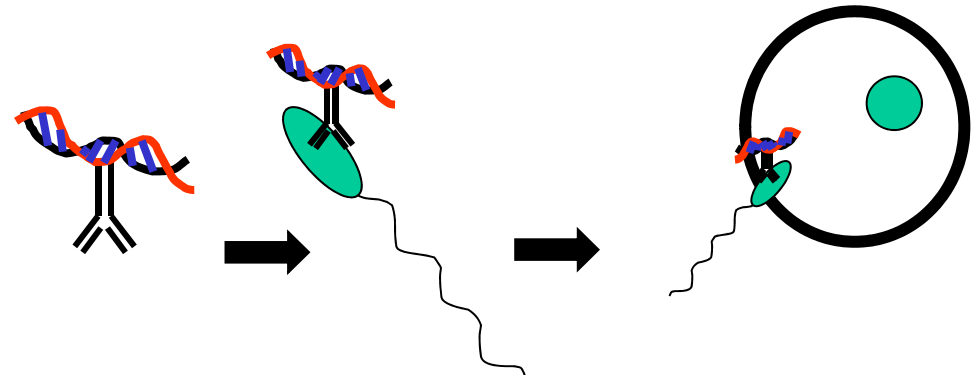
# Δημιουργία Διαγονιδιακών Ζώων

Ανασυνδυασμένοι  
Απενεργοποιημένοι  
Ρετροϊοί



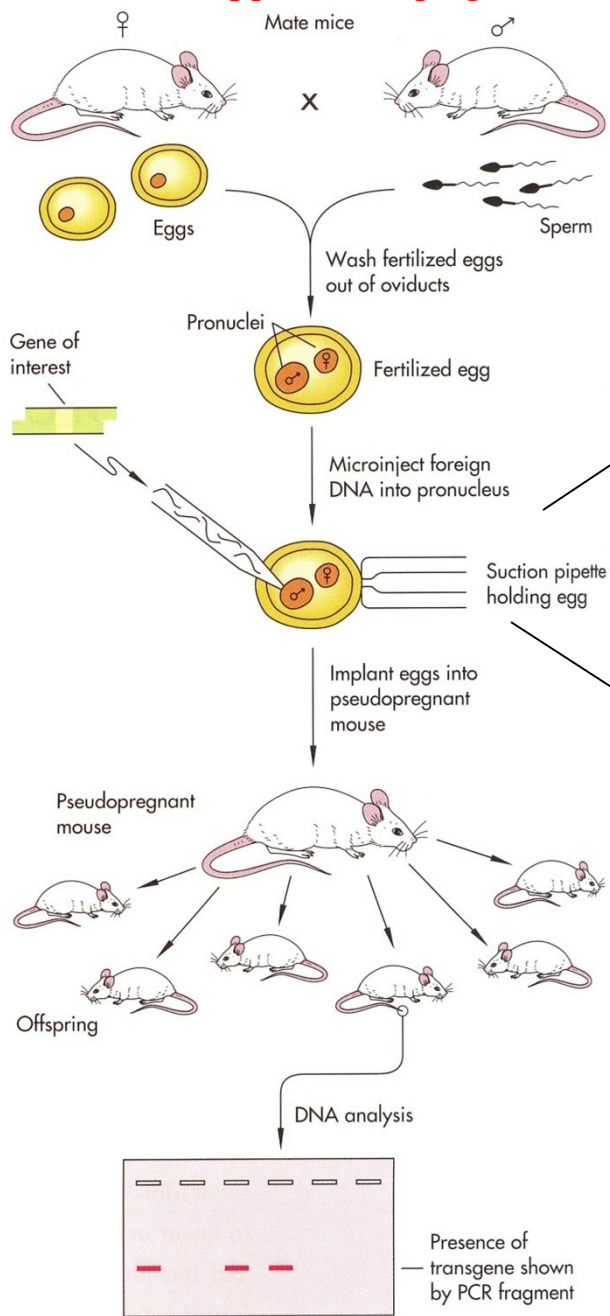
Τα ωάρια μολύνονται πριν την  
γονιμοποίηση  
Ο ιός ενσωματώνεται σε ένα  
από τα χρωμοσώματα

Linker Based Sperm-  
Mediated Gene Transfer (LB-  
SMGT)

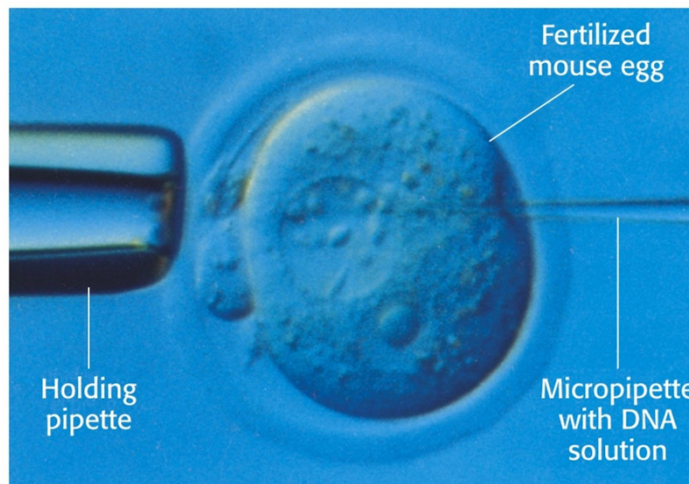


Το σπερματοζωάριο γονιμοποιεί  
το ωάριο, μεταφέροντας το ξένο  
γονίδιο στο ωάριο όπου και  
ενσωματώνεται στο γονιδίωμα

# Δημιουργία Διαγονιδιακών Ζώων



## Μικροένεση γονιδίων στους γαμέτες



Γονίδιο εισάγεται σε αρσενικούς προπυρήνες

# Δημιουργία Διαγονιδιακών Ζώων

Μειονεκτήματα των μεθόδων είναι:

- Το εισαγόμενο DNA ενσωματώνεται τυχαία στο γονιδίωμα
- Τα ωάρια πρέπει να συλλεχτούν και να γονιμοποιηθούν *in vitro*
- Περισσότερα από ένα αντίγραφα μπορεί να ενσωματωθούν στο γονιδίωμα

# Παραδείγματα Διαγονιδιακών Ζώων

## Διαγονιδιακή αγελάδα

Αγελάδες που φέρουν επιπλέον αντίγραφα δύο τύπων γονιδίων καζεΐνης και παράγουν 13% περισσότερη πρωτεΐνη στο γάλα

Περισσότερο θρεπτικό γάλα, περισσότερο τυρί με λιγότερο γάλα

Η όλη παραγωγή βρίσκεται κάτω από τον έλεγχο του FDA

Η σημαντική διαφορά από άλλες μεθόδους είναι πως το εισαγόμενο DNA δεν είναι ξένο



# Παραδείγματα Διαγονιδιακών Ζώων

## EnviroPig™

Διαγονιδιακά γουρούνια που εκφράζουν τη φυτάση στους σιελογόνους αδένες

Το φυτικό οξύ στο γεύμα γουρουνιών αποικοδομείται απελευθερώνοντας φώσφορο

Ο φώσφορος απορροφάται από το γουρο

Φυσιολογικά το σύμπλοκο φυτικό οξύ/φώσφορος απεκκρίνεται στα περιττώματα

Τα περιττώματα των γουρουνιών αποτελούν βασικό ρυπαντή προκαλώντας ευτροφισμό σε ποτάμια και λίμνες



# Παραδείγματα Διαγονιδιακών Ζώων

## Διαγονιδιακά Ψάρια

Χρησιμοποιήθηκε ο προαγωγέας μιας αντιψυκτικής πρωτεΐνης που συνδέθηκε με το GH cDNA

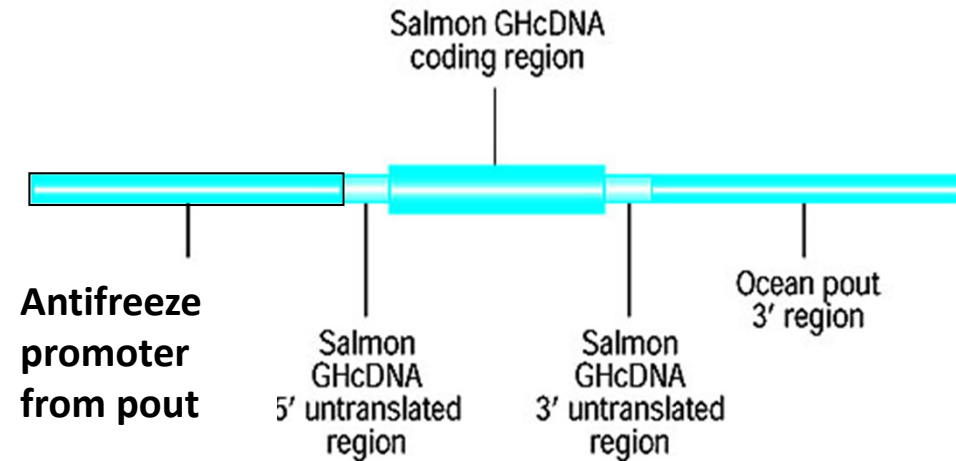
Τιλάπιες

Σολομός / Πέστροφα

Γατόψαρο

Μπορούν να αναπτυχθούν έως και 6 φορές γρηγορότερα από τα ψάρια άγριου τύπου

Περισσότερα επιπλέον αντίγραφα του γονιδίου της αυξητικής ορμόνης **growth hormone (GH)**



Καθώς η θερμοκρασία του νερού πέφτει το γονίδιο GH ενεργοποιείται και το ψάρι συνεχίζει να αυξάνεται ενώ δεν θα έπρεπε

Διαγονιδιακό  
Άγριου τύπου



**Ανησυχίες ότι τα υπερψάρια θα δραπετεύσουν στη φύση αν και είναι απομονωμένα από τα «άγρια» αποθέματα**

**Δικαιολογημένα εφόσον οι διαφυγές συμβαίνουν συχνά (~14 εκατ./έτος)**

**Τι θα συμβεί σε περίπτωση διασταύρωσης με τα άγρια ψάρια;**

**Σε πειράματα τα διαγονιδιακά αρσενικά γονιμοποιούν 3X πιο συχνά από τα μικρότερα άγρια**

**Οι απόγονοι των διαγονιδιακών αρσενικών ζουν κατά 70% λιγότερο από ότι των άγριων**

**Θα μπορούσε αυτό να οδηγήσει σε εξαφάνιση των άγριων πληθυσμών, σε απώλεια βιοποικιλότητας και εξαφάνιση του είδους;**



Fourteen month-old genetically engineered (“biotech”) salmon (left) and standard salmon (right)

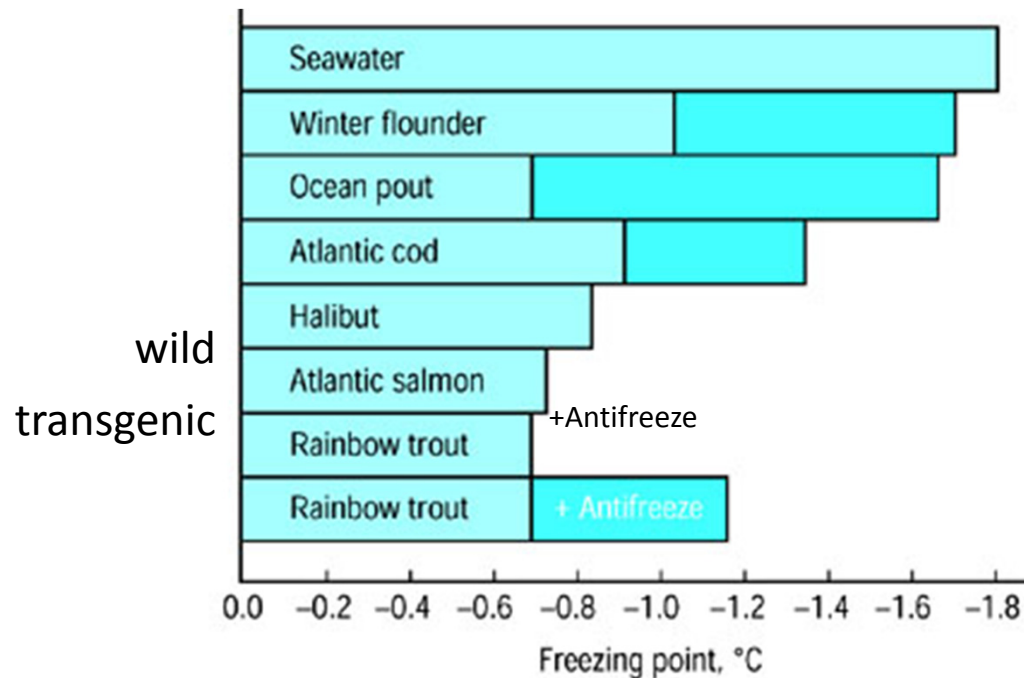
# Παραδείγματα Διαγονιδιακών Ζώων

## Αντιψυκτικές πρωτεΐνες (AFP)

AFPs χαμηλώνουν τη θερμοκρασία ψύξης του αίματος και των υγρών

Η πέστροφα φυσιολογικά δεν επιβιώνει σε νερό κάτω των  $-0.6^{\circ}\text{C}$

Διαγονιδιακή πέστροφα μπορεί να ζήσει σε νερά κρύα έως  $-1.2^{\circ}\text{C}$



# GM: GloFish

Το GloFish είναι ένα γενετικά τροποποιημένο φθορίζον zebrafish



Το πρώτο ΓΤ ζώο που έγινε δημοσίως διαθέσιμο ως κατοικίδιο



Το Φυσιολογικό zebra fish

## Παραδείγματα Διαγονιδιακών Ζώων

- Πότε; 1999
- Που; Πανεπιστήμιο Σιγκαπούρης
- Ποιος; Ομάδα επιστημόνων Σιγκαπούρης
- Γιατί; Για να δημιουργηθεί ένα ψάρι που θα φθορίζει παρουσία τοξινών του περιβάλλοντος

Πώς;

- 1) Εξαγωγή του γονιδίου φυσιολογικής πράσινης φθορίζουσας πρωτεΐνης από μέδουσα
- 2) εισαγωγή του γονιδίου στο γονιδίωμα του zebra fish

Στη συνέχεια αναπτύχθηκε:

- μια σειρά κόκκινων φθορίζοντων zebra fish → γονίδιο από κοράλλι
- και κίτρινα φθορίζοντα zebra fish → παραλλαγή του γονιδίου της μέδουσας

# Βιοτεχνολογία και Υγεία



## Προϊόν

## Χρήση

---

Ινσουλίνη

Διαβήτης

Ιντερφερόνη

Καρκίνος

Ιντερλευκίνη

Καρκίνος

Ανθρώπινη Αυξητική Ορμόνη

Νανισμός

Νευρο-ενεργές πρωτεΐνες

Πόνος

---

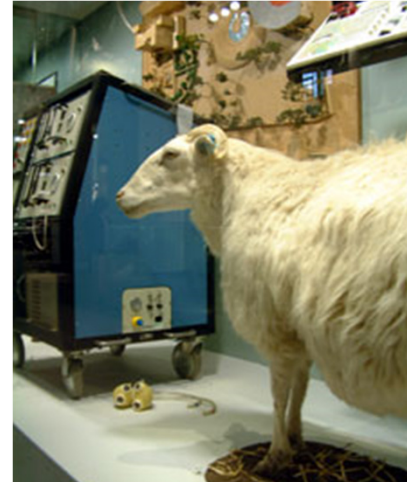
# **Ζωικοί Βιοαντιδραστήρες “Pharming”**

**Pharming είναι η παραγωγή φαρμακευτικών σε ΓΤ ζώα να περιέχουν το ξένο γονίδιο που παράγει το φάρμακο**



**Αυτές οι κασίκες περιέχουν το ανθρώπινο γονίδιο για την αντιθρομβωτική πρωτεΐνη που παράγουν στο γάλα τους**

## Alpha-1-antitrypsin (AAT)



**Το 1997 το πρόβατο Tracy ήταν το πρώτο διαγονιδιακό ζώο που παρήγαγε ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη στο γάλα του**

**Την alpha-1-antitrypsin (AAT) που χρησιμοποιήθηκε στη θεραπεία του εμφυσήματος και της κυστικής ίνωσης**

**Δημιουργήθηκε από την PPL Therapeutics & The Roslin Institute**



## Βιο-χάλυβας

Η Nexia Biotechnologies μετέφερε το γονίδιο παραγωγής μεταξιού από αράχνες σε κατσίκες

Το αρσενικό που προέκυψε χρησιμοποιήθηκε για να γονιμοποιήσει θηλυκές κατσίκες που παρήγαγαν ποσότητες πρωτεΐνης μεταξιού στο γάλα τους

Το μετάξι εξάγεται, λυοφιλίζεται σε άσπρη σκόνη και μετατρέπεται σε ίνες που είναι πιο ανθεκτικές και εύκαμπτες από ότι το ατσάλι

Η πρωτεΐνη χρησιμοποιείται για την κατασκευή αλεξίσφαιρων γιλέκων



Διαγονιδιακές κατσίκες που φέρουν το γονίδιο για το μετάξι

**Η GTC Biotherapeutics έλαβε την έγκριση να πουλάει ανθρώπινη αντι-θρομβίνη (ATryn) μετά τον καθαρισμό της από γάλα κατσίκας**

**Ωστόσο η τεχνολογία δεν περιορίστηκε σε αγελάδες, κατσίκες και πρόβατα**

**Έχουν ήδη χρησιμοποιηθεί κουνέλια εφόσον το κόστος εκτροφής τους είναι σημαντικά χαμηλότερο και ο χρόνος γενιάς πιο γρήγορος**

**Κοτόπουλα που παράγουν ανασυνδυασμένα φάρμακα στα αυγά τους παράχθηκαν από το Roslin Institute**



# Τι είναι η Βιοφαρμακευτική;

## Ορισμός Βιοφαρμακευτικής

**Ανάπτυξη διαγονιδιακών φυτών που εκφράζουν *φαρμακευτικά προϊόντα***

## Παραδείγματα:

**Φάρμακα**

**Αντισώματα**

**Πρωτεΐνες**

# Γιατί να χρησιμοποιηθεί αυτή η τεχνολογία;

## Γνωστά Συστήματα Παραγωγής

- Τα γονίδια εισάγονται σε φυτά (κυρίως καλαμπόκι)
- Δεν χρειάζονται νέα συστήματα παραγωγής
- Οι παραγωγοί μπορούν να χρησιμοποιήσουν παραδοσιακές στρατηγικές καλλιέργειας

## Μειωμένο κόστος τελικού προϊόντος

- Ζωικό σύστημα \$1000 - \$5000 ανά γραμμάριο πρωτεΐνης
- Φυτικό σύστημα \$1 - \$10 ανά γραμμάριο πρωτεΐνης

# Βρώσιμα Εμβόλια – Το όνειρο

## Βιοτεχνολογικά Φυτά για Ανθρώπινες Ανάγκες Υγείας

- Το γονίδιο μιας παθογόνου πρωτεΐνης κλωνοποιείται
- Το γονίδιο εισάγεται στο DNA του φυτού (πατάτα, μπανάνα, τομάτα)
- Οι άνθρωποι τρώνε το φυτό
- Ο οργανισμός παράγει αντισώματα εναντίον της παθογόνου πρωτεΐνης
- Ο άνθρωπος ανοσοποιείται ενάντια στο παθογόνο
- Παραδείγματα:
  - ✓ Διάρροια
  - ✓ Ηπατίτιδα Β
  - ✓ Ίλαρά



## Βιοτεχνολογική χυμοσίνη



- ✓ Ένζυμο για το πήξιμο προϊόντων του γάλατος
- ✓ Γονίδιο από τη ζύμη
- ✓ Θα συλλεχθεί από ΓΤ βακτήρια
- ✓ Θα αντικαταστήσει το ένζυμο του μοσχαριού



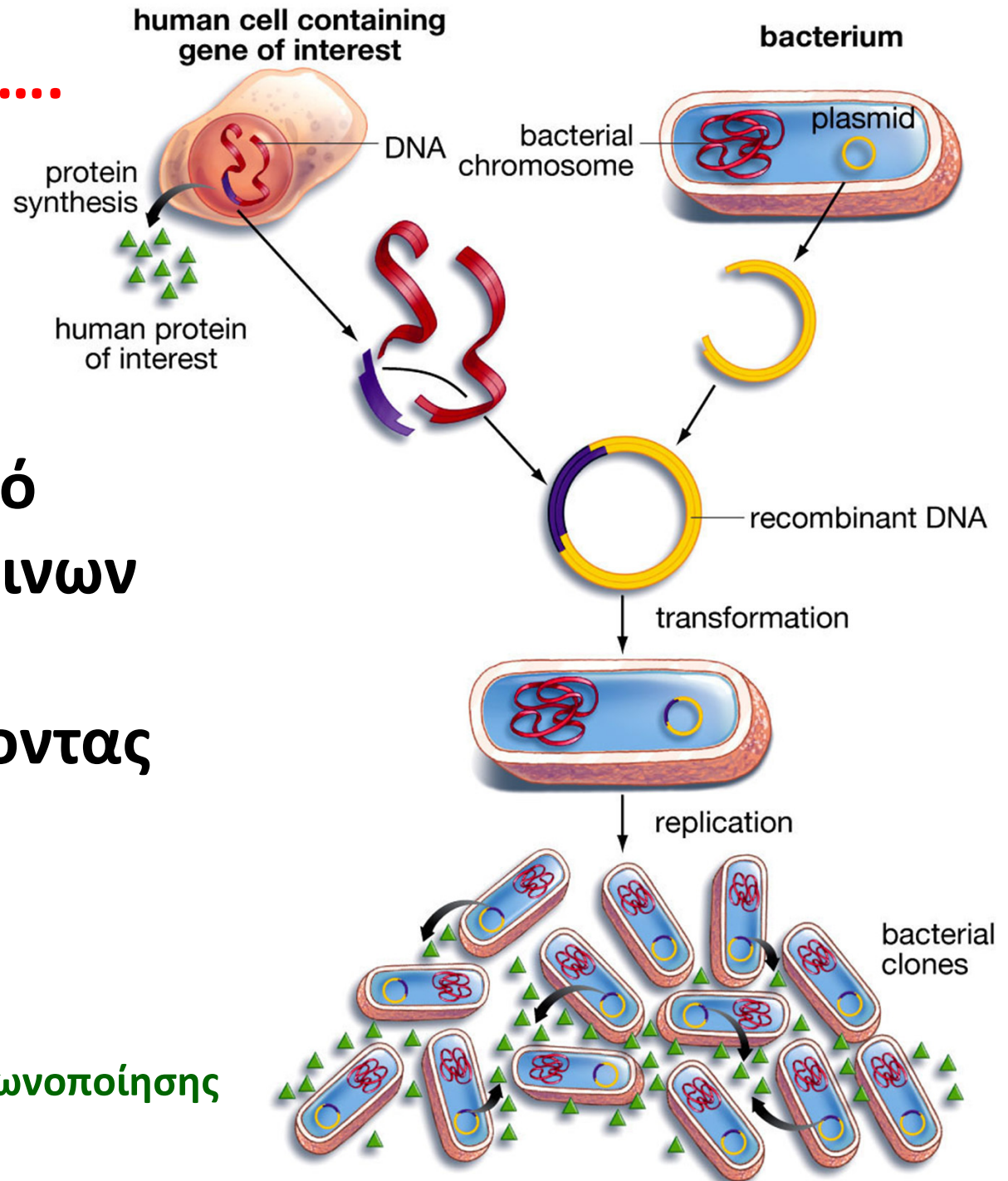
## Σωματοτροπίνη βοδιού

- ✓ Αυξάνει την παραγωγή γάλατος
- ✓ Γονίδιο από αγελάδα
- ✓ Η πρωτεΐνη συλλέγεται από βακτήρια
- ✓ Αντικαθιστά την πρωτεΐνη που συλλεγόταν από την υπόφυση σφαγιασμένων αγελάδων

**Και να μη ξεχνάμε....**

**Την παραγωγή από  
βακτήρια ανθρώπινων  
πρωτεϊνών, όπως  
ινσουλίνη, παράγοντας  
αιμοφιλίας κλπ**

**Σύνοψη της κλωνοποίησης  
γονιδίου**





Κλωνοποίηση ζώων



# CLONING TIMELINE

**From:**  
**Cloning special:**  
**Dolly: a decade on**  
**Meredith Wadman**  
**Nature 445, 800-801**  
**doi:10.1038/445800a**

1952

Robert Briggs and Thomas King in Philadelphia, Pennsylvania, describe how they cloned frogs (*Rana pipiens*) by replacing the nuclei of eggs with cells from tadpoles and adult intestinal epithelium. A similar experiment was first proposed by Hans Spemann at the University of Freiberg, Germany, in 1938.



1984

Chinese researchers clone a fish — the crucian carp (*Carassius carassius*) — from cultured kidney cells.



1996

Researchers at the Roslin Institute in Scotland clone two lambs — Megan and Morag — from embryonic cells. This was a crucial step towards cloning an animal from an adult cell, and is seen by some scientists as a bigger breakthrough than Dolly herself.

1997

Roslin researchers announce the birth of Dolly the sheep, the first mammal to be cloned from an adult cell, igniting public debate about the prospects for cloning humans.



1998

Scientists at the University of Hawaii reveal the cloning of three generations of mice from the nuclei of adult cells, suggesting the technique could work on other mammals.



1998

Japanese researchers report cloning eight calves using adult cells from slaughterhouse entrails, raising the possibility that animals could be cloned for the quality of their meat.



1998

Scientists in New Zealand announce Elsie, a clone created from an adult cell from the last surviving Enderby Island cow (*Bos gaurus*). Attempts to clone endangered species have met with criticism that the technique will do little good without concurrent habitat preservation.



2000

PPL Therapeutics in Scotland unveils a litter of five cloned piglets. The firm says that genetically engineered cloned pigs could one day provide a source of organ transplants for humans.



2002

The first cloned cat (*Felis domesticus*), named cc for 'copycat', is announced by Texas A&M researchers. Cc's coat pattern is not the same as her genetic donor's, showing the impact on development of non-genetic effects.



(from Nature 405: 800-802)

2003

Italian scientists at the Laboratory of Reproductive Technology in Cremona announce Prometea, the first horse (*Equus caballus*) clone created from a skin cell, raising hopes that clones could one day perpetuate the genetic line of castrated geldings.



2003

French and Chinese scientists unveil Ralph the cloned laboratory rat (*Rattus norvegicus*). Rats had been tough to clone because rat eggs divide before the point at which the donor DNA is injected, so the technique relied on using drugs to inhibit division.



2004

Although Seoul National University researcher Woo Suk Hwang's claim to have derived stem-cell lines from cloned human embryos was later discredited, his group can still boast the most experience, and probably the highest number of cloned human embryos, but there is no hard evidence for this.



2005

Hwang's lab announces Snuppy the cloned dog. Although much of the stem-cell research from this lab has been discredited, Snuppy's clonal credentials have been confirmed.



Heidi Ledford

(Nature 405: 800-802)

# Dolly το πρόβατο

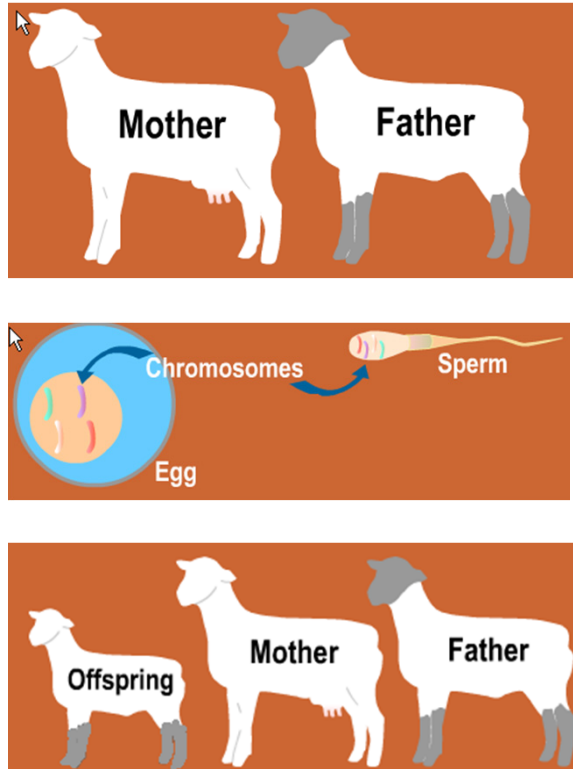
- Γέννηση: 5 Ιουλίου, 1996 † 14 Φεβρουαρίου, 2003
- κλωνοποιήθηκε στο Roslin Institute στο Edingburgh
- το πρώτο κλωνοποιημένο θηλαστικό από ώριμα σωματικά κύτταρα με τη χρήση μεταφοράς πυρήνα
- πήρε το όνομά του από την τραγουδίστρια Dolly Parton



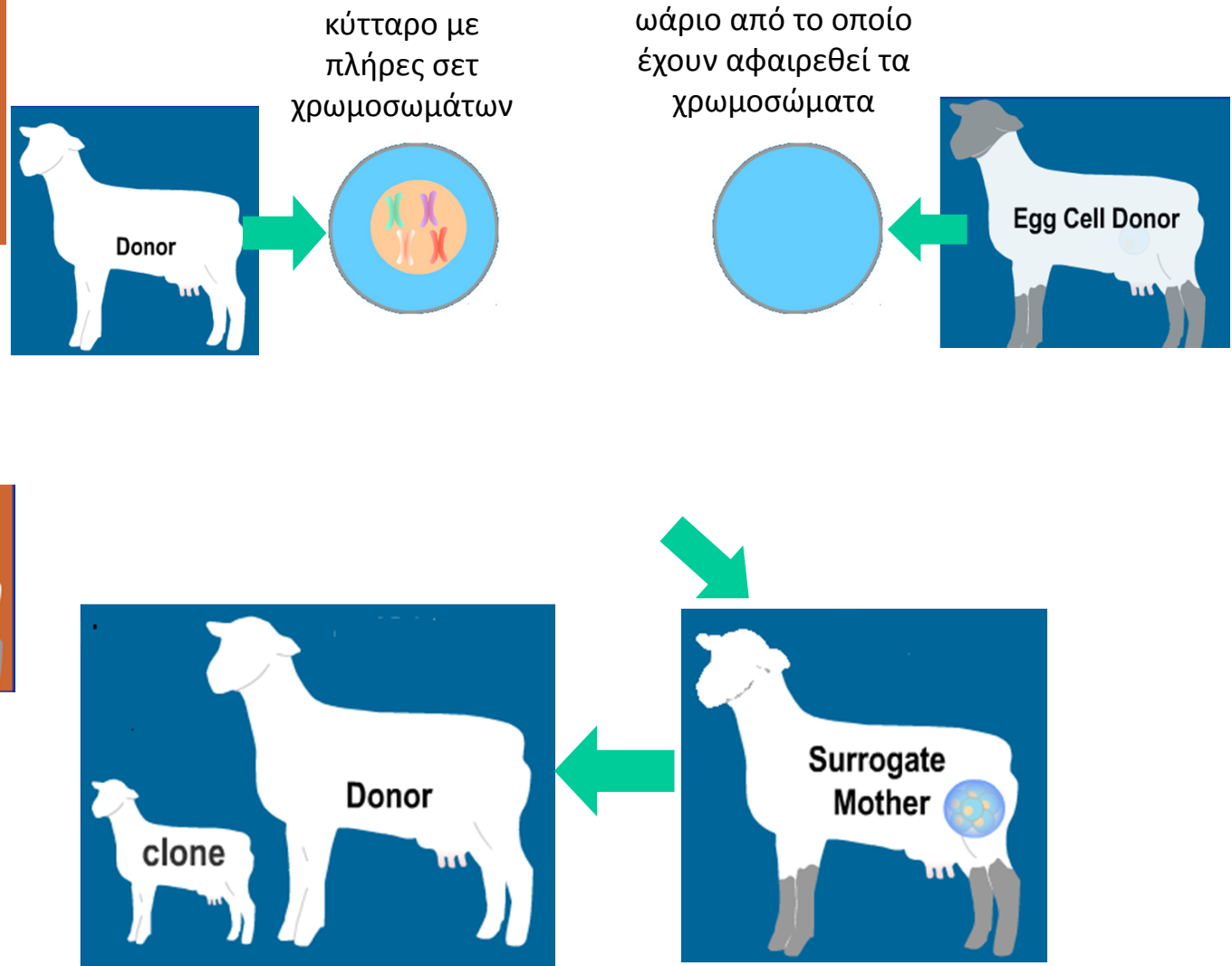
## ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΖΩΗΣ:

- Πέρασε όλη της τη ζωή στο Roslin Institute
- γέννησε έξι αρνάκια
- στα 5 της, η Dolly προσβλήθηκε από αρθρίτιδα, με βαδιστικές δυσκολίες
- ευθανασία εξαιτίας προϊούσας ασθένειας των πνευμόνων
- → στο Roslin πιστεύουν ότι δεν υπήρξε σύνδεση με το γεγονός ότι ήταν κλώνος
- τέτοιες ασθένειες είναι συχνές σε εσώκλειστα πρόβατα
- → έπρεπε να μείνει μέσα για λόγους ασφαλείας

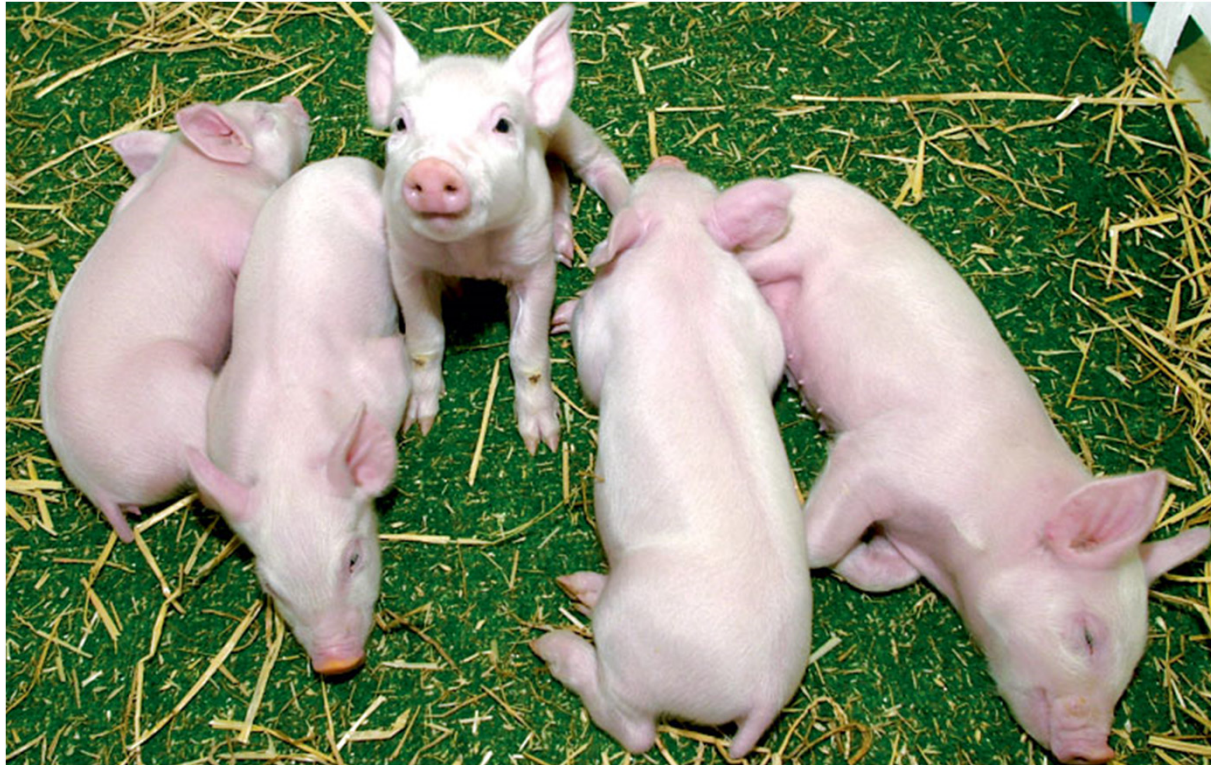
# Φυσιολογική Γονιμοποίηση



# Κλωνοποίηση Ζώου



# Γιατί να κλωνοποιήσουμε ζώα;



Πέντε γενετικά όμοια κλωνοποιημένα γουρούνια

Για να απαντηθούν ερωτήματα  
βασικής βιολογίας

Για τη βελτίωση του ζωικού  
κεφαλαίου

Για διατήρηση της βιοποικιλότητας

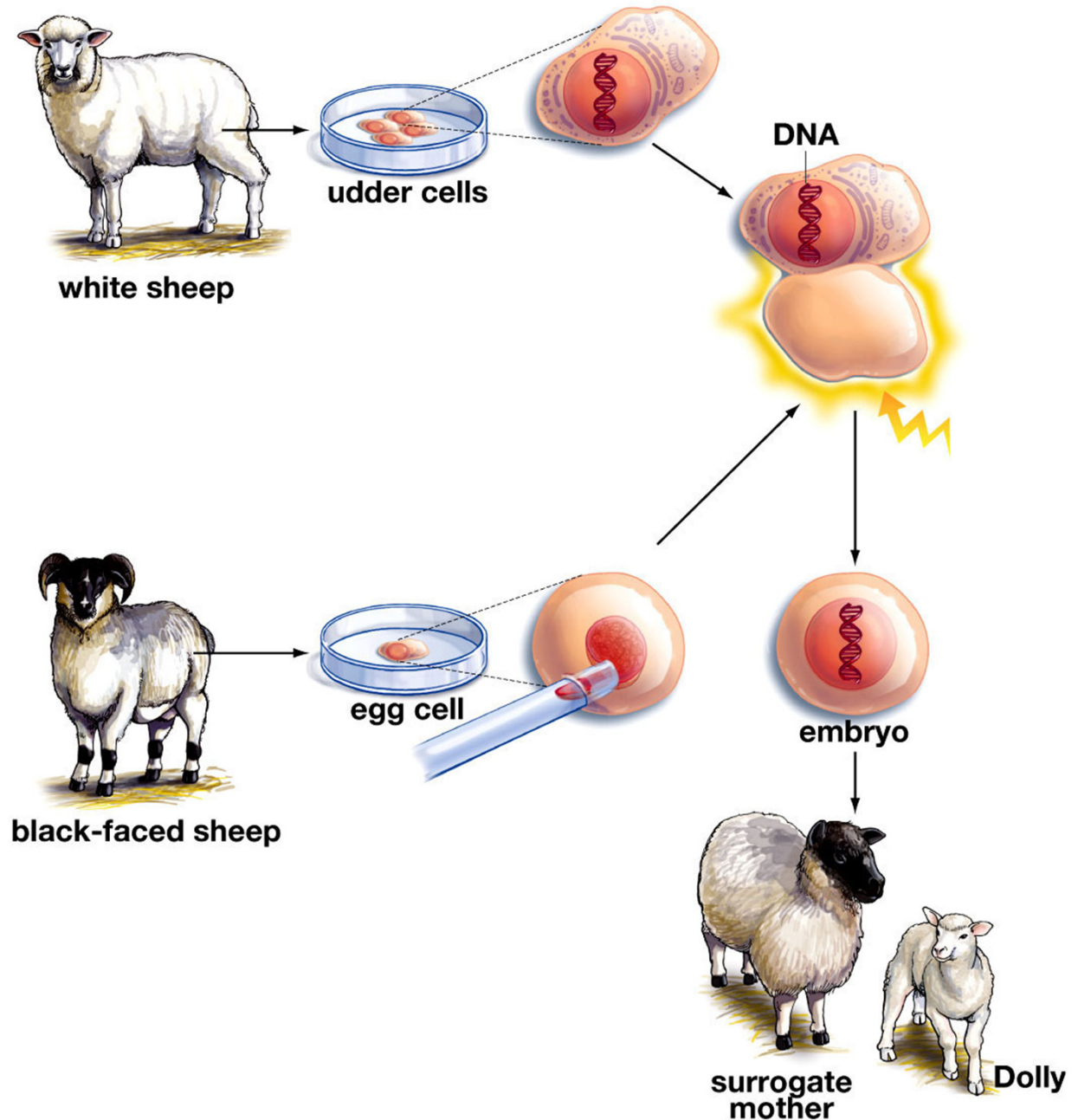
Για παραγωγή φαρμάκων

Για την ικανοποίηση των  
επιθυμιών μας (κλωνοποίηση  
κατοικίδιων)

# Η Βιοτεχνολογία της αναπαραγωγικής κλωνοποίησης

Ακόμη και κάτω από τις καλύτερες συνθήκες η σύγχρονη τεχνική κλωνοποίησης είναι πολύ αναποτελεσματική (277 προσπάθειες για να την Dolly)

Η κλωνοποίηση παρέχει την πιο άμεση απόδειξη ότι όλα τα κύτταρα ενός οργανισμού μοιράζονται το ίδιο γενετικό αποτύπωμα



## 1998 — Η χρονιά των κλώνων

Επιστήμονες στο Πανεπιστήμιο της Hawaïi κλωνοποίησαν πάνω από 50 ποντίκια από ώριμα κύτταρα δημιουργώντας τρεις γενιές πανομοιότυπων εργαστηριακών ζώων.



Peter Morgan / Reuters



Στο μεταξύ διάφοροι επιστήμονες ανεξάρτητα κλωνοποίησαν επιτυχώς μοσχάρια χρησιμοποιώντας διαφορετικές τεχνικές

Ειδικότερα Ιάπωνες παράγαν 8 γενετικά όμοια μοσχάρια από κύτταρα που αφαιρέθηκαν από ηλικιωμένη αγελάδα, με ποσοστό επιτυχίας 80%, την αποτελεσματικότερη προσπάθεια κλωνοποίησης έως σήμερα

## 2000 — Ιστορίες για μαϊμούδες

Επιστήμονες του Oregon αποκάλυψαν την ύπαρξη της Tetra μιας κλωνοποιημένης μαϊμούς. Ο rhesus μακάκος δημιουργήθηκε με διαφορετική τεχνική από τη Dolly. Δημιουργήθηκε με το διαχωρισμό ενός πολύ πρώιμου εμβρύου, από 8 μόνο κύτταρα, σε 4 κομμάτια. Αυτά καλλιεργήθηκαν σε νέα έμβρυα αλλά μόνο το ένα επέζησε.

Έτσι, αντίθετα με τη Dolly, η Tetra είχε μητέρα και πατέρα αλλά δεν είναι ο κλώνος κανενός. Πρόκειται μάλλον για ένα τεχνητό τετράδυμο.

Επιπλέον, το Roslin ανακοίνωσε τη γέννα από 5 γουρουνάκια με τη μία, με στόχο να χρησιμοποιηθούν για τη δημιουργία γενετικά τροποποιημένων μοσχευμάτων για ανθρώπους.



AFP file



FA



# Carbon Copy (CC)– Το πρώτο κλωνοποιημένο κατοικίδιο



Το 2002 επιστήμονες από το Texas A&M University ανακοίνωσαν την κλωνοποίηση γάτας. Η CC είναι δίδυμη με τη γενετική «μητέρα» της, ωστόσο διέφεραν στο χρώμα της γούνας, λόγω περιβαλλοντικών παραγόντων.

Ειδικά test απέδειξαν ότι η CC είναι κλώνος, αν και όχι “Carbon Copy”

Από τα 87 εμφυτεύματα μόνο η CC επέζησε και γεννήθηκε



Δότρια Φέρουσα μητέρα και CC

(Science (2002) 295:1443)



Pat Sullivan / AP

Ο Rainbow αριστερά με τον κλώνο του CC

# Prometea (Προμηθέας)

- Το πρώτο κλωνοποιημένο άλογο (Haflinger)
- Γεννήθηκε: 28 Μαΐου, 2003 στην Ιταλία
- Η ύπαρξή του δημοσιοποιήθηκε στις 6 Αυγούστου, 2003

## Διαδικασία κλωνοποίησης

- Λήψη επιδερμικών κυττάρων από φοράδα
- Η δότρια DNA ήταν επίσης και η φέρουσα μητέρα που γέννησε το αντίγραφό της
- 327 προσπάθειες απέτυχαν, μόνο ο Prometea επέζησε
- Ο προμηθέας το 2008 γέννησε ένα πουλάρι, τον πήγασο, που χαίρει άκρας υγείας



Ο προμηθέας και η μητέρα-αντίγραφο



Προμηθέας και πήγασος

# Η όλη ιστορία της κλωνοποίησης δεν γίνεται για την αναπαραγωγή

Η πιθανότητα χρήσης τεχνολογίας κλωνοποίησης για την ανάπτυξη οργάνων γενετικά όμοιων με τα δικά μας για μεταμοσχεύσεις – αποφεύγοντας έτσι την απόρριψη των ξένων ιστών



Ο μεγαλύτερος κίνδυνος:  
Οι κλώνοι να δημιουργούνται για τα μέρη του σώματός τους

# Γουρούνια και ιστοσυμβατότητα



**Κλώνοι από γουρουνάκια που δημιουργήθηκαν από την PPL Therapeutics το 2000**

**Τα γουρουνάκια φέρουν ένα σιωπηρό αντίγραφο της α 1,3 γαλακτοσυλ τρανσεράσης, ή GT, ένα ένζυμο που εμπλέκεται στην απόρριψη οργάνων**

**Προκειμένου να επιτευχθεί συμβατότητα ένα δεύτερο αντίγραφο του γονιδίου GT θα πρέπει επίσης να αποενεργοποιηθεί**

# Κλωνοποίηση απειλούμενων ειδών



# **Κλωνοποίηση απειλούμενων ειδών**

## **Τρέχουσα κατάσταση**

- Ο ρυθμός των ειδών που χάνονται επιταχύνεται
  - αλλαγή ενδιαιτημάτων
  - ρύπανση και μόλυνση περιβάλλοντος
  - φαινόμενο θερμοκηπίου
  - επέκταση των ανθρώπινων κοινωνιών
- Ένα στα τέσσερα ζώα στη λίστα των απειλούμενων
- Μαζική μείωση των ζωικών πληθυσμών
  - απώλεια βιοποικιλότητας
  - μείωση σταθερότητας των οικοσυστημάτων

# Κλωνοποίηση απειλούμενων ειδών

## Τρέχουσα κατάσταση

- Επικριτές → λιγότερες επενδύσεις, καλύτερα αποτελέσματα
- Επικέντρωση σε μεγάλα, ωραία και χαρισματικά ζώα  
→ συναισθηματικές αποφάσεις
- Ασπόνδυλα  
→ λογική σκέψη
- Αναλυτική και ολιστική άποψη
- Εμπλοκή τοπικών κοινωνιών
- Η ουσία του προβλήματος: η φτώχεια που περιβάλλει το περιβάλλον → ενίσχυση τοπικών κοινωνιών

## Ειδική περίπτωση: Λεοπάρδαλη Amur

- Το πιο σπάνιο αιλουροειδές στον κόσμο (30 άτομα)  
→ απώλεια ενδιαιτήματος, λαθροθηρία
- Αιμομιξία → δυσμορφίες, στειρότητα
- Ενδιαίτημα: Ρωσική Άπω Ανατολή
- Ζώο υψηλής προτεραιότητας





# Ειδική περίπτωση: Πολική Αρκούδα

- Άκρως απειλούμενο ζώο
  - Λιώσιμο πάγων (κατάπτωση, κυνήγι)
- Πρέπει να αλλάξει ενδιαίτημα
  1. Να βρει πάγο
  2. Να πάει νότια σε εκτροφεία
- Εκτίμηση: απώλειες 35% σε 50 χρόνια



# Η ιδέα της βιβλιοθήκης DNA

- Διατήρηση της γονιδιακής δεξαμενής με τη δημιουργία βιβλιοθήκης
  1. Λήψη ιστών
  2. Καλλιέργεια κυττάρων
  3. Κατάψυξη κυττάρων σε υγρό άζωτο
- Το DNA είναι ζωντανό και ικανό να αναπαράγει έμβρυα
- Κύτταρα: πλήρης σειρά DNA
- Μπορεί να ανατρέψει την εξάλειψη (εάν οι συγγενείς είναι διαθέσιμοι)

# Τα εξαφανισμένα και τα πραγματικά απειλούμενα;



Mammoth

Bucardo

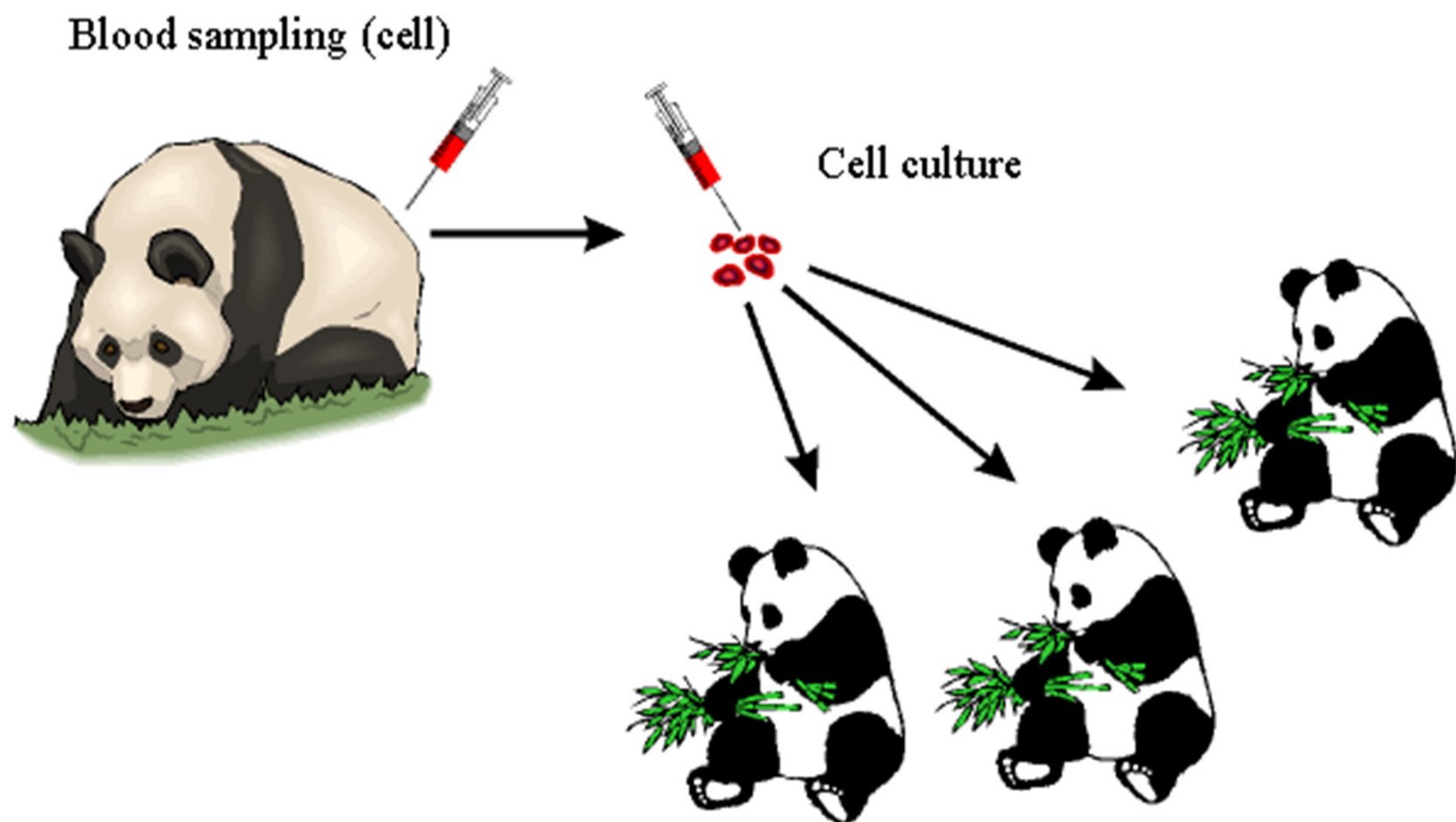


Quagga

Gaur



## Cloning technique in preventing endangered species extinct



# Η κλωνοποίηση του Gaurus

- Οπληφόρο ζώο
- Ινδία και νοτιοανατολική Ασία
- Κυνήγι για sport, μείωση των πληθυσμών
- Η επιλογή του Gaurus
  - ίδιο μέγεθος, παρόμοιο μέγεθος και περίοδος κήσης με αγελάδα
  - δυσκολία να αναπαραχθεί σε ζωολογικούς κήπους
- Συγχώνευση των σωματικών κυττάρων του Gaurus με απύρρηνα ωοκύτταρα αγελάδας
- Τα έμβρυα μεταφέρθηκαν σε φέρουσα μητέρα
- Πολλές αποβολές εμβρύων



# Σωτηρία με κλωνοποίηση;

Μερικοί πιστεύουν ακράδαντα, ενώ πολλοί βλέπουν αυτές τις προσπάθειες περισσότερο ως πυροτέχνημα

Να σημειωθεί η χρήση του στενού συγγενικού είδους, της κατοικίδιας κατσίκας, ως δότη αυγού και φέρουσας μητέρας



**FIGURE 15.8 Endangered and Cloned** The animal on the right, a Siberian ibex, was cloned from an adult ibex, but the egg cell used in the procedure was donated by a common goat like the one at left. The goat in the picture served as the surrogate mother in the procedure, giving birth to the ibex in 2004.

ember 11,  
y all the  
f closure

# Η κλωνοποίηση του Banteng



**Ο Noah, ένας κλώνος Banteng που δημιουργήθηκε από την Advanced Cell Technologies**

**Τα Banteng είναι απειλούμενα άγρια βοοειδή από την Νοτιοανατολική Ασία**

**Ο κλώνος δημιουργήθηκε από κατεψυγμένο ιστό ζώου που είχε πεθάνει το 1980. DNA του ιστού εισήχθη σε κύτταρα ωάρια αγελάδας και στη συνέχεια σε άλλη φέρουσα μητέρα**

## Επιχειρήματα υπέρ

- Ένας τρόπος να θεραπεύσουμε το πρόβλημα των απειλούμενων ειδών
- Το μόνο εργαλείο που διαθέτουμε
- Η κλωνοποίηση επιτρέπει να επιλέξουμε τους καλύτερους και τους υγιέστερους δότες

## Επιχειρήματα αντί

- Κλώνος = αντίγραφο του άγριου ζώου → άλλες συνήθειες συμπεριφοράς ή φυσιολογίας (εξημέρωση)
- Ίσως εμποδίσει τις προσπάθειες να διατηρηθεί η ποικιλία των ενδιαιτημάτων
- → ίσως αρνητικές επιπτώσεις σε άλλα ζώα
- Το πρόβλημα των εξαλείψεων δεν μειώνεται
- → καλύτερα: πάταξη της λαθροθηρίας
- Δίνει λάθος εντύπωση της ασφάλειας (μη διατήρηση των ενδιαιτημάτων)
- Πολλές αποβολές εμβρύων



# Να κλωνοποιήσουμε το μαμούθ

- Μεταφορά DNA του μαμούθ σε wάριο ελέφαντα
- Εξαφανίστηκε πριν από 4.000 χρόνια



# Το επόμενο βήμα;



Αρκετά απίθανο

# Οι άνθρωποι είναι οι επόμενοι;



AFP file

- 2001 — Ο ειδικός στις γονιμοποιήσεις στις ΗΠΑ Panayiotis Zanos με μια διεθνή ομάδα επιστημόνων ανακοινώνουν ότι εκατοντάδες ζευγάρια είναι εθελοντές για πειράματα κλωνοποίησης παιδιών. Η ομάδα θεωρούσε ότι θα ανακούφιζε με ανθρώπινους κλώνους στείρα ζευγάρια μέχρι το 2003.
- Η Βρετανία γίνεται η πρώτη χώρα που νομιμοποιεί την κλωνοποίηση ανθρώπινων εμβρύων, όταν η κυβέρνηση ενέκρινε ένα αντιφατικό μέτρο με στόχο να επιτρέψει την έρευνα σε βλαστικά κύτταρα που βρίσκονται σε έμβρυα.
- Οι κλώνοι σύμφωνα με τη νέα νομοθεσία έπρεπε να καταστραφούν μετά από 14 μέρες και η δημιουργία κλώνων-μωρών παραμένει εκτός νόμου

## Θα συνεχίσουν οι άνθρωποι να προσπαθούν;

- Ο Dr. Zavos ανακοίνωσε το 2004 στο Λονδίνο ότι εμφύτευσε ένα κλωνοποιημένο έμβρυο στη μήτρα μιας 35χρονης γυναίκας. Λίγες μέρες μετά ανακοινώθηκε ότι η προσπάθεια απέτυχε
- Η ομάδα:
  1. πήρε από μια 35χρονη γυναίκα ένα ωάριο
  2. αντικατάστησε τον πυρήνα του με το γενετικό υλικό του άνδρα τηςμετέφερε το έμβρυο που προέκυψε στη μήτρα της.





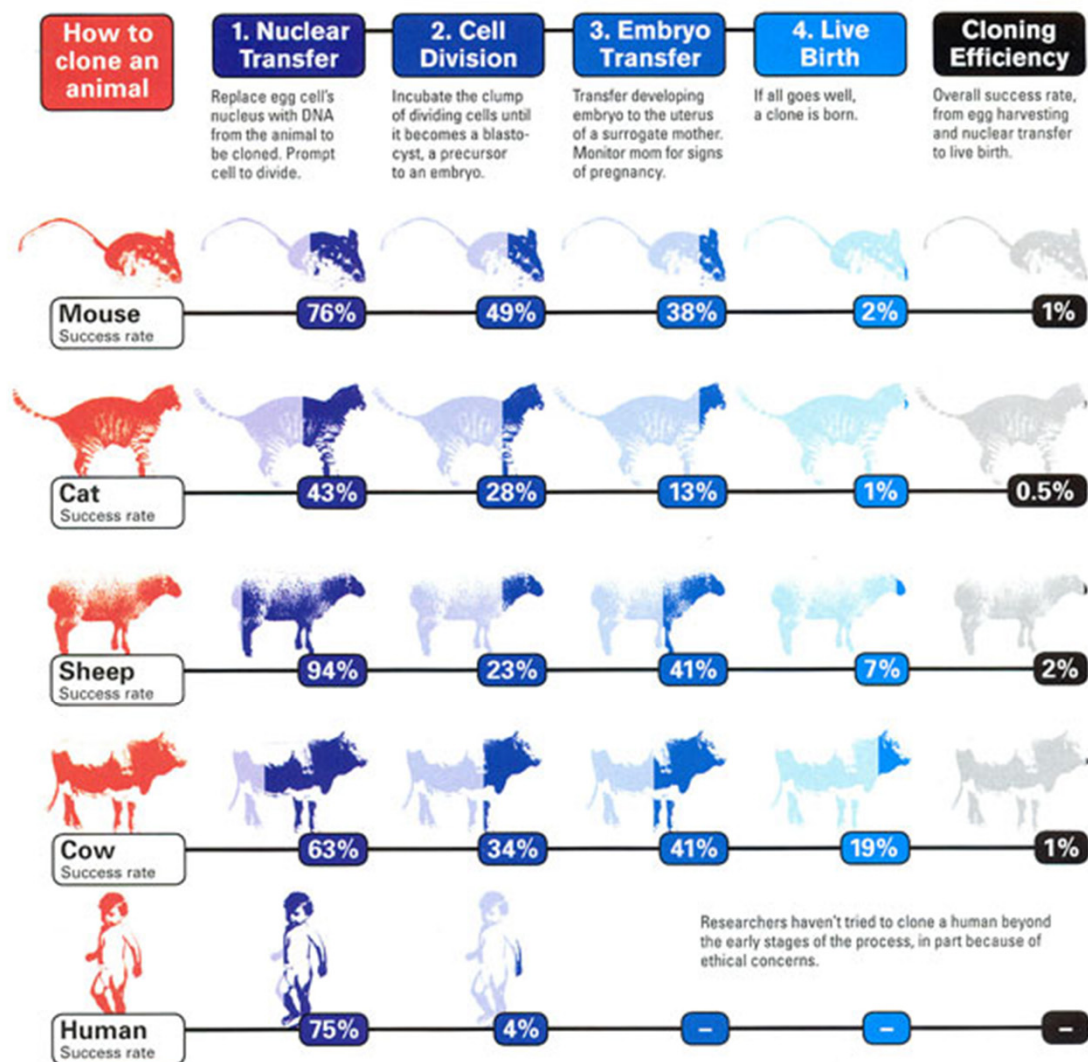
- **2004** — Ο Woo Suk Hwang, του Seoul National University στην Κορέα, και η ομάδα του θεωρήθηκαν οι πρώτοι που κλωνοποίησαν επιτυχώς ανθρώπινο έμβρυο και στη συνέχεια επέλεξαν τα βασικά του βλαστικά κύτταρα

**Το 2006, τα δεδομένα του Hwang βρέθηκαν παραποιημένα. Αυτό δημιουργεί ερωτήματα ως προς την αξιοπιστία στην έρευνα της ανθρώπινης κλωνοποίησης**

# The Killer Task of Cloning

Copying mammals fails 98 percent of the time.

Fears surrounding cloning are based more in hysteria than in science. After all, producing a genetic duplicate isn't exactly a trip to the Xerox machine; cloning is really hard. Researchers face significant drop-offs in success rates at each step of the process, and less than 2 percent of their efforts produce a live animal. Dolly the sheep arrived after some 250 attempts, and she lived only half as long as the average ewe. Until the science improves, there's not much to be afraid of. — Greta Lorge



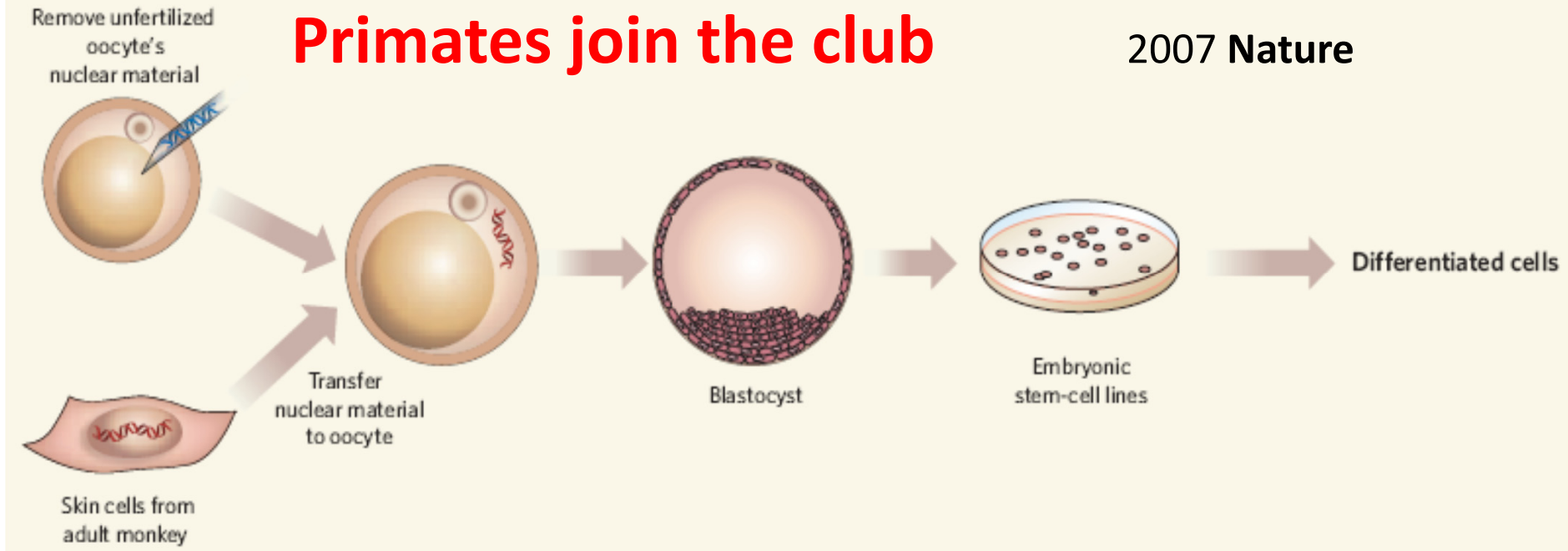
Sources: *Biology of Reproduction*; *Cloning and Stem Cells*; *Genetics and Molecular Research*; *Journal of Reproduction and Development*; *Journal of Reproduction and Fertility*; *Lancet*; *Molecular Reproduction and Development*; *Nature*; *Nature Biotechnology*; *Nature Genetics*; *Proceedings of the National Academy of Sciences*; *Reproduction, Fertility and Development*; *Reproductive BioMedicine*; *Science*; *Theriogenology*

## **Primates join the club**

**Researchers have achieved to generate embryonic stem cells from the cells of an adult primate. The procedure used could provide insights into a variety of diseases, if it can be applied in humans.**

# Primates join the club

2007 Nature



Byrne *et al.* treated female rhesus monkeys with hormones to induce the shedding of extra eggs. After recovering these cells, they removed the cells' nuclear genetic material. Meanwhile, they obtained skin cells from an adult male monkey, allowed these to multiply in culture, and then treated them to halt their progress through the cell cycle once they had entered the resting phase known as G<sub>0</sub>. Next, they extracted the nuclear genetic material from the skin cells and introduced it by electric pulses into the nucleus-free eggs. The fused cells were allowed to reach the blastocyst stage of embryonic development before embryonic stem cells were derived from them. This could potentially lead to various types of differentiated cells.



# **Βλαστικά κύτταρα και Βιολογία αναπαραγωγής**

## **Βασικά Θέματα για Συζήτηση:**

- 1) Τι είναι Βλαστικά Κύτταρα;**
- 2) Ποιοι είναι οι βασικοί τύποι των Βλαστικών Κυττάρων και που βρίσκονται;**
- 3) Πλεονεκτήματα και Μειονεκτήματα**
- 4) Γιατί τα Βλαστικά Κύτταρα είναι τόσο σημαντικά;**
- 5) Γιατί η αμφισβήτηση για τα Βλαστικά Κύτταρα;**

# Τι είναι τα Βλαστικά Κύτταρα;

Τα Βλαστικά Κύτταρα είναι **εκπληκτικά** διότι:

Μπορούν να διαιρούνται συνεχώς δημιουργώντας πανομοιότυπα αντίγραφα του εαυτού τους (**Αυτό-Ανανέωση**)

Παραμένουν **ανειδίκευτα** χωρίς «ειδική» λειτουργία ή . . . .

**Εξειδικεύονται (Διαφοροποιούνται)** έχοντας τη δυνατότητα να παράγουν πάνω από 200 διαφορετικούς τύπους σωματικών κυττάρων

# Οι Βασικοί Τύποι των Βλαστικών Κυττάρων

## A. Εμβρυακά Βλαστικά Κύτταρα

- Από αποβολές εμβρύων
- Βλαστοκύστες που προέρχονται από In-Vitro γονιμοποίηση στο εργαστήριο

## B. Ενήλικα Βλαστικά Κύτταρα

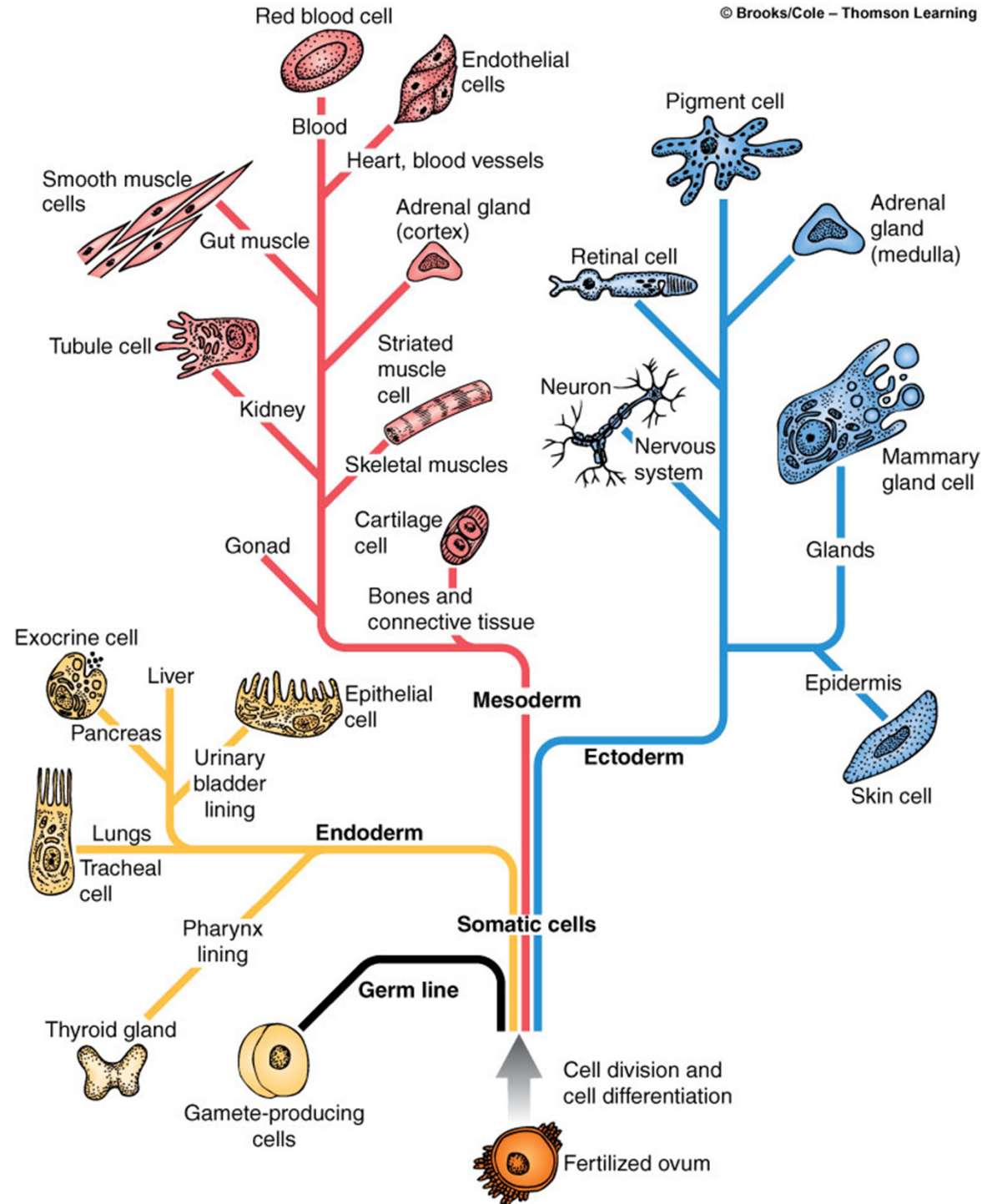
- Βλαστικά Κύτταρα που βρέθηκαν στο αίμα, μυελό των οστών, συκώτι, νεφρά, κερατοειδή, οδοντικό πολφό, ομφάλιο λώρο, μυελό, δέρμα, μυς, σιελογόνους αδένες . . . .

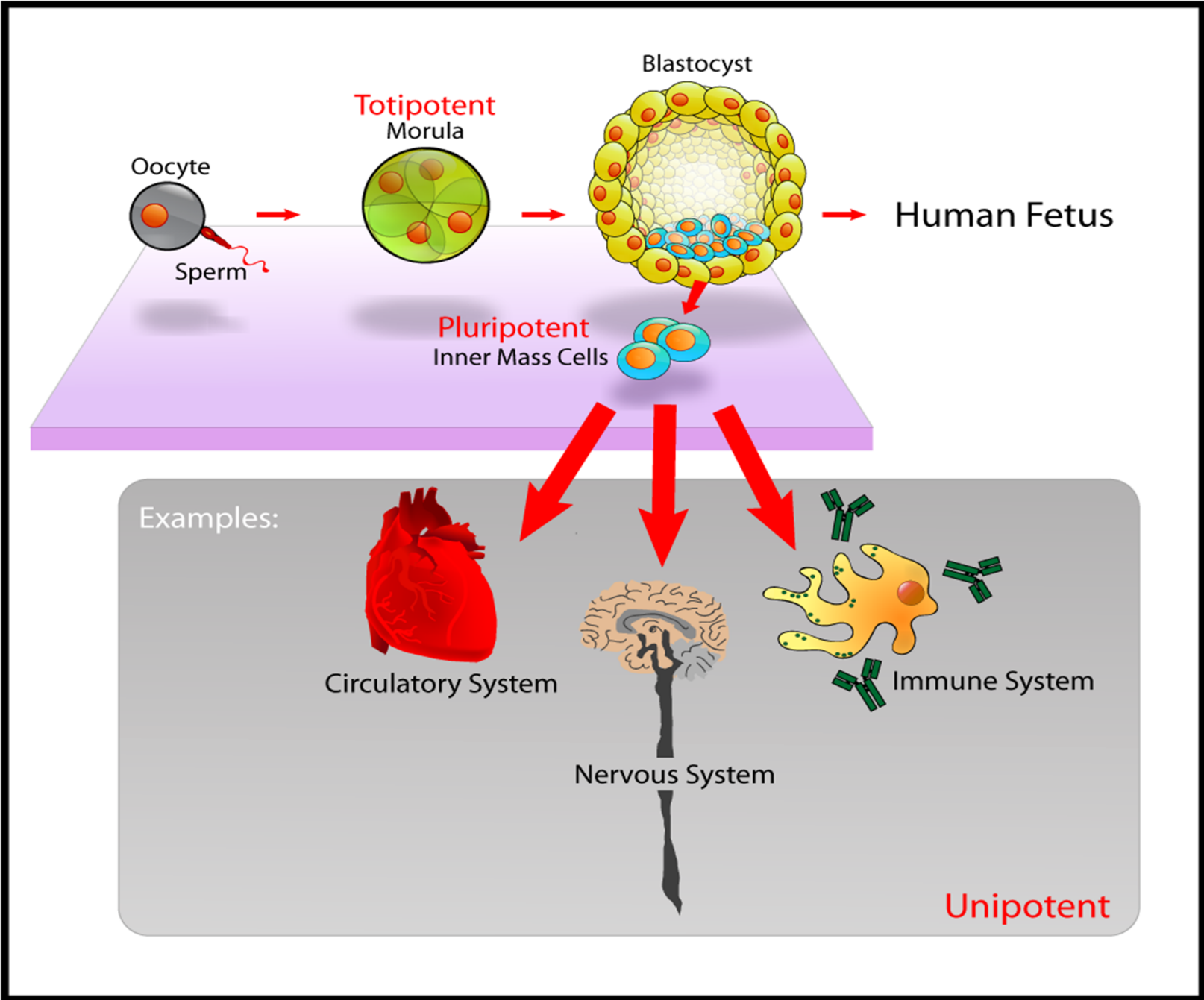
Όλα τα ώριμα  
κύτταρα (και  
ώριμα βλαστικά  
κύτταρα)  
προέρχονται από  
τρεις κυτταρικές  
σειρές:

Ενδόδερμα

Εξώδερμα

Μεσόδερμα





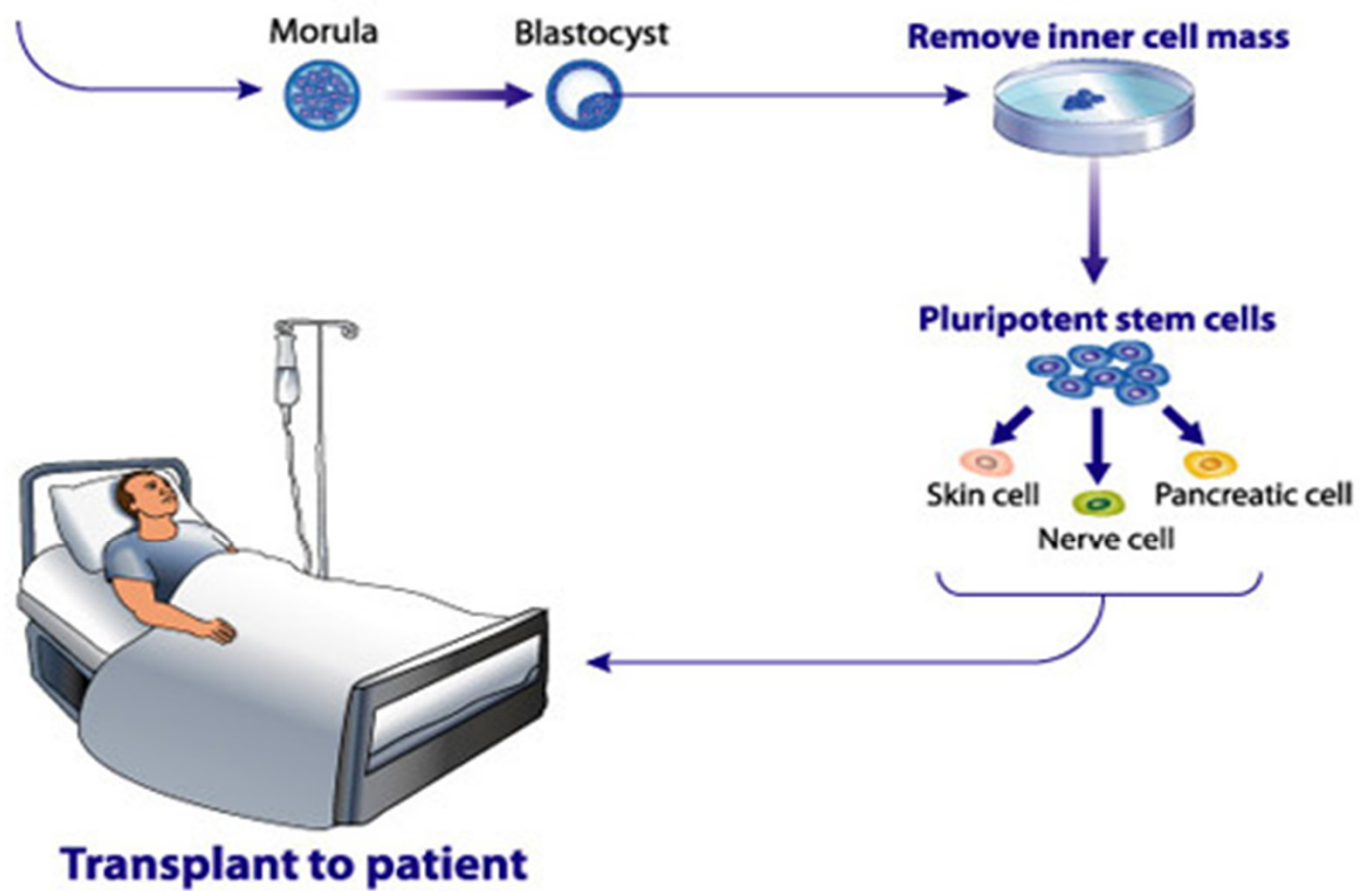
## Πλεονεκτήματα και Μειονεκτήματα των Εμβρυακών και Ώριμων Βλαστικών Κυττάρων

<b>Εμβρυακά Β.Κ.</b>	<b>Ώριμα Β.Κ.</b>
<b>“Παντοδύναμα” (μπορούν να γίνουν οποιοδήποτε κύτταρο)</b>	<b>“Πολυδύναμα” (“μπορούν να γίνουν πολλά μα όχι όλα”)</b>
<b>Σταθερά. Μπορούν να κάνουν πολλές κυτταρικές διαιρέσεις</b>	<b>Λιγότερο Σταθερά. Περιορισμένη ικανότητα αυτό-ανανέωσης</b>
<b>Δημιουργούνται εύκολα αλλά οι βλαστοκύστες καταστρέφονται</b>	<b>Δύσκολα να απομονωθούν από ώριμους ιστούς</b>
<b>Πιθανότητα απόρριψης;;;</b>	<b>Ελαχιστοποίηση απόρριψης</b>

# **Γιατί η Έρευνα στα Βλαστικά Κύτταρα είναι τόσο σημαντική για όλους μας;**

- ✓ Τα βλαστικά κύτταρα επιτρέπουν να μελετήσουμε το πώς οι οργανισμοί αυξάνονται και αναπτύσσονται στο χρόνο.
- ✓ Τα βλαστικά κύτταρα μπορούν να αντικαταστήσουν άρρωστα ή κατεστραμμένα κύτταρα που δεν μπορούν να θεραπευτούν ή να ανανεωθούν από μόνα τους.
- ✓ Μπορούμε να δοκιμάσουμε διάφορες ουσίες (φάρμακα και χημικά) στα βλαστικά κύτταρα.
- ✓ Μπορούμε να κατανοήσουμε καλύτερα τη «γενετική μηχανή» μας.

## In vitro fertilization





# Ποιες ασθένειες επιδέχονται θεραπεία με Βλαστικά Κύτταρα σήμερα;

- Νόσος του Parkinson
- Λευχαιμία (Μεταμοσχεύσεις Μυελού των Οστών)
- Μοσχεύματα δέρματος μετά από σοβαρά εγκαύματα

Η θεραπεία με Βλαστικά Κύτταρα έχει τη δυνατότητα να:

- Αναγέννησης ιστών / οργάνων
- Θεραπείας ασθενειών όπως διαβήτης, πολλαπλή σκλήρυνση κλπ

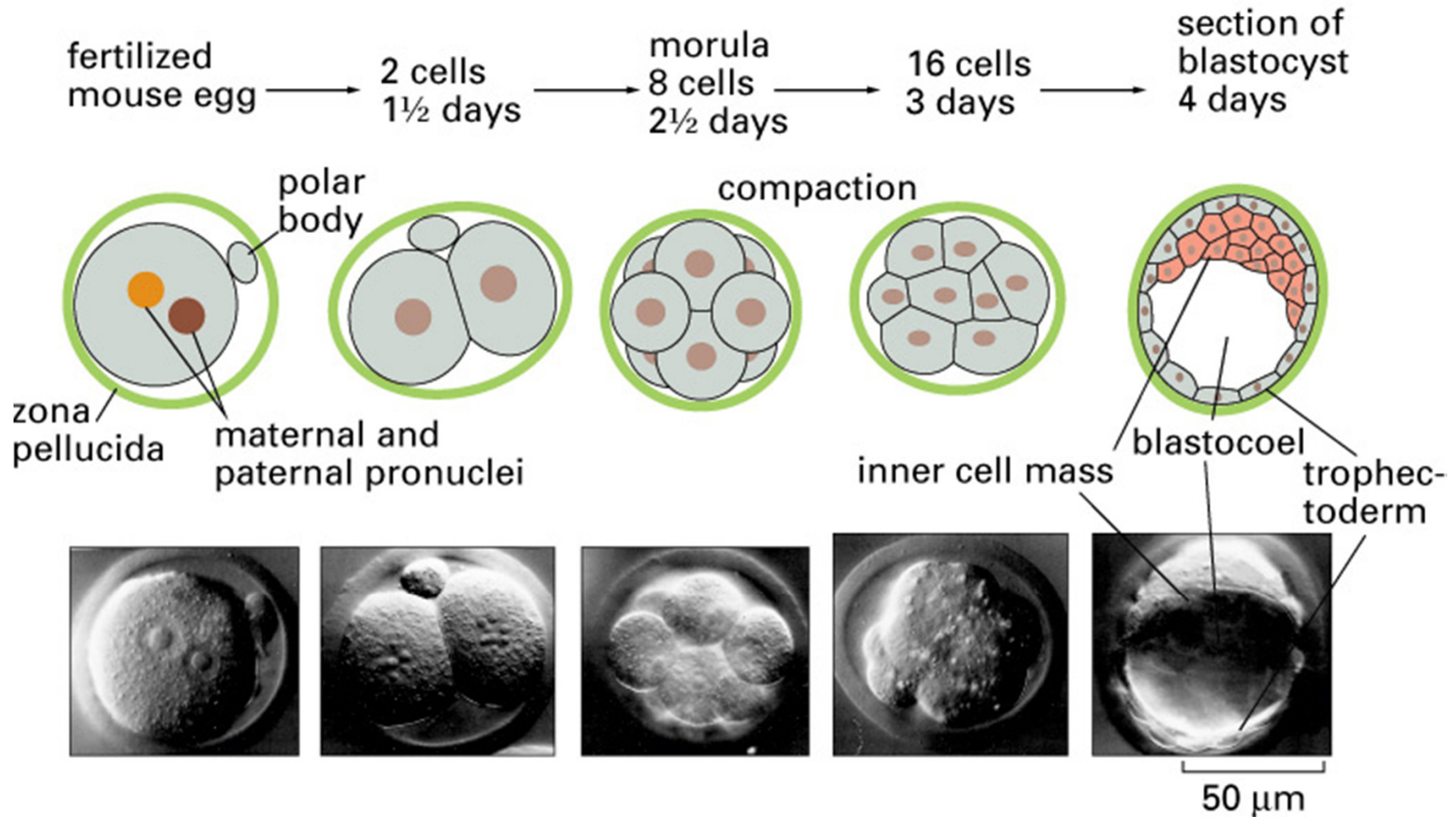
## Γιατί η διχογνωμία για τα Βλαστικά Κύτταρα;

- Τα Εμβρυακά βλαστικά κύτταρα προέρχονται από τις επιπλέον βλαστοκύστες που διαφορετικά θα είχαν καταστραφεί μετά την υποβοηθούμενη αναπαραγωγή.
- Η εξαγωγή των βλαστοκυττάρων καταστέφει την αναπτυσσόμενη βλαστοκύστη (έμβρυο).

### -Ερωτήσεις για σκέψη-

- Είναι το έμβρυο μια ανθρώπινη ύπαρξη;
- Είναι ηθικά αποδεκτή η χρήση των εμβρύων για έρευνα;
- Πότε γινόμαστε «ανθρώπινα όντα»;

# Η εσωτερική Κυτταρική Μάζα είναι η Πηγή των Εμβρυακών Βλαστικών Κυττάρων



Το έμβryo καταστρέφεται με το διαχωρισμό σε ατομικά κύτταρα για τη συλλογή των εμβρυακών βλαστοκυττάρων

# **Επιπρόσθετα εν δυνάμει διλήμματα – Θεραπευτική Κλωνοποίηση για τη Δημιουργία Συμβατών Εμβρυακών Βλαστικών Κυττάρων**

**Κύτταρα από οποιαδήποτε πηγή άλλη από μονοζυγωτικά δίδυμα εμφανίζουν προβλήματα ιστοσυμβατότητας και απόρριψης**

**Επομένως, πως μπορούν να δημιουργηθούν συμβατά βλαστικά κύτταρα;**

**Θα μπορούσε να κλωνοποιηθεί ένα έμβρυο από τον ασθενή και να συλλεχθούν εμβρυακά βλαστοκύτταρα από τον κλώνο**

**Υπάρχει ηθική διαφορά ανάμεσα στη θεραπευτική και την αναπαραγωγική κλωνοποίηση;**