

Az orvosi biotechnológiai mesterképzés megfeleltetése
az Európai Unió új társadalmi kihívásainak
a Pécsi Tudományegyetemen és a Debreceni Egyetemen

Azonosító szám: TÁMOP-4.1.2-08/1/A-2009-0011



Az orvosi biotechnológiai mesterképzés megfeleltetése
az Európai Unió új társadalmi kihívásainak
a Pécsi Tudományegyetemen és a Debreceni Egyetemen
Azonosító szám: TÁMOP-4.1.2-08/1/A-2009-0011



Varga Tamás
Molekuláris Terápiák – 9. előadás

Állatmodellek és transzgenikus technológia felhasználása a biotechnológiában



Az előadás célja

Az előadás segítségével a következő főbb kérdésekre kell választ adni:

- A genetikai módosítások célja
- A klónozás illetve a klón definíciója
- Dolly, a klónozott bárány létrehozásának folyamata
- A transzgénikus állat definíciója, különbség a klónozás és a transzgénikus technológia között
- Transzgénikus állatok felhasználása betegségek kezeléséhez
- Transzgénikus állatok felhasználása a humán élettan kérdéseinek megválaszolásában
- Transzgénikus állatok mint „bioreaktorok”
- A klónozás/genetikai módosítások etikai kérdései

Állatmodellek létrehozásának célja

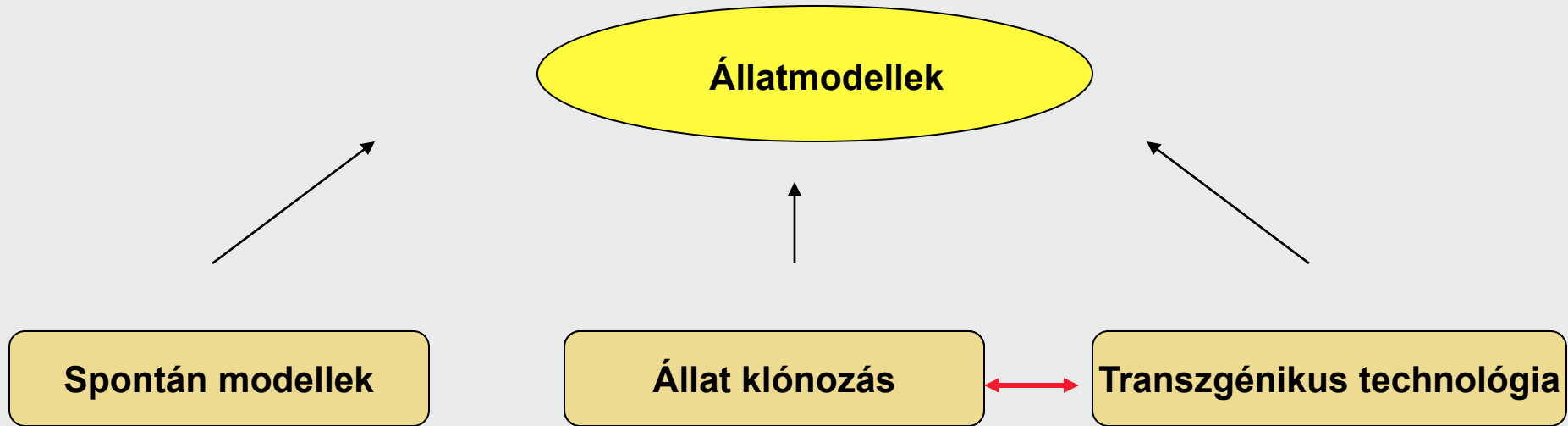
- Állatmodellek felhasználása a humán (kór)élettan megismeréséhez
- Állatok/növények létrehozása, amelyek „bioreaktorként”-
működhetnek
- Állatok/növények létrehozása, amelyek a mezőgazdaság számára
értékesebbek (kvantitatív és kvalitatív szempontból)
- Állatok létrehozása xenograftok tanulmányozásához és
felhasználásához
- Olyan állatok létrehozása, amelyek gazdasági hasznot hozhatnak
(pl. hobbi-állatok)

Állatmodellek: miért van rájuk szükségünk?

Az orvostudományban:

- Véletlenszerűen kiválasztott állatokon gyakran nehéz/lehetetlen betegségek tanulmányozása (statisztika)
- Nagy igény van olyan állatokra, amelyek teljesen azonosak és rajtuk kísérleteket lehet végezni
- Génmódosított állatok felhasználása lehetővé teszi olyan betegségek vizsgálatát, amely az emberiség számára fontosak, de egyébként nem tanulmányozhatóak (nem fordulnak elő) vad típusú kísérleti állatokban.

Állatmodellek



Klónozás

- Mi a klón?
 - A biotechnológiában:
 - Egy molekula (pl DNS), amely pontos mása egy másik molekulának
 - Egy sejt (vagy sejtek csoportja), amely pontos mása egy másik sejtnek
 - Egy olyan állat amely genetikailag teljesen megegyezik egy másik állattal
 - A biotechnológián kívül is beszélhetünk „klónokról”:
 - Egypetűjű ikreket egymás klónjaiként is tekinthetjük (de: epigenetikai különbségek vannak!)
 - Aszexuális módon szaporodó állatok/növények utódai egymás klónjai

Klónozás: miért van rá szükség?

- Nagyszámú, genetikailag azonos állat létrehozása
- A klónozás még mindig nem széleskörűen elterjedt, ami köszönhető gazdasági és etikai megfontolásoknak is
- A következő területeken várható a klónozás szélesebbkörű elterjedése
 1. mezőgazdasága (élelmiszertermelés és gazdasági haszon)
 2. orvosbiológiai kutatások (tudományos előrehaladás, terápiás felhasználások és gazdasági haszon)
 3. biotechnológiai ipar
 4. hobbi állatok
 5. Stb.

Állatok klónozásának előnyei

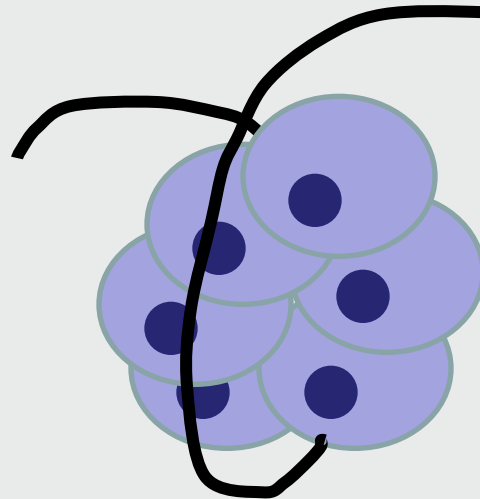
- A klónozott állatok hasznai, többek között:
- Véletlenszerűen létrejött kedvező genetikai kombináció megőrzése (pl. díjnyertes, kiváló tenyészállatok véletlenszerűen jönnek létre a tenyésztés során. A klónozás során lehetséges ilyen állatok sok kópiában való előállítás)
- Genetikailag azonos állatok létrehozása orvosbiológiai és farmakológiai kutatásokban: adott betegség modellezéséhez felhasználható egérkolónia generálása
- A fenti előnyök eltörpülnek a klónozás egyik távlati céljának, a szervklónozásnak potenciális előnyei mellett

Állatok klónozása: a technológia

- 3 fő technológia áll rendelkezésre állatok klónozására
- Embrió hasítás
A legkorábbi technológia, nem elterjedt, de még használatos
- Parthenogenezis
Egyes állatok (rovarok) esetében létező aszexuális szaporodás
Nőstény állatokból lehetséges nőstény utódok létrehozása
Mesterséges felhasználása rendkívül korai fázisban van, jelenleg még nem kidolgozott technológia
- **Testi sejtek sejtmagjának transzfere: Somatic cell nuclear transfer (SCNT)**
A jelenleg leggyakrabban felhasznált technológia állatok klónozására

Embrió hasítás

Embriókat (6-8 sejtes állapot) választanak ketté és a létrejött fél-embriókat álvmehes anyákba juttatják vissza. Egypetējű ikreket lehet létrehozni a segítségével. Gyakran használják az SNCT technológiával együtt, azaz sikeres sejtmagtranszfert követően kialakuló mesterséges embriót lehet hasítani, és az utódok számát így módon növelni.

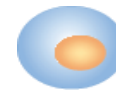


Testi sejtek sejtmagjának transzferje: somatic cell nuclear transfer (SCNT)

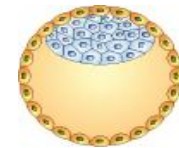
Petesejt donor (citoplazma donor): Scottish blackface birka faj



A sejtmagot eltávolítják a petesejtből



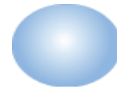
blasztociszta



Álvemhes anya



Magnélküli citoplazma + sejtmag

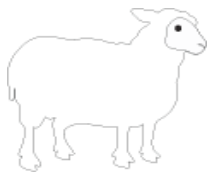


Sejtmag izolálása



Testi sejtek tenyésztése

Sejtmag donor
Finnish dorset
birka faj



Testi sejtek sejtmagjának transzferje: somatic cell nuclear transfer (SCNT): Dolly esete

- Több sikeres próbálkozás is volt embriók klónozására (1984: birka, 1986: szarvasmarha)

- A korai próbálkozások nem felnőtt állatok sejtjeiből indult

- 1996: Dolly, a bárány klónozása felnőtt testi sejtekből SCNT segítségével

- 1998: kb 50 egér klónozása egyetlen felnőtt egyedből

- 1999: nőstény rhesus majom (Tetra) klónozása embrió hasítással: ez bizonyítékkal szolgált arra, hogy a klónozás lehetséges főemlősökben

- Dolly óta szarvasmarhát, majmot, sertést, kecskét, nyulat és macskát is sikeresen klónoztak SCNT segítségével

Somatic cell nuclear transfer (SCNT) az állati biotechnológiában: sikertörténet(?)

Néhány fontos tény az SCNT történetéből:

- Dolly sikeres klónozásához 200-300 próbálkozás szükségeltetett
- Dolly, és az őt követő klónozott állatok rövidebb, mint szokásos ideig éltek. Klónozott állatok gyakran szenvednek betegségektől, amelyek feltehetőleg a klónozás következményei.
- 2008-ban az USDA (USA Mezőgazdasági Minisztériuma) a klónozott állatból származó állati termékek kereskedését engedélyezte

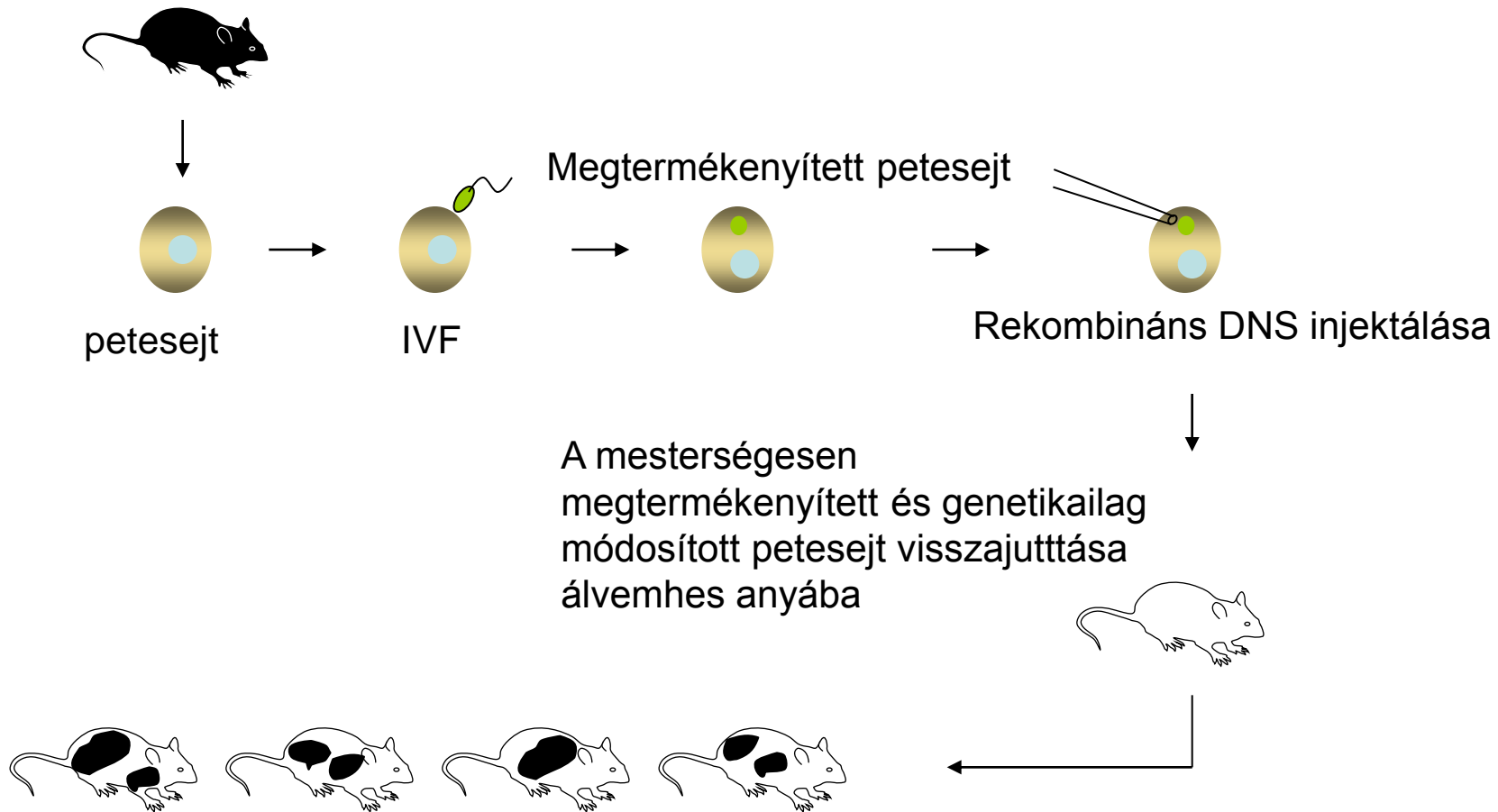
Állatok klónozása csak az egyik formája az állatmodellek létrehozásának. Lehetséges állatok genomjának célzott módosítása is.

- A transzgénikus állatok (genetikailag módosított) olyan állatok, amelyek genomjukban extra genetikai információt hordoznak és képesek is azt továbbadni utódjaiknak.

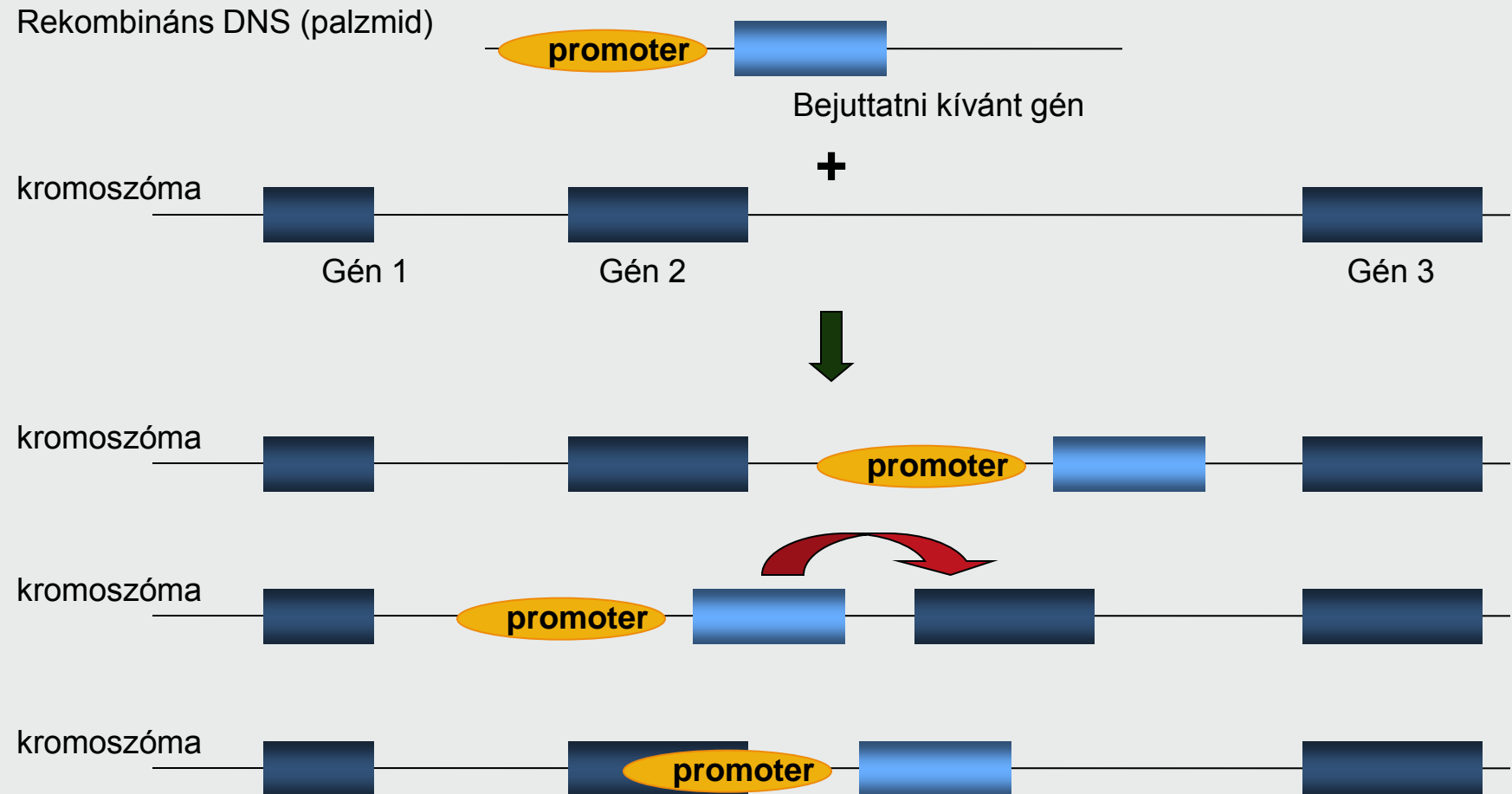
Miért szükségesek a transzgénikus állatok?

- Orvosbiológia: humán (kór)élettan jobb megismerése, gyógyszerkutatások, stb
- Mezőgazdaság: genetikailag módosított állatok előnyei lehetnek pl.:
 - A., nagyobb/gyorsabb növekedés (gazdasági haszon)
 - B., „extra” fehérje jelenléte az állatban (pl. betegségekre rezisztens állatok illetve olyan állatok, amelyek teje a szokásosnál jobb minőségű).
- biotechnológiai ipar: olyan állatok létrehozása, amelyek pl tejükben olyan humán fehérjét termelnek, amelyet könnyen lehet nagymennyiségben onnan izolálni és a gyógyászatban felhasználni
- Hobbi állatok: pl különböző színű fluoreszkáló halak (zebradánió) létrehozása, kedvencek (kutya, macska) klónozása

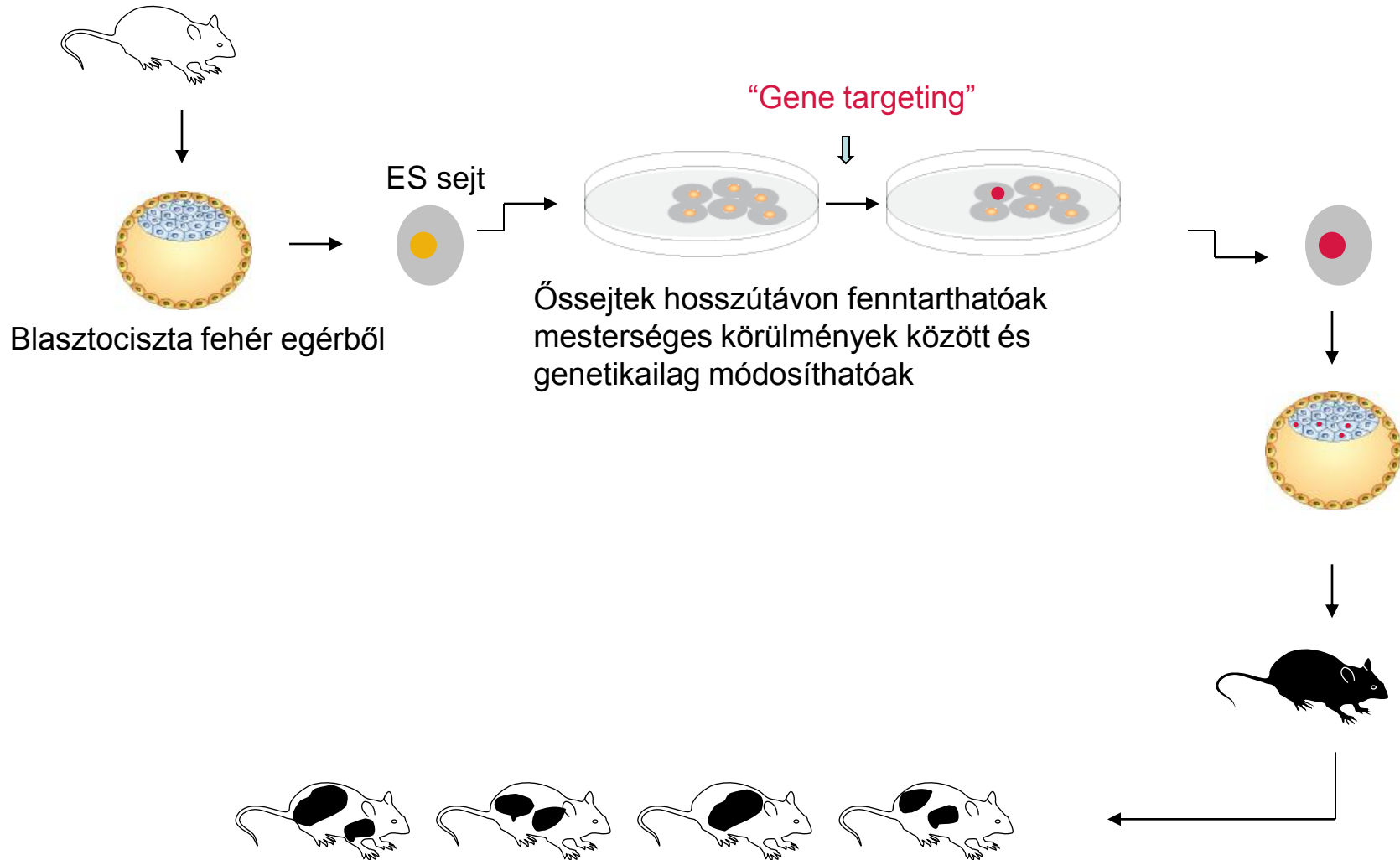
Klasszikus transzgenezis



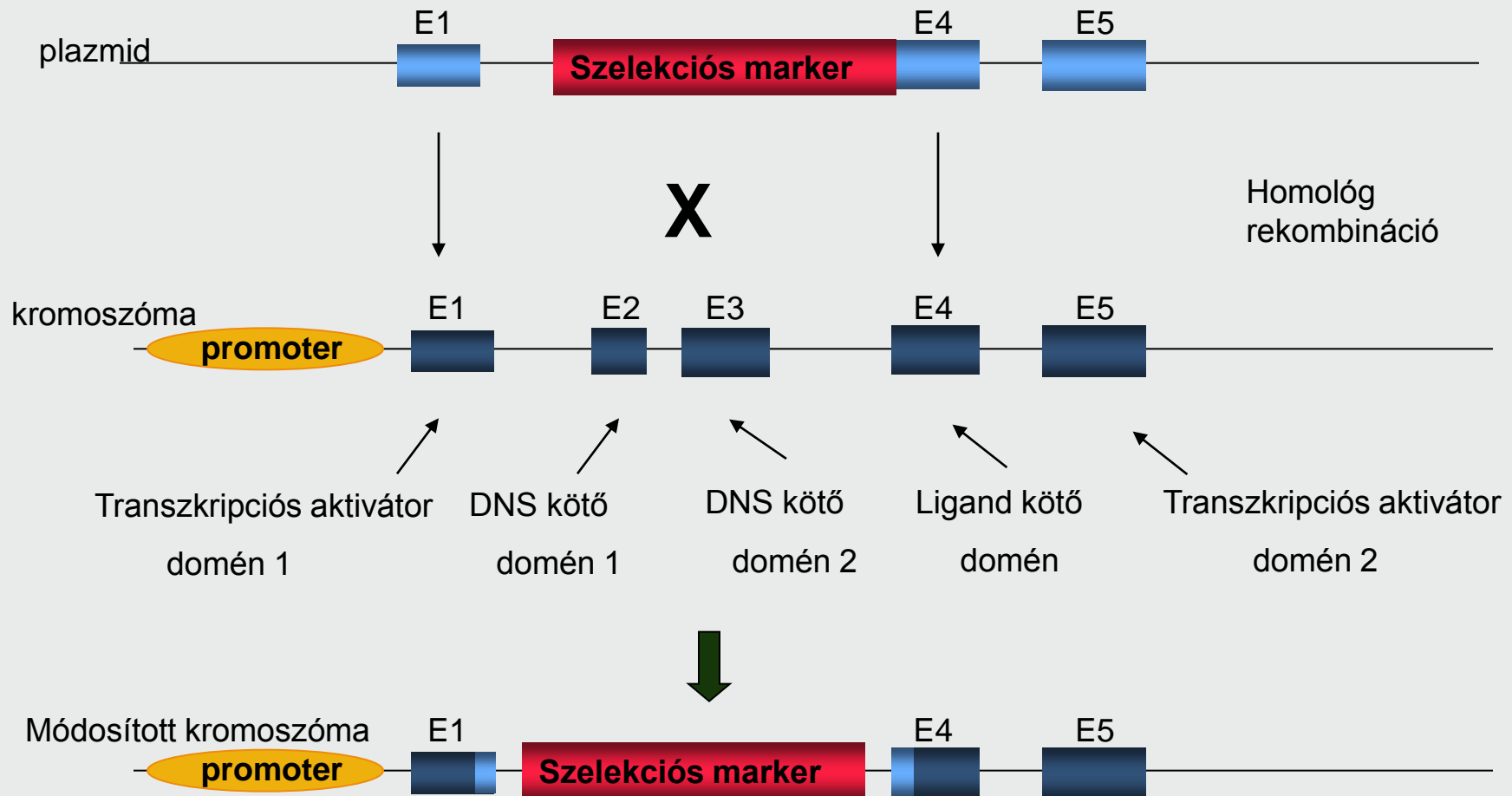
Klasszikus transzgenézis: a bejuttatott DNS sorsa



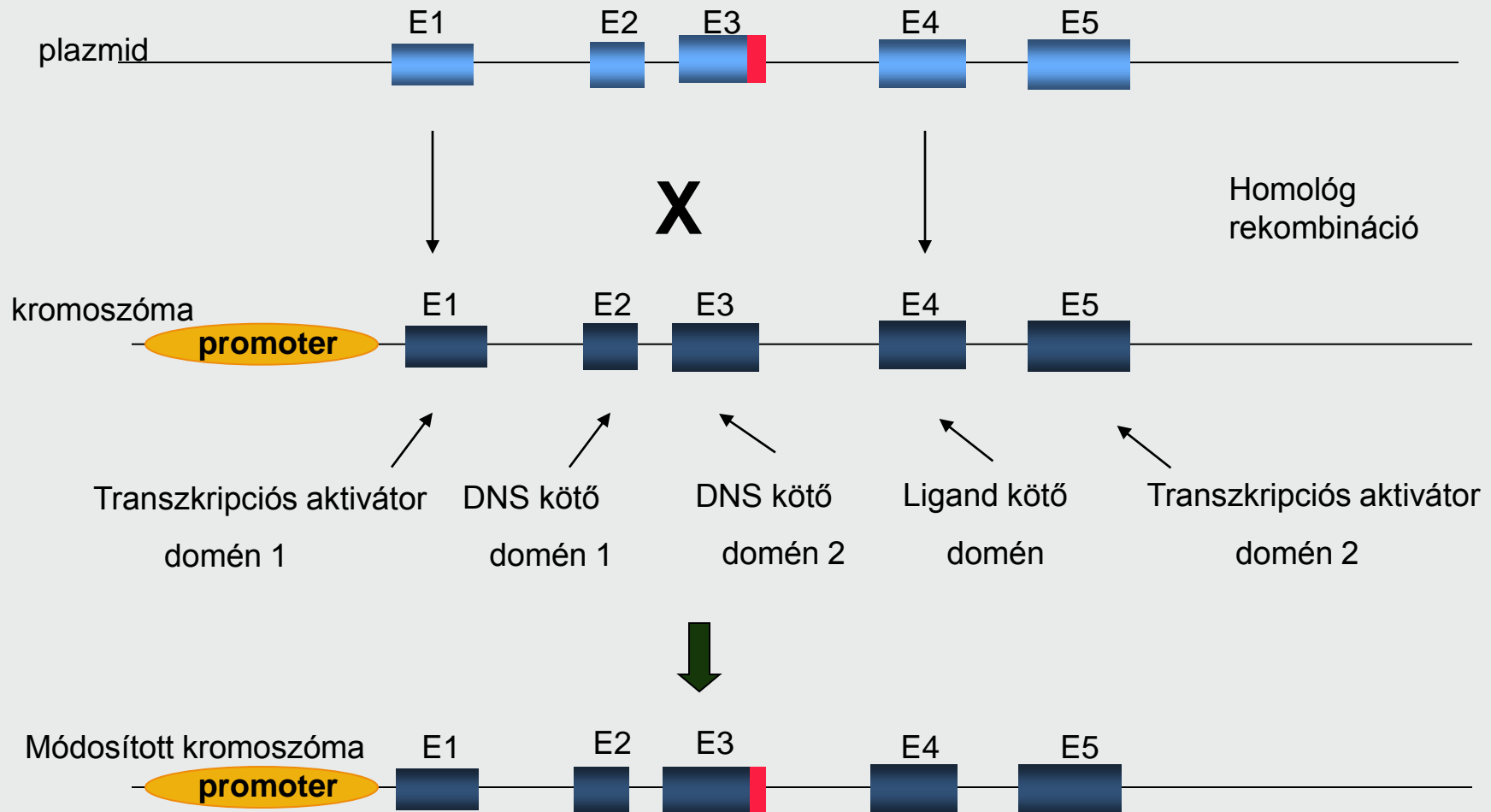
Genetikai manipuláció „gene targeting” segítségével: embrionális őssejtek (ES) felhasználása



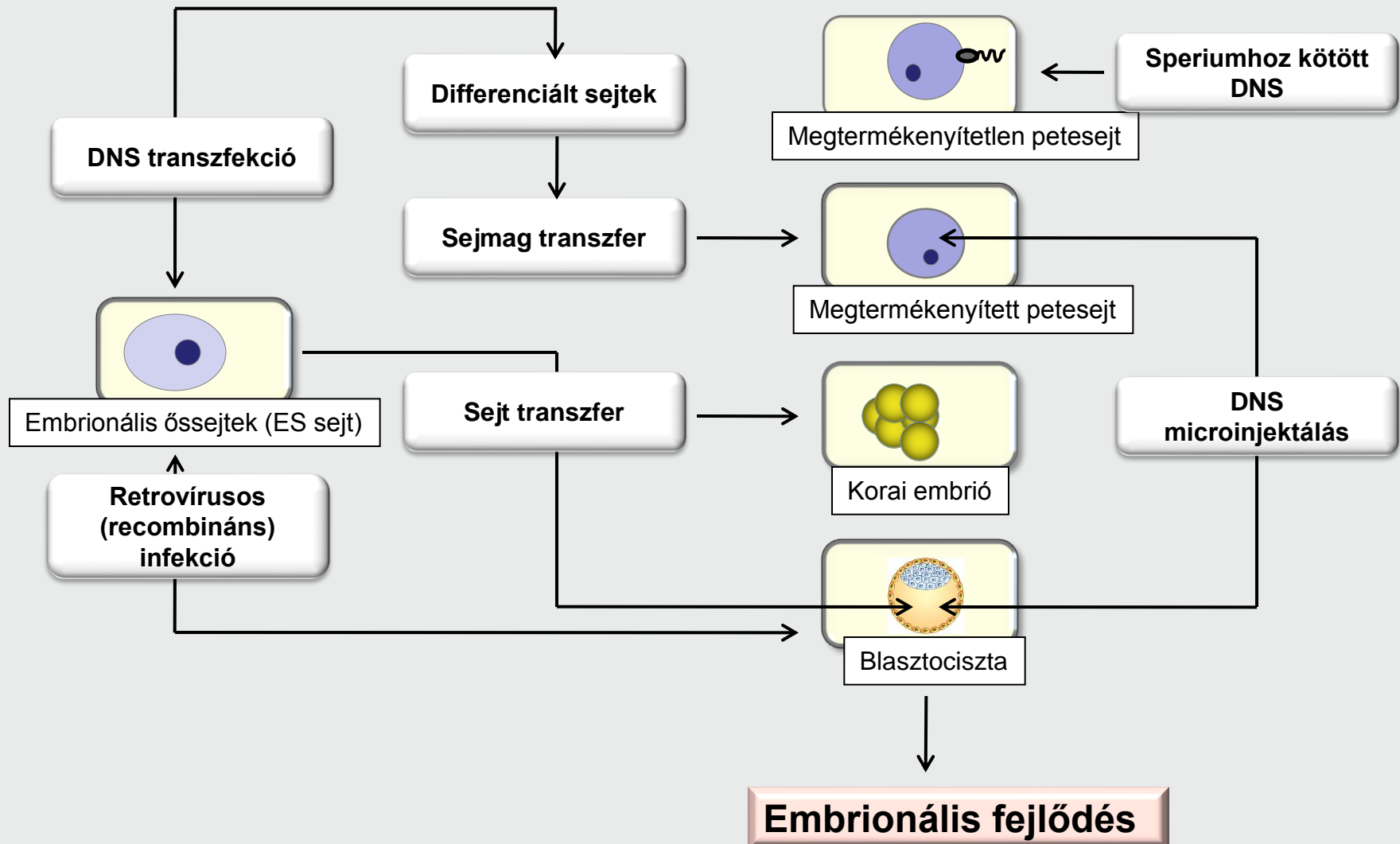
Az embrionális ősejtek genomjának manipulálása homológ rekombináció segítségével : genetikai szakasz kicserélése



Az embrionális ősejtek genomjának manipulálása homológ rekombináció segítségével : genetikai szakasz beillesztése



Az állatok genetikai módosításának módszerei: összefoglalás



Gyógyszerek, bioaktív molekulák termeltetése növényekben

A koncepció:

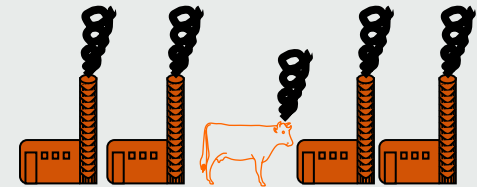
Kismolekulájú metabolitok és makromolekulák állandó jelleggel termelődnek növényekben.

Genetikai manipulációkkal elérhető, hogy a növények

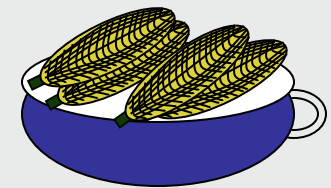
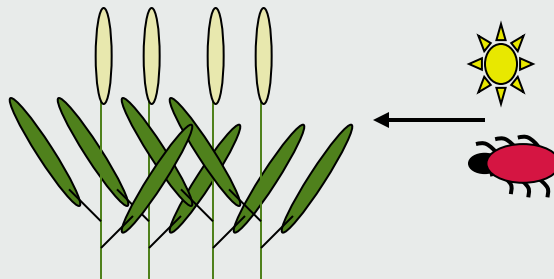
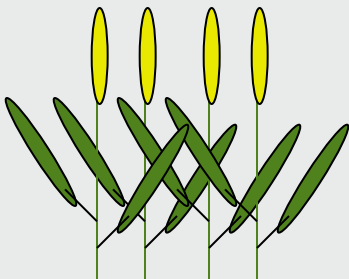
A: ezeket a molekulákat nagyobb mennyiségben termeljék

B: olyan molekulákat termeljenek, amiket egyébként nem termelnek

Az ilyen növények (vagy állatok) mint “bioreaktor” működnek.



GMO növények



Élelmiszer minőségi javítása

Környezeti rezisztencia növelése

Termésátlag növelése

GMO növények

- Élelmiszerek minőségi javítása
pl. arany rizs: vitamin A (β -karotin) tartalmú rizs létrehozása
 - Környezeti rezisztencia növelése
 - Gyomirtókra rezisztens növényfajok létrehozása. Pl: afrikai Striga (whichweed) gyomnövény rendkívül nagy károkat okoz a mezőgazdaságban. Gyomirtó rezisztens növényfajok termesztése: egyszerűbb gyomirtás
 - Termésátlag növelése
 - “gyógyszer növények”: fehérjék, kismolekulájú bioaktív anyagok és vakcinák termeltetése növényekben
- lehetséges termékek: inzulin, növekedési hormon, véralvadásgátlók...