Κεφάλαιο 8

Εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας στην Ιατρική

Πώς η Βιοτεχνολογία βοηθά στη διάγνωση, την πρόληψη και τη θεραπεία ασθενειών: η παραγωγή ινσουλίνης και ιντερφερονών από βακτήρια, τα μονοκλωνικά αντισώματα και τα υβριδώματα, και η γονιδιακή θεραπεία ex vivo και in vivo.

1 Βασικοί όροι
2 Βιοτεχνολογία και Ιατρική
3 Ινσουλίνη
4 Ιντερφερόνες
5 Μονοκλωνικά αντισώματα
6 Γονιδιακή θεραπεία
7 Συγκρίσεις
8 Αυτοέλεγχος

1 Βασικοί όροι

Οι ορισμοί αυτού του κεφαλαίου ζητούνται συχνά αυτούσιοι. Μάθε τους σε ομάδες: αντιγόνο, αντιγονικός καθοριστής και αντίσωμα, κλώνος, υβρίδωμα και μονοκλωνικά αντισώματα, ex vivo και in vivo γονιδιακή θεραπεία.

cDNA βιβλιοθήκη	Το σύνολο των βακτηριακών κλώνων που περιέχουν αντίγραφα (cDNA) των ώριμων mRNA ενός συγκεκριμένου τύπου κυττάρων. Περιέχει μόνο τα γονίδια που εκφράζονται στα κύτταρα αυτά (Κεφάλαιο 4).
Ex vivo γονιδιακή θεραπεία	Ο τύπος της γονιδιακής θεραπείας κατά τον οποίο κύτταρα του ασθενούς τροποποιούνται γενετικά έξω από τον οργανισμό και στη συνέχεια εισάγονται πάλι σε αυτόν.
In vivo γονιδιακή θεραπεία	Ο τύπος της γονιδιακής θεραπείας κατά τον οποίο τα κύτταρα του ασθενούς τροποποιούνται γενετικά μέσα στον οργανισμό του, με τη βοήθεια μορίων-φορέων στα οποία ενσωματώνονται τα φυσιολογικά αλληλόμορφα γονίδια.

Αδενοϊοί	Ιοί-φορείς, μέσω των οποίων φυσιολογικά αλληλόμορφα γονίδια εισάγονται σε κύτταρα (π.χ. επιθηλιακά της αναπνευστικής οδού) που εμφανίζουν βλάβη, έχουν δηλαδή μεταλλαγμένο το αντίστοιχο γονίδιο.
Αντιγονικός καθοριστής	Το τμήμα του μικροβίου, ή γενικότερα του αντιγόνου, που αναγνωρίζεται από ένα αντίσωμα.
Αντιγόνο	Κάθε ξένη ουσία, π.χ. ένα μικρόβιο ή τμήμα του, που προκαλεί στον οργανισμό την παραγωγή αντισωμάτων.
Αντίσωμα	Πρωτεΐνη που παράγεται από τα Β λεμφοκύτταρα και αναγνωρίζει ειδικά έναν αντιγονικό καθοριστή.
Απαμινάση της αδενοσίνης (ADA)	Ένζυμο του οποίου η έλλειψη προκαλεί σοβαρή ανεπάρκεια του ανοσοποιητικού συστήματος. Η ανεπάρκεια ADA ήταν η πρώτη ασθένεια στην οποία εφαρμόστηκε γονιδιακή θεραπεία.
Β λεμφοκύτταρα	Κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος που παράγουν αντισώματα. Κάθε Β λεμφοκύτταρο, και ο κλώνος που προέρχεται από αυτό, παράγει ένα μόνο είδος αντισώματος.
Γονιδιακή θεραπεία	Η «διόρθωση» μιας γενετικής βλάβης με την εισαγωγή φυσιολογικών αλληλομόρφων του μεταλλαγμένου γονιδίου σε κύτταρα του ασθενούς.
Διαβήτης	Ασθένεια που οφείλεται σε έλλειψη ή μείωση της ινσουλίνης. Χαρακτηρίζεται από αυξημένη συγκέντρωση γλυκόζης στο αίμα.
Ινσουλίνη	Ορμόνη που αποτελείται από 51 αμινοξέα (δύο μικρά πεπτίδια) και παράγεται από ειδικά κύτταρα του παγκρέατος. Ρυθμίζει τον μεταβολισμό των υδατανθράκων και ειδικότερα το ποσοστό της γλυκόζης στο αίμα.
Ιντερφερόνες	Αντιιικές πρωτεΐνες που παράγονται σε μικρές ποσότητες από κύτταρα που έχουν μολυνθεί από ιό. Προκαλούν στα γειτονικά υγιή κύτταρα την παραγωγή άλλων πρωτεϊνών, οι οποίες εμποδίζουν τον πολλαπλασιασμό των ιών.

Ιός-φορέας	Ιός που έχει γίνει αβλαβής και χρησιμοποιείται για να μεταφέρει το φυσιολογικό γονίδιο στα κύτταρα του ασθενούς.
Κλώνος	Ο πληθυσμός όμοιων μορίων, κυττάρων ή οργανισμών που προέρχονται από επαναλαμβανόμενες διαιρέσεις ενός μόνο αρχικού κυττάρου ή οργανισμού.
Κυστική ίνωση	Γενετική ασθένεια που κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο. Τα επιθηλιακά κύτταρα των πνευμόνων δεν παράγουν μια λειτουργική πρωτεΐνη. Σε αυτήν εφαρμόστηκε in vivo γονιδιακή θεραπεία.
Μονοκλωνικά αντισώματα	Αντισώματα που παράγονται από έναν κλώνο Β λεμφοκυττάρων και παρουσιάζουν εξειδίκευση για έναν αντιγονικό καθοριστή.
Προϊνσουλίνη	Το πρόδρομο μόριο της ινσουλίνης, που κωδικοποιείται από το γονίδιο της ινσουλίνης. Μετατρέπεται σε ινσουλίνη όταν ένα ένζυμο αφαιρέσει ένα ενδιάμεσο πεπτίδιο.
Υβρίδωμα	Υβριδικό κύτταρο που παράγεται από τη σύντηξη ενός καρκινικού κυττάρου με ένα Β λεμφοκύτταρο. Πολλαπλασιάζεται ανεξέλεγκτα, όπως το καρκινικό κύτταρο, και παράγει μονοκλωνικά αντισώματα, όπως το λεμφοκύτταρο.
Φαρμακευτικές πρωτεΐνες	Οι πρωτεΐνες που χρησιμοποιούνται ως φάρμακα. Αρκετές από αυτές, όπως η ινσουλίνη, οι ιντερφερόνες και η αυξητική ορμόνη, παράγονται από γενετικά τροποποιημένα βακτήρια.

2 Η Βιοτεχνολογία στην Ιατρική

Η Βιοτεχνολογία, με την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA και τις καλλιέργειες κυττάρων, έδωσε στην Ιατρική νέα μέσα για τη **διάγνωση**, την **πρόληψη** και τη **θεραπεία** ασθενειών.

Φαρμακευτικές πρωτεΐνες
ινσουλίνη, ιντερφερόνες, αυξητική ορμόνη. Παράγονται από γενετικά τροποποιημένα βακτήρια

Μονοκλωνικά αντισώματα
παράγονται από υβριδώματα. Χρησιμεύουν στη διάγνωση, στη θεραπεία και στις μεταμοσχεύσεις

Γονιδιακή θεραπεία
εισαγωγή φυσιολογικών αλληλομόρφων σε κύτταρα του ασθενούς

1975

Υβριδώματα

Οι Köhler και Milstein αναπτύσσουν την τεχνική παραγωγής μονοκλωνικών αντισωμάτων.

1982

Ανθρώπινη ινσουλίνη από βακτήρια

Η πρώτη φαρμακευτική πρωτεΐνη που παράγεται με την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA.

1990

Η πρώτη γονιδιακή θεραπεία

Εφαρμόζεται σε ένα τετράχρονο κορίτσι με ανεπάρκεια του ενζύμου ADA.

---

3 Ινσουλίνη

Η **ινσουλίνη** είναι ορμόνη που παράγεται από ειδικά κύτταρα του παγκρέατος. Ρυθμίζει τον μεταβολισμό των υδατανθράκων και ειδικότερα το ποσοστό της γλυκόζης στο αίμα. Όταν λείπει ή είναι μειωμένη, εμφανίζεται ο **διαβήτης**.

Από τα ζώα στα βακτήρια

Παλαιότερα οι διαβητικοί έπαιρναν ινσουλίνη που είχε απομονωθεί από πάγκρεας χοίρων και βοοειδών. Η μέθοδος είχε δύο μειονεκτήματα:

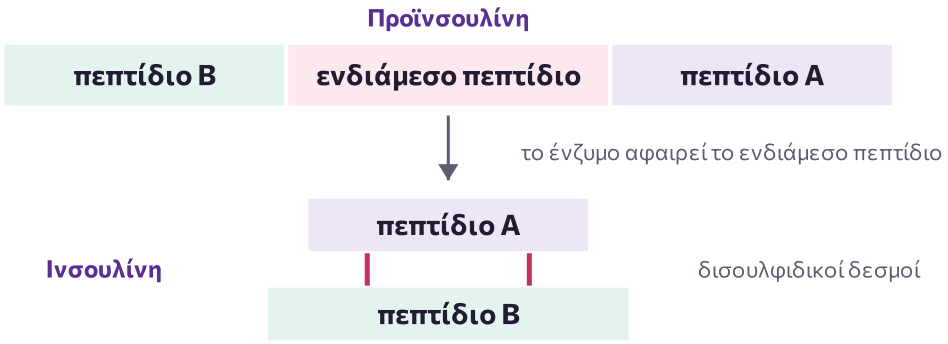
Κόστος
η απομόνωση και ο καθαρισμός της ήταν δαπανηρή και πολύπλοκη διαδικασία

Αλλεργικές αντιδράσεις
η ινσουλίνη των ζώων έχει μικρές διαφορές στη σύσταση των αμινοξέων της από την ανθρώπινη

Σήμερα η ανθρώπινη ινσουλίνη παράγεται από βακτήρια, σε μεγάλες ποσότητες και με σύσταση ίδια με εκείνη που φτιάχνει ο οργανισμός.

Η δομή της

Η ινσουλίνη αποτελείται από 51 αμινοξέα, σε δύο μικρά πεπτίδια: το Α, με 21 αμινοξέα, και το Β, με 30. Τα δύο πεπτίδια συγκρατούνται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς. Το γονίδιο της ινσουλίνης δεν παράγει κατευθείαν τα δύο πεπτίδια. Παράγει ένα πρόδρομο μόριο, την **προϊνσουλίνη**, από την οποία αφαιρείται ένα ενδιάμεσο πεπτίδιο.



Η προϊνσουλίνη είναι μία πολυπεπτιδική αλυσίδα. Η ινσουλίνη αποτελείται από δύο.

Στάδια παραγωγής ανθρώπινης ινσουλίνης

1. Από κύτταρα του ανθρώπινου παγκρέατος απομονώνεται το **ολικό ώριμο mRNA**.
2. Με καλούπι το mRNA κατασκευάζονται **δίκλωνα μόρια DNA** (μέθοδος cDNA βιβλιοθήκης) και ενσωματώνονται σε πλασμίδια (τεχνολογία ανασυνδυασμένου DNA).
3. Με τα ανασυνδυασμένα πλασμίδια **μετασχηματίζονται βακτήρια**, που πολλαπλασιάζονται σε υγρό θρεπτικό υλικό, παρουσία αντιβιοτικού.
4. Δημιουργούνται κλώνοι βακτηρίων, που όλοι μαζί αποτελούν μια **cDNA βιβλιοθήκη** κυττάρων παγκρέατος.
5. **Επιλέγονται** τα βακτήρια που περιέχουν το γονίδιο το οποίο κωδικοποιεί το πρόδρομο μόριο της ινσουλίνης, με ιχνηθετημένους ανιχνευτές.
6. Τα βακτήρια αυτά αναπτύσσονται σε **βιοαντιδραστήρα** και παράγουν προϊνσουλίνη (ζύμωση).
7. Με διήθηση ή φυγοκέντρηση χωρίζονται τα υγρά από τα στερεά συστατικά και με κατάλληλη μέθοδο **παραλαμβάνεται η προϊνσουλίνη**.
8. Με κατάλληλο **ένζυμο** αφαιρείται το ενδιάμεσο πεπτίδιο και η προϊνσουλίνη μετατρέπεται σε λειτουργική ινσουλίνη.

Γιατί γίνεται έτσι κάθε στάδιο

Γιατί mRNA από το πάγκρεας;

Το γονίδιο της ινσουλίνης υπάρχει σε όλα τα κύτταρα, αλλά εκφράζεται μόνο σε ειδικά κύτταρα του παγκρέατος. Μόνο εκεί υπάρχει το mRNA του.

Γιατί cDNA και όχι το ίδιο το γονίδιο;

Το γονίδιο περιέχει εσώνια και τα βακτήρια δεν διαθέτουν μηχανισμό ωρίμανσης του mRNA. Το cDNA προέρχεται από ώριμο mRNA, άρα δεν έχει εσώνια.

Γιατί αντιβιοτικό στο θρεπτικό υλικό;

Το πλασμίδιο φέρει γονίδιο ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικό. Έτσι επιβιώνουν μόνο τα βακτήρια που μετασχηματίστηκαν.

Γιατί ανιχνευτής;

Η βιβλιοθήκη περιέχει cDNA από όλα τα γονίδια που εκφράζονται στο πάγκρεας. Ο ανιχνευτής εντοπίζει τον κλώνο με το γονίδιο της προϊνσουλίνης.

Γιατί χρειάζεται το ένζυμο στο τέλος;

Το βακτήριο παράγει προϊνσουλίνη και δεν τη μετατρέπει σε ινσουλίνη. Η αφαίρεση του ενδιάμεσου πεπτιδίου γίνεται μετά την παραλαβή της.

Σύνδεση με τα Κεφάλαια 4 και 7

Τα στάδια 1 έως 5 είναι η κατασκευή cDNA βιβλιοθήκης και η επιλογή κλώνου από το Κεφάλαιο 4. Τα στάδια 6 και 7 είναι η βιομηχανική καλλιέργεια και η τελική κατεργασία από το Κεφάλαιο 7.

Προσοχή

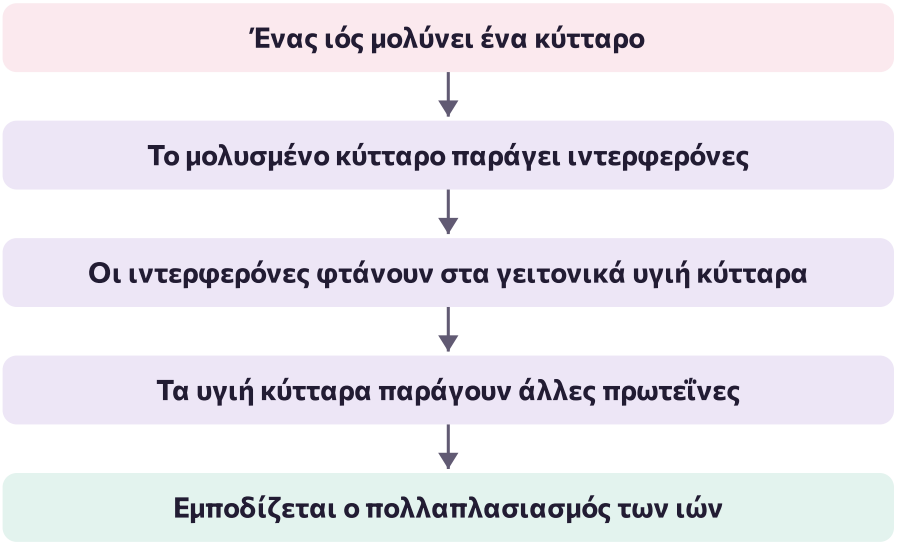
Το αντιβιοτικό του σταδίου 3 ξεχωρίζει τα βακτήρια που **μετασχηματίστηκαν**, όχι εκείνα που έχουν το γονίδιο της ινσουλίνης. Ο κλώνος με το γονίδιο εντοπίζεται στο στάδιο 5, με τον **ανιχνευτή**.

---

4 Ιντερφερόνες και άλλες φαρμακευτικές πρωτεΐνες

Οι **ιντερφερόνες** είναι αντιιικές πρωτεΐνες. Παράγονται από κύτταρα που έχουν μολυνθεί από ιό και

προστατεύουν τα γειτονικά υγιή κύτταρα.



Οι ιντερφερόνες δεν καταστρέφουν οι ίδιες τον ιό. Δίνουν στα γειτονικά κύτταρα το σήμα να αμυνθούν.

Γιατί παράγονται από βακτήρια

Ο οργανισμός παράγει ιντερφερόνες σε πολύ μικρές ποσότητες, που δεν αρκούν για να χρησιμοποιηθούν ως φάρμακο. Με την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA τα γονίδιά τους κλωνοποιήθηκαν σε βακτήρια και σήμερα παράγονται σε μεγάλες ποσότητες.

Αντιιική δράση
εμποδίζουν τον πολλαπλασιασμό των ιών

Αντικαρκινική δράση
ορισμένες χρησιμοποιούνται και ως αντικαρκινικοί παράγοντες

Φαρμακευτικές πρωτεΐνες από γενετικά τροποποιημένα βακτήρια

Πρωτεΐνη	Σε τι χρησιμεύει
Ινσουλίνη	Αντιμετώπιση του διαβήτη.
Ιντερφερόνες	Αντιμετώπιση ιώσεων και ορισμένων μορφών καρκίνου.
Αυξητική ορμόνη	Αντιμετώπιση της ανεπάρκειας της αυξητικής ορμόνης.

Το κοινό σχέδιο

Κάθε φαρμακευτική πρωτεΐνη από βακτήρια παράγεται με τα ίδια βήματα: απομόνωση του γονιδίου ως cDNA, εισαγωγή σε πλασμίδιο, μετασχηματισμός βακτηρίων, επιλογή κλώνου, καλλιέργεια σε βιοαντιδραστήρα, παραλαβή και καθαρισμός του προϊόντος.

---

5 Μονοκλωνικά αντισώματα

Όταν ένα **αντιγόνο**, π.χ. ένα μικρόβιο, μπει στον οργανισμό, τα Β λεμφοκύτταρα παράγουν **αντισώματα** εναντίον του. Κάθε αντίσωμα αναγνωρίζει ένα μικρό τμήμα του αντιγόνου, τον **αντιγονικό καθοριστή**. Ένα αντιγόνο έχει συνήθως πολλούς αντιγονικούς καθοριστές, οπότε ο οργανισμός παράγει εναντίον του πολλά διαφορετικά αντισώματα.

Κάθε Β λεμφοκύτταρο παράγει ένα μόνο είδος αντισώματος. Τα αντισώματα που παράγει ένας κλώνος Β λεμφοκυττάρων είναι επομένως όλα ίδια, αναγνωρίζουν τον ίδιο αντιγονικό καθοριστή και ονομάζονται **μονοκλωνικά**.

Το πρόβλημα και η λύση

Το πρόβλημα

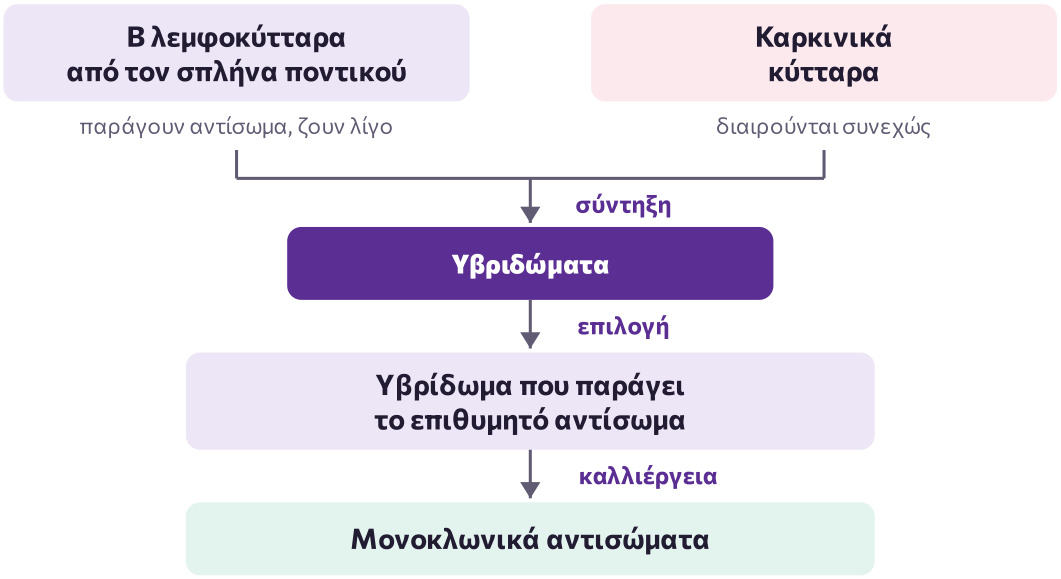
τα Β λεμφοκύτταρα δεν επιβιώνουν για πολύ έξω από τον οργανισμό και δεν μπορούν να διατηρηθούν σε κυτταροκαλλιέργειες

Η λύση

η σύντηξή τους με καρκινικά κύτταρα. Το υβρίδωμα που προκύπτει πολλαπλασιάζεται συνεχώς και παράγει το αντίσωμα

Στάδια παραγωγής μονοκλωνικών αντισωμάτων

1. Ένα επιλεγμένο **αντιγόνο** χορηγείται με ένεση σε ποντίκι και προκαλεί ανοσολογική αντίδραση.
2. Ύστερα από περίπου δύο εβδομάδες αφαιρείται ο **σπλήνας** του ποντικού και απομονώνονται τα Β λεμφοκύτταρα.
3. Τα Β λεμφοκύτταρα **συντήκονται** με καρκινικά κύτταρα και σχηματίζονται υβριδώματα.
4. **Επιλέγεται** το υβρίδωμα που παράγει το αντίσωμα για τον επιθυμητό αντιγονικό καθοριστή.
5. Το υβρίδωμα **καλλιεργείται** και ο κλώνος του παράγει μεγάλες ποσότητες του μονοκλωνικού αντισώματος.



Το υβρίδωμα συνδυάζει τις ιδιότητες των δύο κυττάρων από τα οποία προέρχεται.

Τα υβριδώματα μπορούν να φυλάσσονται για μεγάλα χρονικά διαστήματα στην κατάψυξη, στους −80 °C, και να παράγουν το αντίσωμα όποτε χρειαστεί.

Εφαρμογές

Οι εφαρμογές των μονοκλωνικών αντισωμάτων

Χρήση	Τι κάνουν	Παράδειγμα
Ανοσοδιαγνωστικά	Ανιχνεύουν στα υγρά του σώματος ουσίες υπεύθυνες για ποικίλες ασθένειες, παθογόνους μικροοργανισμούς, καθώς και τη διακύμανση της συγκέντρωσης προϊόντων του μεταβολισμού, που μπορεί να προοιωνίζεται κάποια ασθένεια.	Προσδιορισμός ομάδων αίματος, τεστ κύησης.
Θεραπευτικά	Γίνονται μεταφορείς ισχυρών φαρμάκων, που όταν εισαχθούν στον οργανισμό βρίσκουν και προσβάλλουν τους στόχους τους.	Αντικαρκινικά φάρμακα.
Συμβατότητα μεταμοσχεύσεων	Αναγνωρίζουν ειδικά αντιγόνα που έχουν ορισμένα κύτταρα στην επιφάνειά τους.	Έλεγχος των οργάνων των δωρητών.

Γιατί είναι τόσο χρήσιμα

Η αξία τους βρίσκεται στην **εξειδίκευση**: κάθε μονοκλωνικό αντίσωμα δένεται μόνο στον δικό του αντιγονικό καθοριστή. Στο τεστ κύησης αναγνωρίζει μια ορμόνη που υπάρχει μόνο στις εγκύους. Στη θεραπεία του καρκίνου οδηγεί το φάρμακο στα καρκινικά κύτταρα και όχι στα υγιή.

Προσοχή

Το ποντίκι παράγει εναντίον του αντιγόνου **πολλά διαφορετικά** αντισώματα, από διαφορετικούς κλώνους Β λεμφοκυττάρων. Γι' αυτό μετά τη σύντηξη χρειάζεται επιλογή του υβριδώματος που παράγει το επιθυμητό αντίσωμα.

---

6 Γονιδιακή θεραπεία

Η **γονιδιακή θεραπεία** έχει στόχο να «διορθώσει» τη γενετική βλάβη, εισάγοντας φυσιολογικά αλληλόμορφα του μεταλλαγμένου γονιδίου σε κύτταρα του ασθενούς. Στηρίζεται στην τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA.

Τι χρειάζεται για να εφαρμοστεί

Κλωνοποιημένο γονίδιο
πρέπει να έχει απομονωθεί το γονίδιο που ευθύνεται για την ασθένεια

Γνωστός ιστός-στόχος
πρέπει να είναι γνωστά τα κύτταρα στα οποία εκφράζεται το γονίδιο και εμφανίζεται η βλάβη

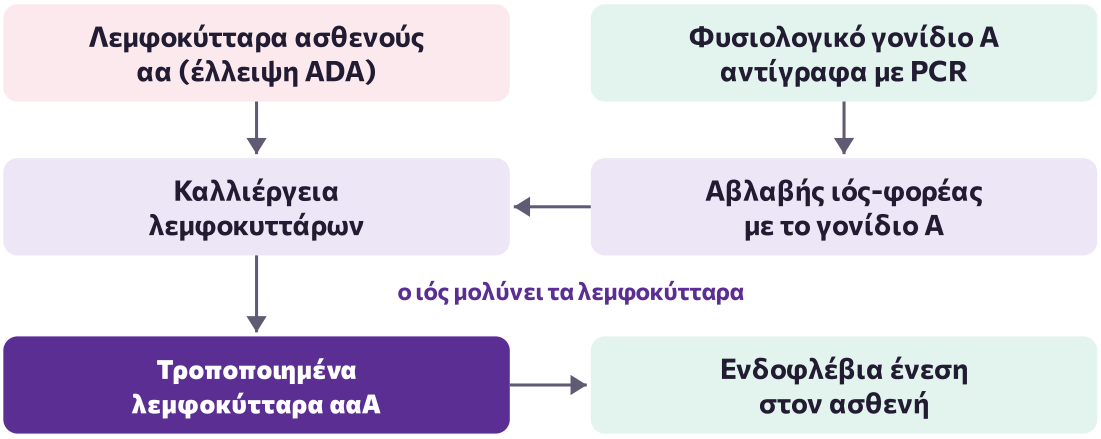
Κατάλληλος φορέας
ένας ιός που έχει γίνει αβλαβής μεταφέρει το φυσιολογικό γονίδιο μέσα στα κύτταρα

Προσοχή

Το μεταλλαγμένο γονίδιο **δεν αντικαθίσταται** και δεν διορθώνεται. Στο κύτταρο προστίθεται ένα φυσιολογικό αλληλόμορφο: από αα γίνεται ααΑ.
Η γονιδιακή θεραπεία εφαρμόζεται σε **σωματικά κύτταρα**. Η αλλαγή δεν περνά στους γαμέτες, άρα δεν κληρονομείται στους απογόνους.

Ex vivo: η ανεπάρκεια του ενζύμου ADA

Η έλλειψη του ενζύμου απαμινάση της αδενοσίνης (ADA) προκαλεί σοβαρή ανεπάρκεια του ανοσοποιητικού συστήματος. Οφείλεται σε υπολειπόμενο αυτοσωμικό γονίδιο. Ήταν η πρώτη ασθένεια στην οποία δοκιμάστηκε γονιδιακή θεραπεία, το 1990.



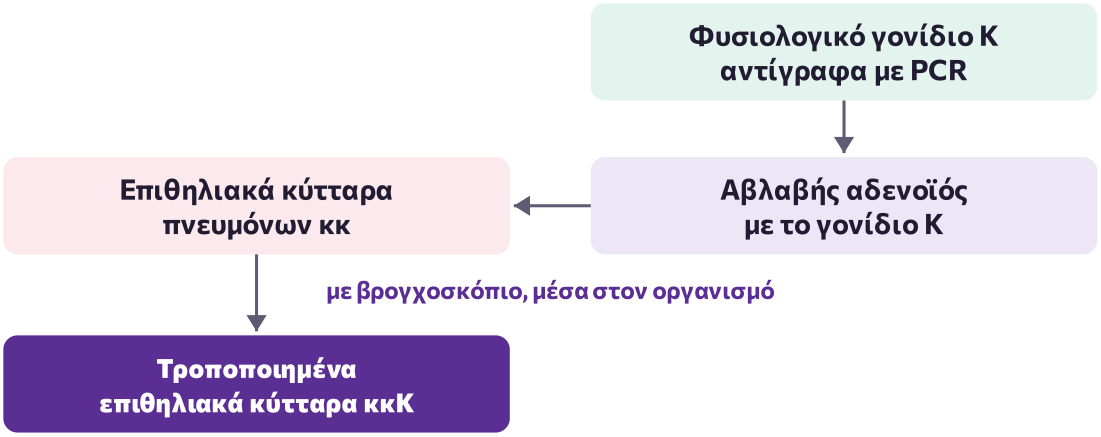
A: το φυσιολογικό αλληλόμορφο. α: το μεταλλαγμένο. Η τροποποίηση γίνεται έξω από τον οργανισμό.

1. Λεμφοκύτταρα του ασθενούς παραλαμβάνονται και **πολλαπλασιάζονται σε καλλιέργεια**.
2. Το φυσιολογικό γονίδιο της ADA πολλαπλασιάζεται με PCR και **ενσωματώνεται σε έναν αβλαβή ιό**, με τεχνικές ανασυνδυασμένου DNA.
3. Ο ιός **μολύνει τα λεμφοκύτταρα** της καλλιέργειας και τους μεταφέρει το φυσιολογικό γονίδιο.
4. Τα γενετικά τροποποιημένα λεμφοκύτταρα εισάγονται στον ασθενή με **ενδοφλέβια ένεση** και παράγουν το ένζυμο ADA.

Η θεραπεία αυτή **δεν είναι μόνιμη**. Τα τροποποιημένα λεμφοκύτταρα δεν ζουν για πάντα, οπότε χρειάζονται τακτικές επαναλήψεις.

In vivo: η κυστική ίνωση

Στην κυστική ίνωση τα επιθηλιακά κύτταρα των πνευμόνων δεν παράγουν μια λειτουργική πρωτεΐνη. Τα κύτταρα αυτά δεν μπορούν να αφαιρεθούν και να ξαναμπούν στον οργανισμό, γι' αυτό η τροποποίηση γίνεται επί τόπου.



Κ: το φυσιολογικό αλληλόμορφο. κ: το μεταλλαγμένο. Η τροποποίηση γίνεται μέσα στον οργανισμό.

1. Το φυσιολογικό γονίδιο πολλαπλασιάζεται με PCR και **ενσωματώνεται σε έναν αβλαβή αδενοϊό**.
2. Ο αδενοϊός εισάγεται στον οργανισμό με **βρογχοσκόπιο** ή με ψεκασμό.
3. Ο αδενοϊός **μολύνει τα επιθηλιακά κύτταρα** των πνευμόνων και τους μεταφέρει το φυσιολογικό γονίδιο.

Κόλπο για τις ασκήσεις

Για να αποφασίσεις ποιος τύπος ταιριάζει, ρώτα αν τα κύτταρα-στόχοι μπορούν να βγουν από τον οργανισμό, να καλλιεργηθούν και να επιστρέψουν. Τα κύτταρα του αιμοποιητικού συστήματος μπορούν: ex vivo. Τα επιθηλιακά κύτταρα των πνευμόνων δεν μπορούν: in vivo.

7 Συγκρίσεις

Ex vivo και in vivo γονιδιακή θεραπεία

Κριτήριο	Ex vivo	In vivo
Πού γίνεται η τροποποίηση	Τα κύτταρα τροποποιούνται γενετικά έξω από τον οργανισμό και εισάγονται πάλι σε αυτόν.	Η τροποποίηση των κυττάρων γίνεται κατευθείαν μέσα στον οργανισμό.
Διάρκεια	Δεν είναι μόνιμη θεραπεία. Χρειάζεται τακτικές επαναλήψεις.	Έχει μονιμότερα αποτελέσματα.
Πώς φτάνει ο ιός στα κύτταρα	Οι γενετικά τροποποιημένοι ιοί εισάγονται στα λεμφοκύτταρα μολύνοντάς τα στην καλλιέργεια.	Οι γενετικά τροποποιημένοι ιοί εισάγονται στον οργανισμό με ψεκασμό ή με βρογχοσκόπιο.
Σε ποια κύτταρα	Στα κύτταρα του αιμοποιητικού συστήματος.	Μπορεί να εφαρμοστεί στα υπόλοιπα σωματικά κύτταρα.
Παράδειγμα	Ανεπάρκεια ADA.	Κυστική ίνωση.

Ινσουλίνη από ζώα και ινσουλίνη από βακτήρια

Κριτήριο	Από πάγκρεας ζώων	Από γενετικά τροποποιημένα βακτήρια
Σύσταση	Μικρές διαφορές στα αμινοξέα από την ανθρώπινη.	Ίδια με την ανθρώπινη.
Αλλεργικές αντιδράσεις	Μπορεί να προκαλέσει.	Δεν προκαλεί.
Παραγωγή	Δαπανηρή και πολύπλοκη απομόνωση.	Μεγάλες ποσότητες σε βιοαντιδραστήρα.

Προϊνσουλίνη και ινσουλίνη

Κριτήριο	Προϊνσουλίνη	Ινσουλίνη
Πολυπεπτιδικές αλυσίδες	Μία.	Δύο, τα πεπτίδια Α και Β.
Ενδιάμεσο πεπτίδιο	Υπάρχει.	Έχει αφαιρεθεί με ένζυμο.
Λειτουργικότητα	Πρόδρομο μόριο.	Λειτουργική ορμόνη.

Β λεμφοκύτταρο, καρκινικό κύτταρο και υβρίδωμα

Κριτήριο	Β λεμφοκύτταρο	Καρκινικό κύτταρο	Υβρίδωμα
Παράγει αντίσωμα	Ναι.	Όχι.	Ναι.
Πολλαπλασιάζεται συνεχώς σε καλλιέργεια	Όχι.	Ναι.	Ναι.

Συχνά λάθη

> **Το βακτήριο δεν παράγει έτοιμη ινσουλίνη**
> Παράγει προϊνσουλίνη. Η μετατροπή σε ινσουλίνη γίνεται μετά, με ένζυμο.

> **Οι ιντερφερόνες δεν παράγονται από τα υγιή κύτταρα**
> Παράγονται από τα μολυσμένα κύτταρα και δρουν στα γειτονικά υγιή.

> **Μονοκλωνικό δεν σημαίνει «ένα αντίσωμα»**
> Σημαίνει αντισώματα από έναν κλώνο, όλα ίδια, για έναν αντιγονικό καθοριστή.

> **Το υβρίδωμα δεν είναι βακτήριο**
> Είναι κύτταρο θηλαστικού. Τα μονοκλωνικά αντισώματα δεν παράγονται με ανασυνδυασμένο DNA σε βακτήρια.

Η γονιδιακή θεραπεία δεν αλλάζει το μεταλλαγμένο γονίδιο

Προσθέτει ένα φυσιολογικό αλληλόμορφο, και μόνο σε σωματικά κύτταρα.

Ex vivo και in vivo

Στην ex vivo ο ιός μολύνει τα κύτταρα στην καλλιέργεια. Στην in vivo ο ιός μπαίνει στον ίδιο τον οργανισμό.

8 Αυτοέλεγχος

Δώδεκα γρήγορες ερωτήσεις. Οι απαντήσεις είναι στο τέλος.

1. Η ινσουλίνη αποτελείται από:

α) 51 αμινοξέα σε ένα πεπτίδιο
β) 51 αμινοξέα σε δύο μικρά πεπτίδια
γ) 21 αμινοξέα σε δύο μικρά πεπτίδια
δ) δύο πεπτίδια των 51 αμινοξέων

2. Το γονίδιο της ινσουλίνης κωδικοποιεί αρχικά:

α) δύο ξεχωριστά πεπτίδια
β) την προϊνσουλίνη
γ) μια ιντερφερόνη
δ) ένα ένζυμο

3. Για την παραγωγή ανθρώπινης ινσουλίνης το ολικό ώριμο mRNA απομονώνεται από κύτταρα:

α) του ήπατος
β) του σπλήνα
γ) του παγκρέατος
δ) οποιουδήποτε ιστού

4. Η ινσουλίνη που παλαιότερα παραλαμβανόταν από πάγκρεας ζώων:

α) ήταν ίδια με την ανθρώπινη
β) μπορούσε να προκαλέσει αλλεργικές αντιδράσεις
γ) δεν ρύθμιζε τη γλυκόζη
δ) παραγόταν από βακτήρια

5. Οι ιντερφερόνες παράγονται από:

α) κύτταρα που έχουν μολυνθεί από ιό
β) τα Β λεμφοκύτταρα
γ) ειδικά κύτταρα του παγκρέατος
δ) τους ίδιους τους ιούς

6. Το υβρίδωμα προκύπτει από τη σύντηξη:

α) δύο Β λεμφοκυττάρων
β) ενός Β λεμφοκυττάρου με ένα καρκινικό κύτταρο
γ) ενός βακτηρίου με ένα Β λεμφοκύτταρο
δ) ενός ιού με ένα καρκινικό κύτταρο

7. **Ένα μονοκλωνικό αντίσωμα αναγνωρίζει:**

α) όλα τα αντιγόνα ενός μικροβίου
β) έναν αντιγονικό καθοριστή
γ) οποιοδήποτε αντιγόνο
δ) μόνο καρκινικά κύτταρα

8. **Το τεστ κύησης είναι εφαρμογή των μονοκλωνικών αντισωμάτων ως:**

α) θεραπευτικά
β) ανοσοδιαγνωστικά
γ) μέσα ελέγχου συμβατότητας οργάνων
δ) φορείς γονιδίων

9. **Στην ex vivo γονιδιακή θεραπεία της ανεπάρκειας ADA τροποποιούνται γενετικά:**

α) επιθηλιακά κύτταρα των πνευμόνων
β) λεμφοκύτταρα του ασθενούς
γ) γαμέτες του ασθενούς
δ) κύτταρα του παγκρέατος

10. **Στην in vivo γονιδιακή θεραπεία της κυστικής ίνωσης ο φορέας του φυσιολογικού γονιδίου είναι:**

α) ένα πλασμίδιο
β) ένας αδενοϊός
γ) ένα υβρίδωμα
δ) ένα μονοκλωνικό αντίσωμα

11. **Η ex vivo γονιδιακή θεραπεία με λεμφοκύτταρα δεν είναι μόνιμη, επειδή:**

α) το φυσιολογικό γονίδιο καταστρέφεται αμέσως
β) τα τροποποιημένα λεμφοκύτταρα δεν ζουν για πάντα
γ) ο ιός-φορέας είναι παθογόνος
δ) το γονίδιο δεν εκφράζεται

12. **Οι αλλαγές που προκαλεί η γονιδιακή θεραπεία:**

α) κληρονομούνται στους απογόνους
β) αφορούν σωματικά κύτταρα και δεν κληρονομούνται
γ) αντικαθιστούν το μεταλλαγμένο γονίδιο
δ) γίνονται στους γαμέτες

Απαντήσεις

1. **β)** Τα δύο πεπτίδια, Α και Β, συγκρατούνται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς.
2. **β)** Η προϊνσουλίνη γίνεται ινσουλίνη όταν ένα ένζυμο αφαιρέσει το ενδιάμεσο πεπτίδιο.

3. **γ)** Το γονίδιο της ινσουλίνης εκφράζεται μόνο σε ειδικά κύτταρα του παγκρέατος.
4. **β)** Είχε μικρές διαφορές στη σύσταση των αμινοξέων της από την ανθρώπινη, και η απομόνωσή της ήταν δαπανηρή.
5. **α)** Προκαλούν στα γειτονικά υγιή κύτταρα την παραγωγή πρωτεϊνών που εμποδίζουν τον πολλαπλασιασμό των ιών.
6. **β)** Συνδυάζει την παραγωγή αντισώματος με τον συνεχή πολλαπλασιασμό.
7. **β)** Παράγεται από έναν μόνο κλώνο Β λεμφοκυττάρων.
8. **β)** Ανιχνεύουν ουσίες στα υγρά του σώματος. Στην ίδια κατηγορία ανήκει ο προσδιορισμός των ομάδων αίματος.
9. **β)** Τα λεμφοκύτταρα τροποποιούνται σε καλλιέργεια και επιστρέφουν στον ασθενή με ενδοφλέβια ένεση.
10. **β)** Ο αδενοϊός εισάγεται στα επιθηλιακά κύτταρα των πνευμόνων με βρογχοσκόπιο.
11. **β)** Γι’ αυτό χρειάζονται τακτικές επαναλήψεις.
12. **β)** Το μεταλλαγμένο γονίδιο παραμένει στο κύτταρο. Απλώς προστίθεται ένα φυσιολογικό αλληλόμορφο.

Σημειώσεις Βιολογίας Προσανατολισμού Γ΄ Λυκείου. Κεφάλαιο 8.