

INNO-FOOD SEE

Setting up the innovation support mechanism and increasing awareness on the potential of Food Innovation and RTD in the South-East Europe area
SEE/B/0028/1.3/X

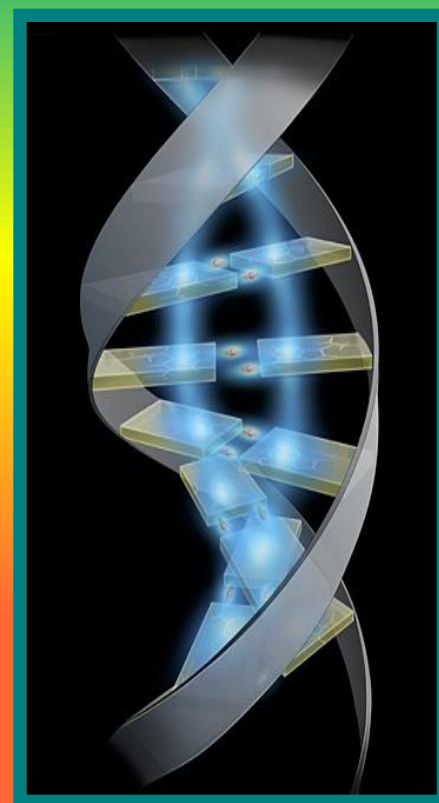
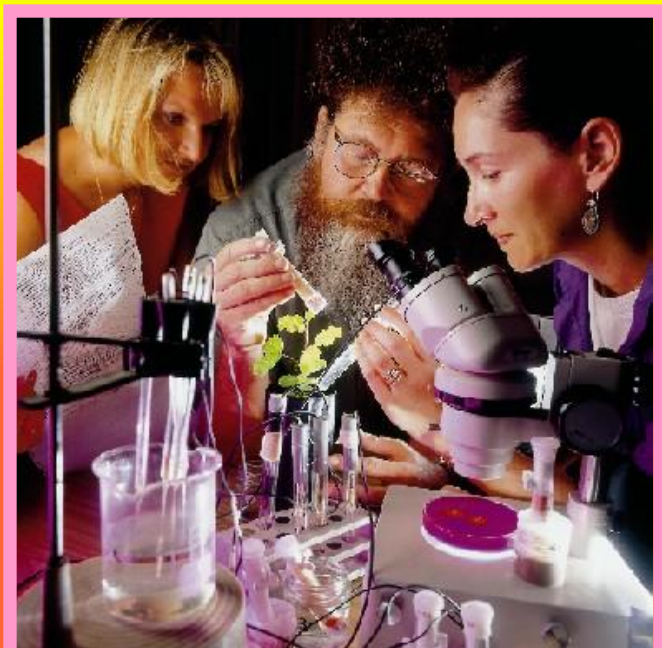
Изграждане на механизми в подкрепа на иновациите и повишаване на информираността относно потенциала на иновациите и научно-техническото развитие в хранителната промишленост в Югоизточна Европа

GENETIC ENGINEERING IN PLANTS AND MAMMALS

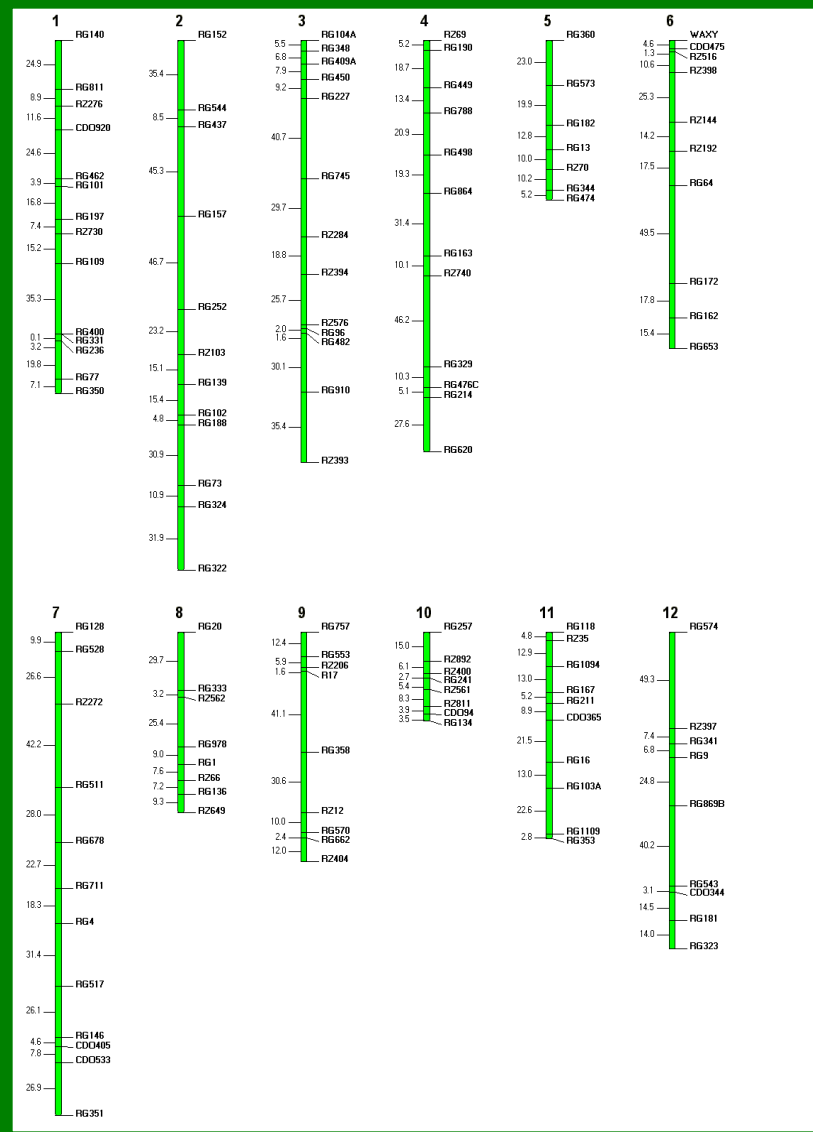
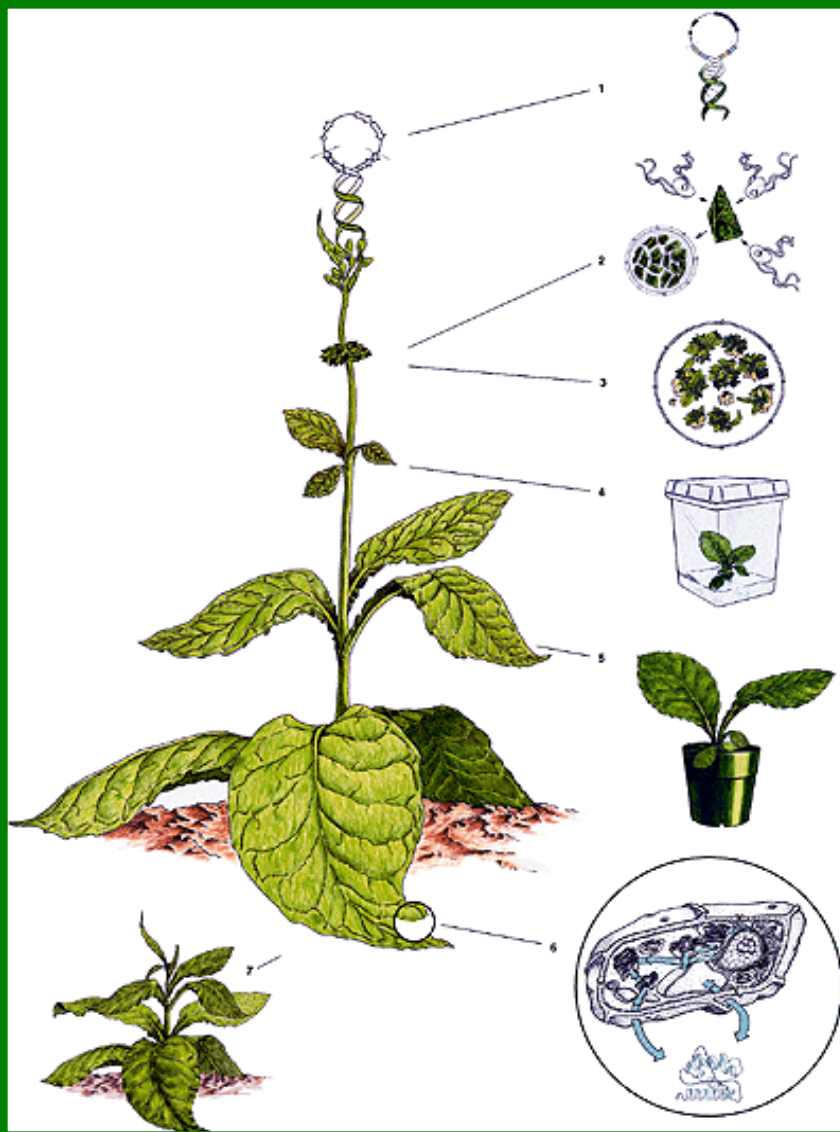
LECTURER – PROF. DIANA SVETLEVA, DR.SCI.

**AGRICULTURAL UNIVERSITY,
DEPARTMENT OF PLANT BREEDING
12 “MENDELEEV” STR.,
4000 PLOVDIV
BULGARIA**

ГЕНЕТИЧНО ИНЖЕНЕРСТВО ПРИ РАСТЕНИЯТА И БОЗАЙНИЦИТЕ



1. РАСТИТЕЛНИ БИОТЕХНОЛОГИИ





МИКРОКЛОНАЛНО РАЗМНОЖАВАНЕ НА МОРКОВИ

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



1 Tiny disks are obtained from carrot root.



2 Each disk produces an undifferentiated tissue mass.



3 Many like carrot plantlets are cloned from each tissue mass.

Приложение на биотехнологиите

- Медицински биотехнологии
 - ❖ Диагностициране
 - ❖ Терапия
 - ❖ Ваксини
- Селскостопански биотехнологии
 - Растителни
 - Животински
 - Производство на храни и хранителни продукти
- Биотехнологии за околната среда
 - ✓ Почистване на околната среда чрез биореимедияция
 - ✓ Предотвратяване на екологични проблеми
 - ✓ Мониторинг на околната среда.

БИОТЕХНОЛОГИИ ПРИ СЕЛСКОСТОПАНСКИТЕ РАСТЕНИЯ

✓ Растителна продукция и нейната защита.

- Генетично инженерство (трансгенни растения).
- Използване на биологични методи за защита на растенията.
- Използване на връзката между природата и прилаганите технологии.

✓ Хранителна стойност на продукцията.

- Подобряване на качеството и безопасността на храните.
- Здравословни масла за готвене чрез намаляване в тях на концентрацията на сатурирани мастни киселини
- Функционални храни – съдържащи значителни количества на биологично активни компоненти, които оказват благоприятно действие върху човешкото здраве.



Растителни биотехнологии

2. ДНК-РЕКОМБИНАНТНИ ТЕХНОЛОГИИ ПРИ РАСТЕНИЯТА

ИЗПОЛЗВАНИ ПОНЯТИЯ

- **Т-ДНК** - част от *Ti*-плазмида, която се пренася в растителната ДНК.
- ***Ti*-плазмид** - голям плазмид, открит в клетки на *Agrobacterium tumefaciens*, способни да предизвикват формиране на коронни гали при някои видове растения.
- **химера** - рекомбинантна ДНК молекула, съставена от фрагменти ДНК от различни организми.

Използват се за получаване на генетично модифицирани растения чрез премахване на генетичната информация от даден организъм (предимно бактерии), манипулирайки го в лабораторни условия и прехвърляйки го в дадено растение за промяна на някои важни признаци.

Използват се молекулярни методи за манипулиране:

- ✓ молекулярни маркери и картиране;
- ✓ клониране на гени;
- ✓ растителна трансформация

ГЕННО МОДИФИЦИРАНИ РАСТЕНИЯ



Най-важните култури в света



- Съществуват бактерии, които засилват азотната фиксация при растенията. С тяхна помощ растенията приемат азот от въздуха и го усвояват – например *Klebsiella pneumoniae* (A)

- Има плазмиди, които предизвикват образуване на тумори по растенията. Те са известни като *Ti* (тумор индуциращи) плазмиди (B)







(A)



(B)



ПОЛУЧАВАНЕ НА ПЪРВИТЕ ГМ РАСТЕНИЯ

- 1950  Получена първа регенерация на цели растения от *in vitro* култура
- 1973  Учените изолират първите гени
- 1983  **Първото трансгенно растение:** тютюн устойчив на антибиотици
- 1985 ГМ растения с устойчивост на инсектициди, вируси и бактерии са тествани при полски условия за първи път
- 1990  Първо успешно отглеждане при полски условия на ГМ памук
- 1994  Flavr-Savr домати – **за първи път получена ГМ храна**
- 1995  Получена соя от Monsanto с устойчивост на Roundup Ready и подготвена за продаване в САЩ.

МЕТОДИ ЗА ТРАНСФОРМАЦИЯ НА РАСТЕНИЯТА

Физици

- Микроинжектиране
- Натиск
- Биолистично – ген-на пушка/ бомбардиране с частици
- Електропорация
- Silica/carbon фибри
- Лазер
- SAT

Химични

- PEG
- DEAE-декстран
- Калциев фосфат
- Изкуствени липиди
- Протеини
- Дендримери

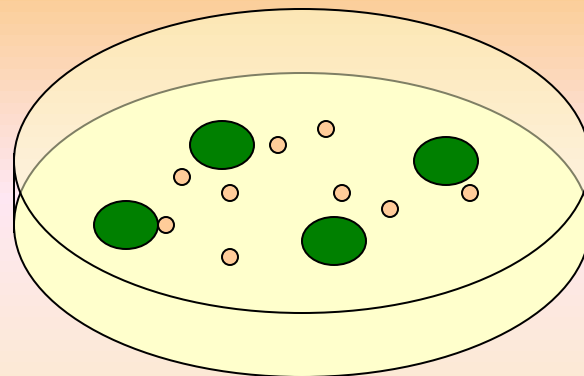
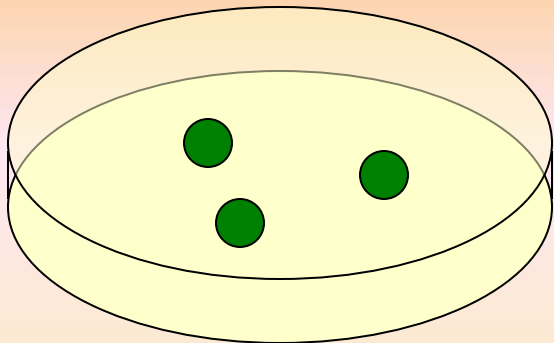
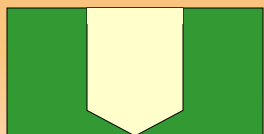
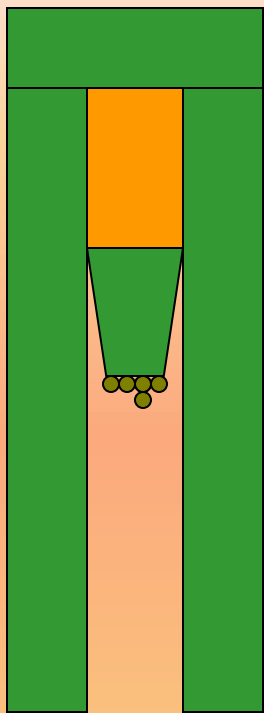
Биологични

- *A. tumefaciens*
- *A. rhizogenes*
- Вируси

На цяло растение



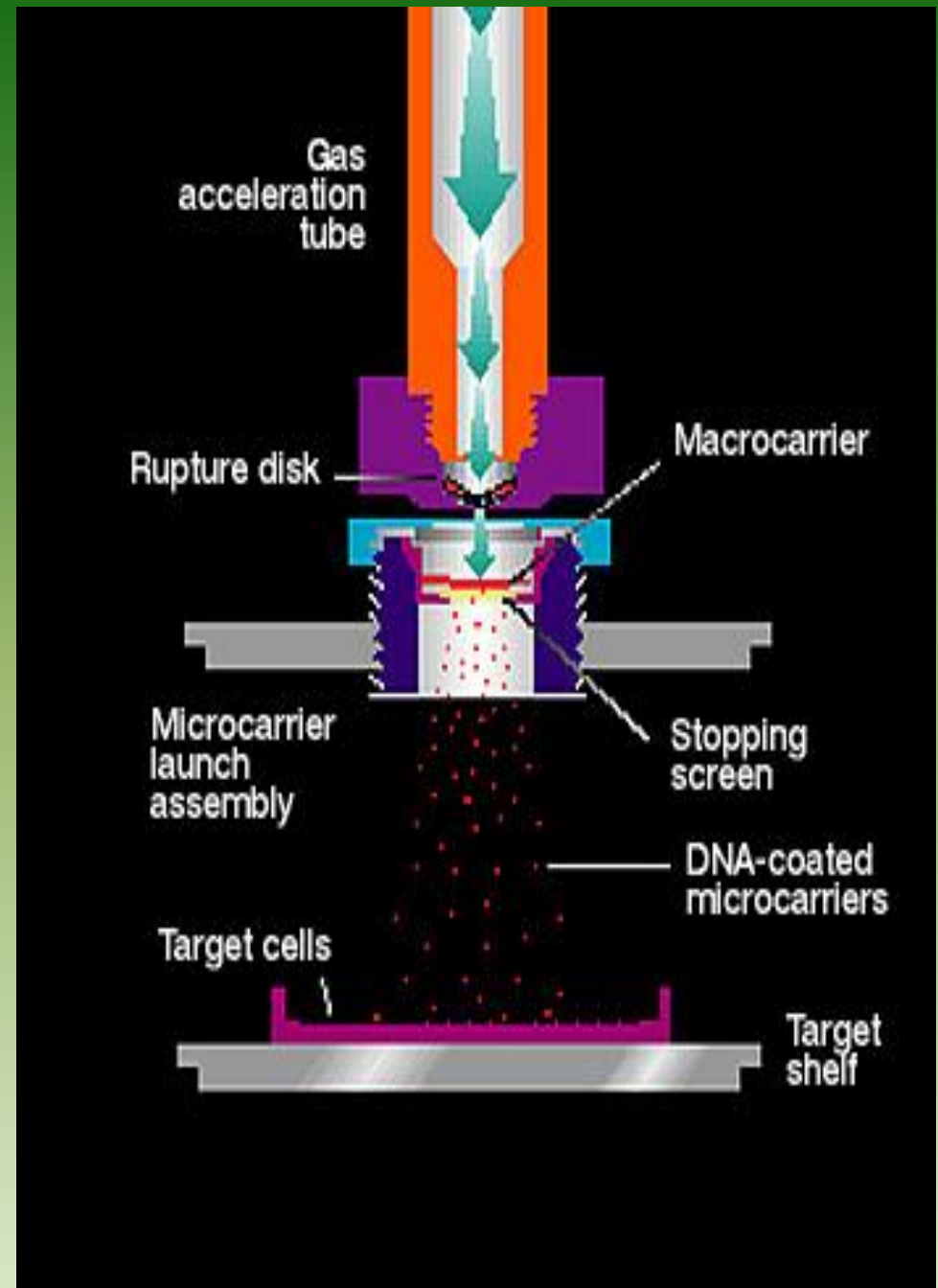
ГЕНЕТИЧНА ТРАНСФОРМАЦИЯ ПРИ РАСТЕНИЯТА

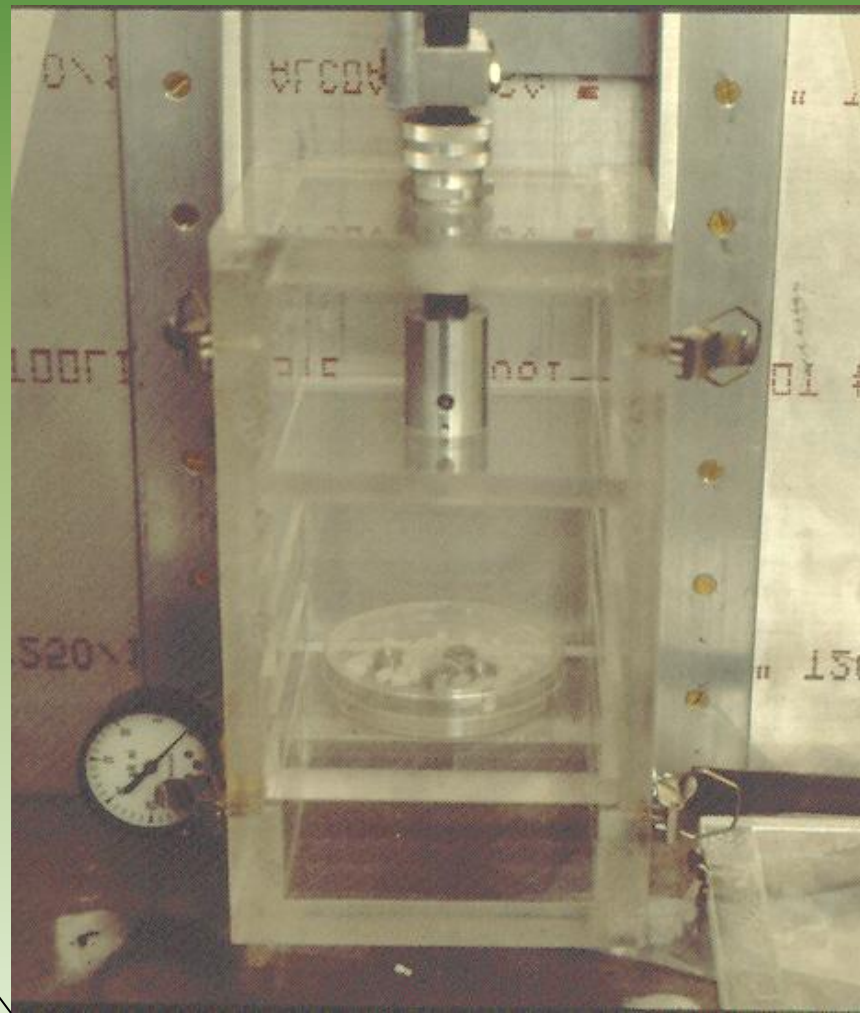




Този електропоратор може да се използва за малки проби, за които са необходими малки електроди.

Биолистична трансформация с генна пушка





Ръчна генна пушка



Цел:

Да се въведе ДНК в клетките, които са под горния повърхностен слой на тъканите (проникват в долните слоеве на тъканта)

Една интересна употреба:

Производство на ДНК ваксини в животните.



Вомбардиране с частици

Има по-малко ограничения, отколкото при електросливането.

Може да се използва за клетки с клетъчни стени.
Могат да се трансформират органели.

Метод:

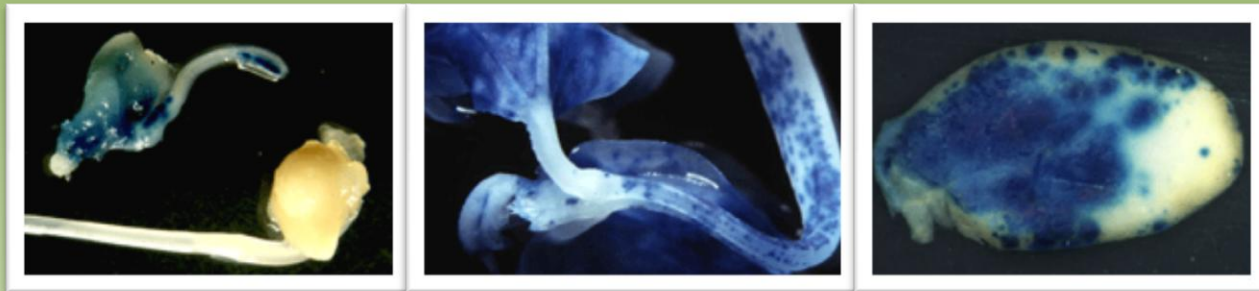
1. ДНК се поставя върху тънка златна пластинка.
2. Частиците се ускоряват до висока скорост чрез използване на хелий и се вкарват в клетки или тъкани.
3. Извършва се растеж и регенерация върху селективни среди, както се прави при трансформиране с *Agrobacterium*.

Възстановяване на органелен ген: $\sim 1 \times 10^7$ мутан-тни клетки от *Chlamydomonas*, които имат делеция в *atpB* гена за контролиране на фотосинтезата е бомбардиран с интактен *atpB* ген. След това клетките са прехвърлени върху минимална хранителна среда така, че само компетентните клетки (с ген за фотосинтеза) могат да растат в тази среда.



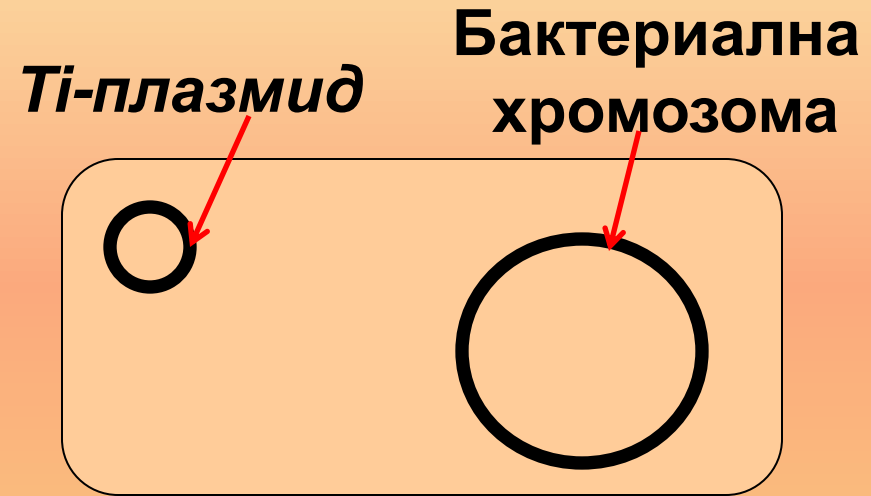
Контролно петричево блюдо. В него клетките са бомбардирани без включване на ДНК.

Sonication & SAAT

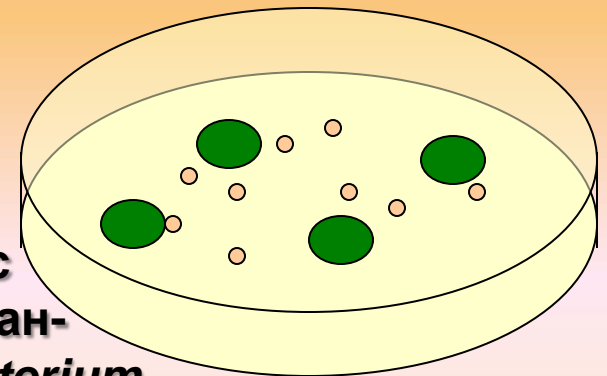


Трансформация с *Agrobacterium*

- *Agrobacterium* съдържа кръгова хромозома ДНК (*Ti*-плазмид), в която се включва генът от интерес
- Ко-култивиране на *Agrobacterium* с растителните експланتي, в които се включва генът от интерес

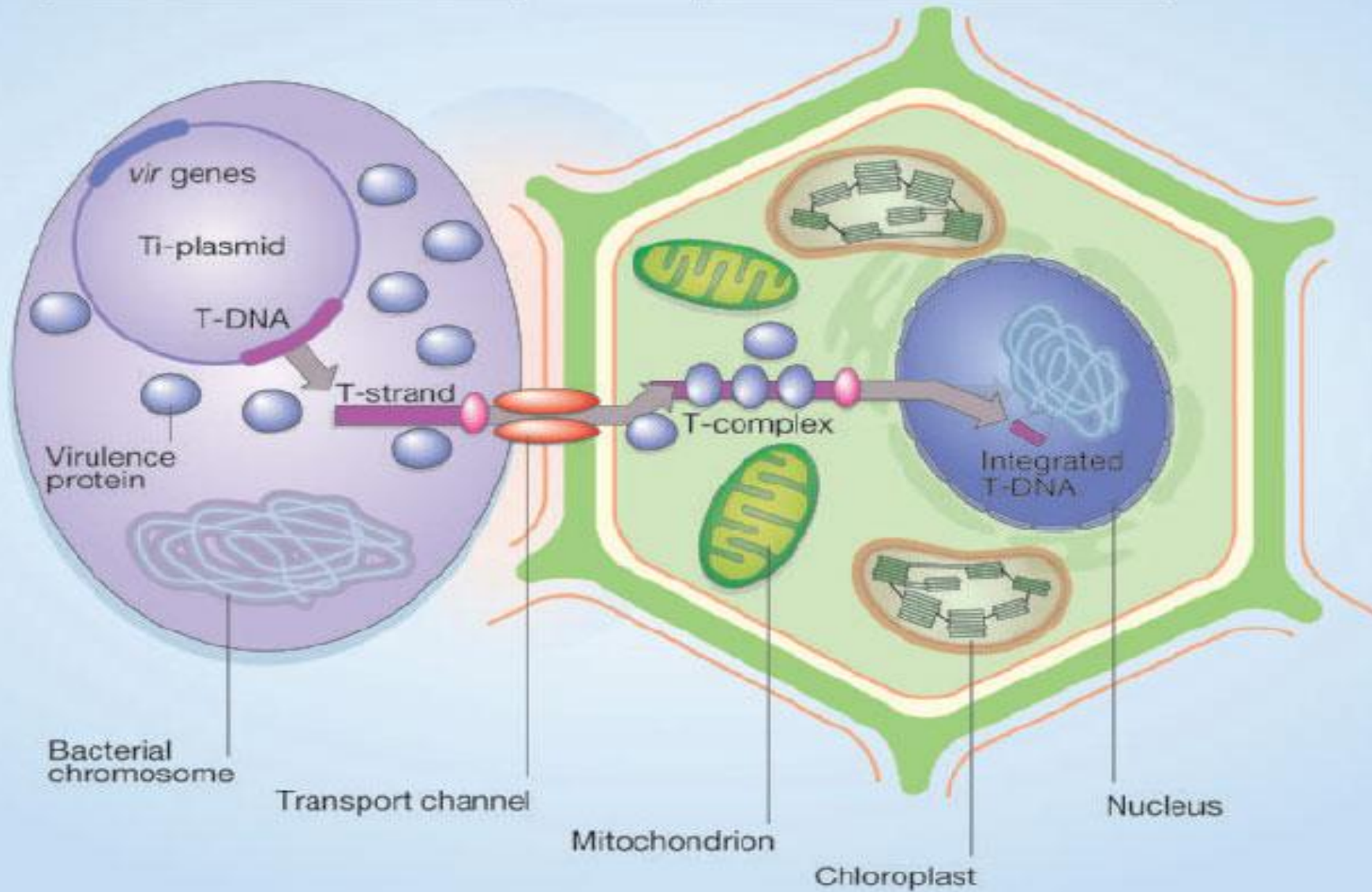


Петриево блюдо с растителни експлан-ти и *Agrobacterium*

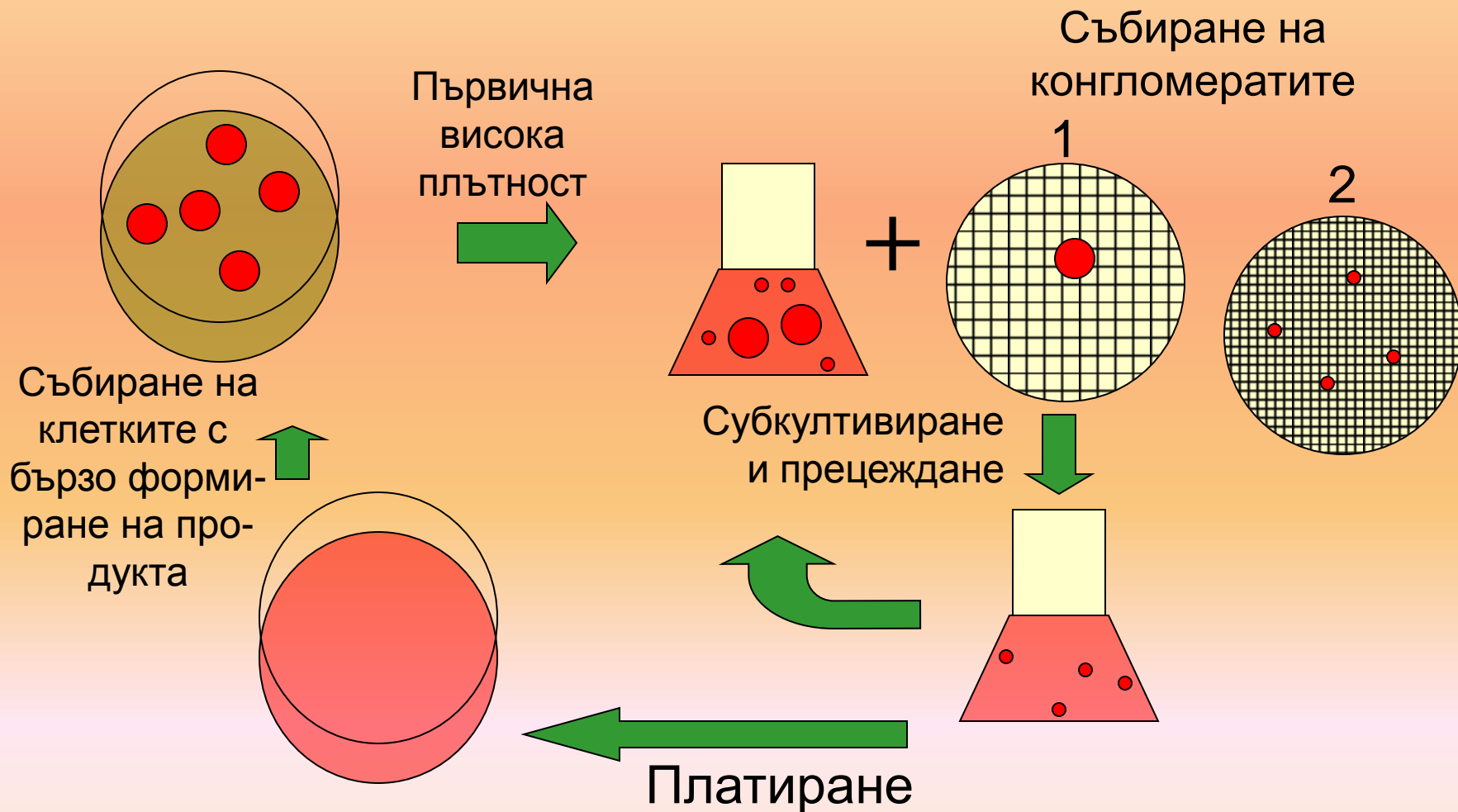


Agrobacterium tumefaciens

Plant cell



ВЪВЕЖДАНЕ В КУЛТУРА



Получаване на трансгенни растения

Изолиране и клониране на гена от интерес



Добавяне на ДНК фрагменти за инициране или засилване на генната експресия



Добавяне на селективни маркери



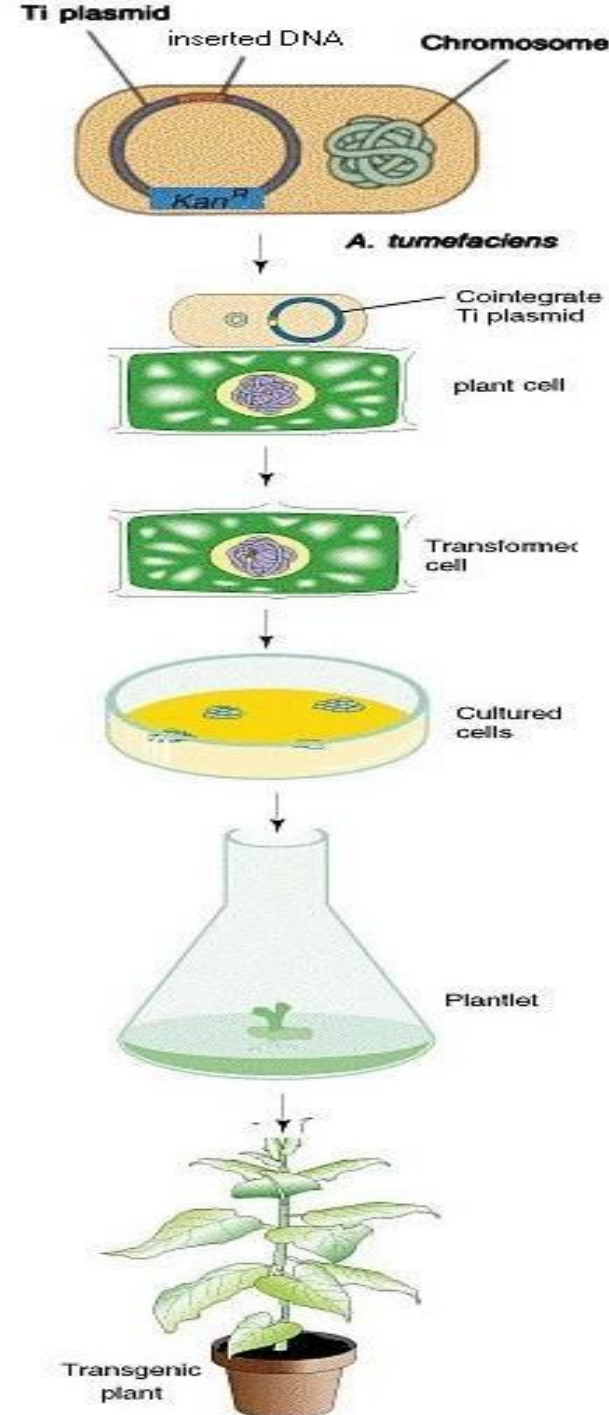
Въвеждане на генния конструкт в растителните клетки (трансформация)



Селекциониране на трансформираните клетки или тъкани

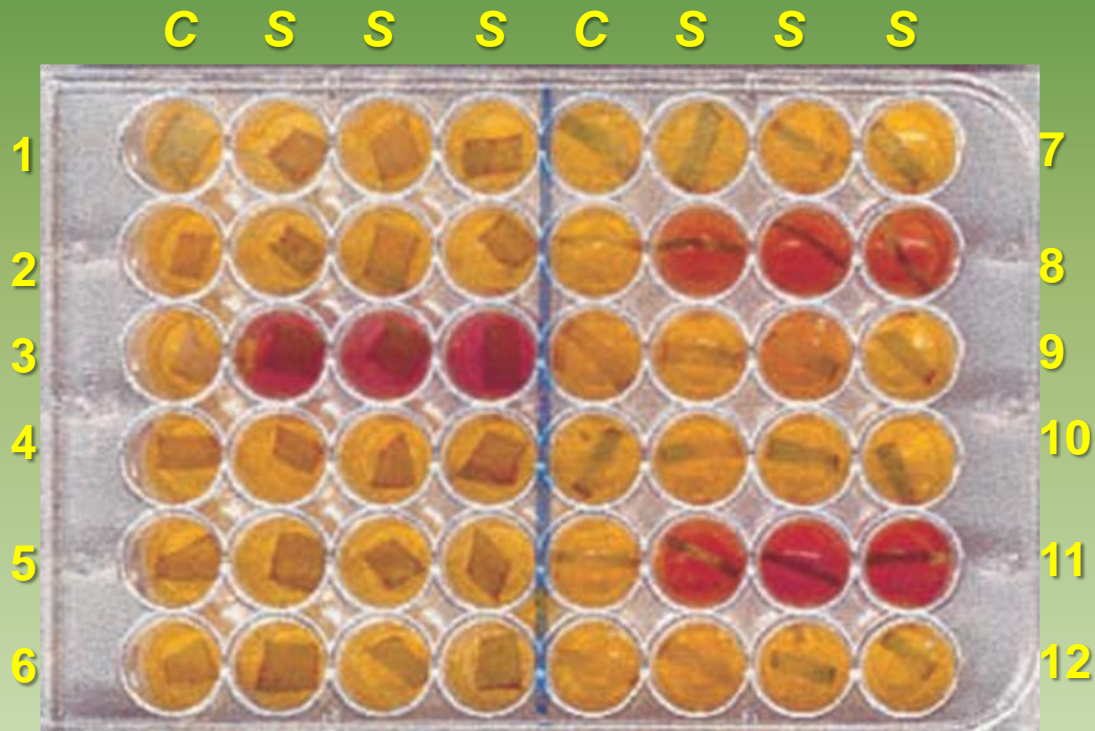


Регенерация на цели растения



Chlorophenol (червен) анализ на листни парченца от царевица и пшеница.

С - контрола; S - проба. Редове 1–6 листа от шест трансгенни растения царевица; ред 3 (червено) листа от немодифицирани растения царевица. Редове 7–12 листа от шест трансгенни растения пшеница; редове 8 и 11 листа от немодифицирани растения пшеница.



Маркери за визуализация

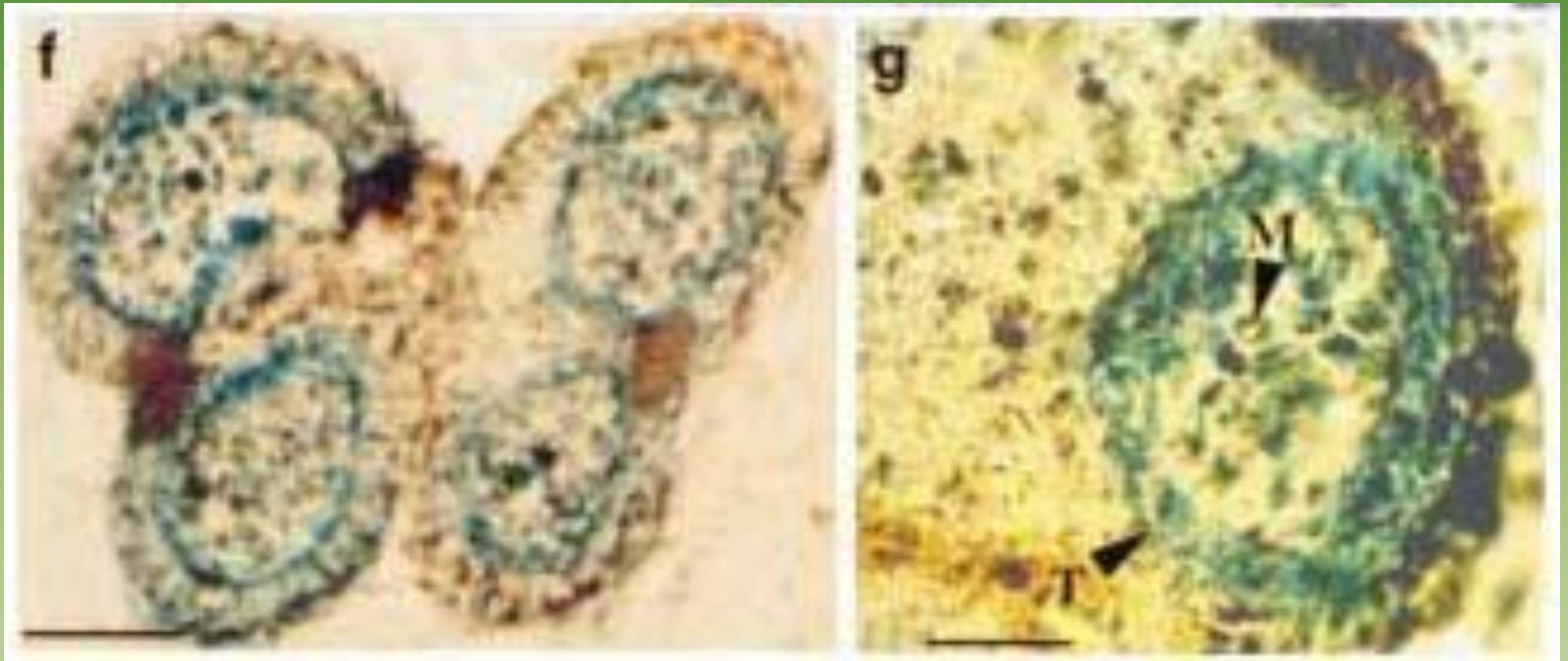
B-glucuronidase (GUS)

- Обикновено се използва генът *UidA*, който кодира активността на **GUS**.
- Дава синьо оцветяване с безцветния субстрат (*X-glu*) за качествен анализ.
- С Methyl Umbelliferyl Glucuronide (*MUG*) се получава флуоресценция, която се използва за количествен анализ.

Green Fluorescent Protein (GFP)

- Флуоресцира в зелено при облъчване с UV светлина.
- Не е разрушителен за растението.
- Проблемите със загадъчните интрони сега са решени.
- Използва се за селектиране на самия себе си.

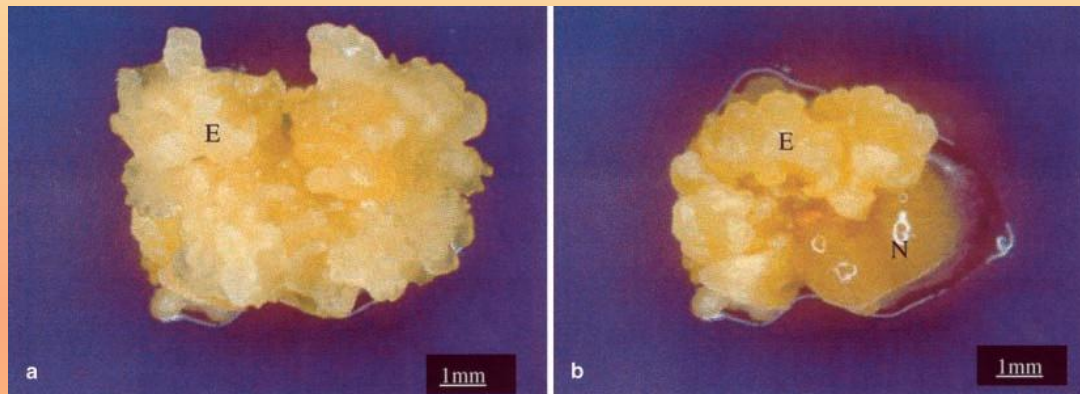
Анализ на GUS ензимната активност в антери от трансгенни растения от *N. benthamiana* и *N. plumbaginifolia* носещи химерния *Pnschslk/GUS* ген.



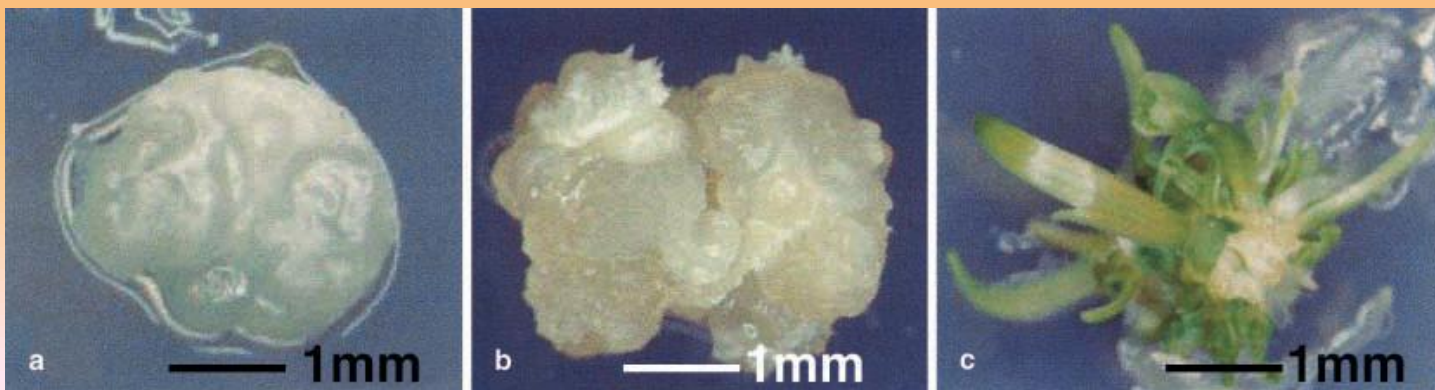
f – фаза тетради,

g – фаза едноядрени
микроспори

Формиране на калус и регенерация по пътя на ембриогенеза



Калус от царевица. а) Ембриогенен калус, б) Трансгенен ембриогенен калус. *Е* - Ембриогенен калус, *Н* - некротирала, нетрансгенна тъкан.



Ембриони от пшеница. а) Ембриони от пшеница 1 седмица от култивирането, б) Ембриони от пшеница 3 седмици след бомбардиране, в) Регенерация на растения върху селективна среда.

РЕПОРТЕРНИ ГЕНИ

Първи съобщения за репортерни гени:

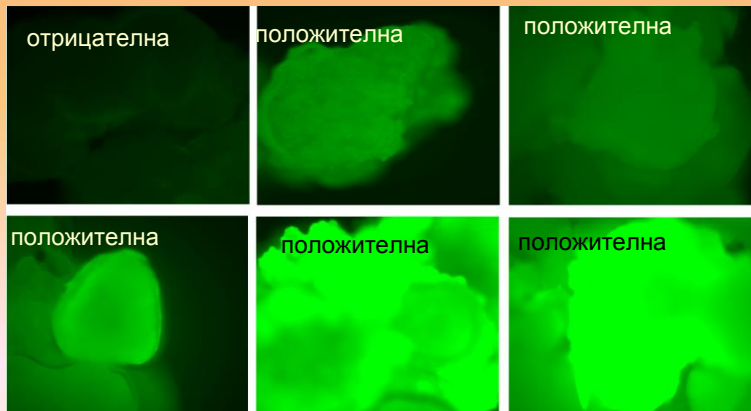
CAT: chloreamphenicol acetyl transferase (хроматографски и авторадиографски)

nos or ocs: нопалин или октопин синтетаза (хроматографски)

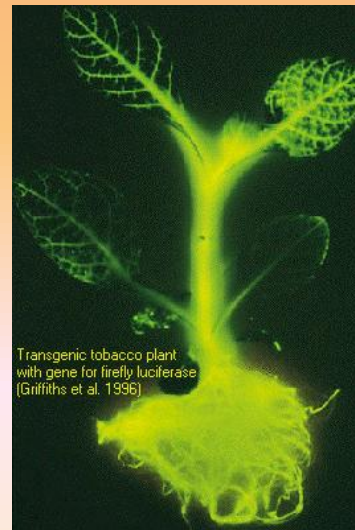
uidA или *gusA* (GUS): MUG или X-gluc (оцветено или флуоресциращо) Jefferson (1987)

luc (luciferase от светулка) **luciferin** (биолуминисценция) Ow et al. (1986)

gfp (зелен флуоресциращ протеин) не образува субстрат, UV irradiation.



Експресия на GFP в
калус от ориз



LUC+ тютюн



Флуоресциращи мишки



**ГЕНЕТИЧНО МОДИФИЦИРАН
ПАМУК (СЪДЪРЖА ГЕН ЗА
УСТОЙЧИВОСТ НА НАСЕКОМИ)**

**НЕМОДИФИЦИРАН
ПАМУК**

ГЕННО МОДИФИЦИРАНИЯ ЗЛАТЕН ОРИЗ ИМА ПО-ВИСОКО СЪДЪРЖАНИЕ НА ВИТАМИН А

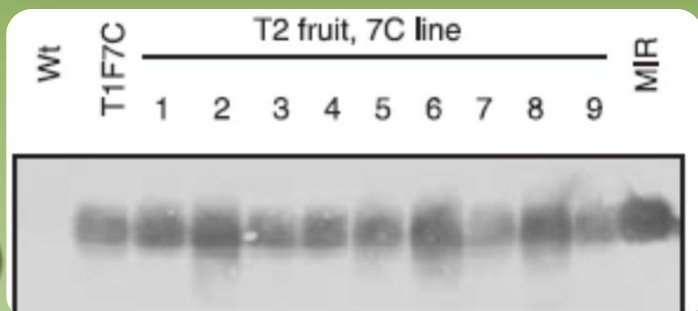


Златен (жълт)
и стандартен
бял ориз.

В света, 7% от децата изпитват недостиг на витамин А. Много от тях живеят в райони, в които оризът е основна храна.

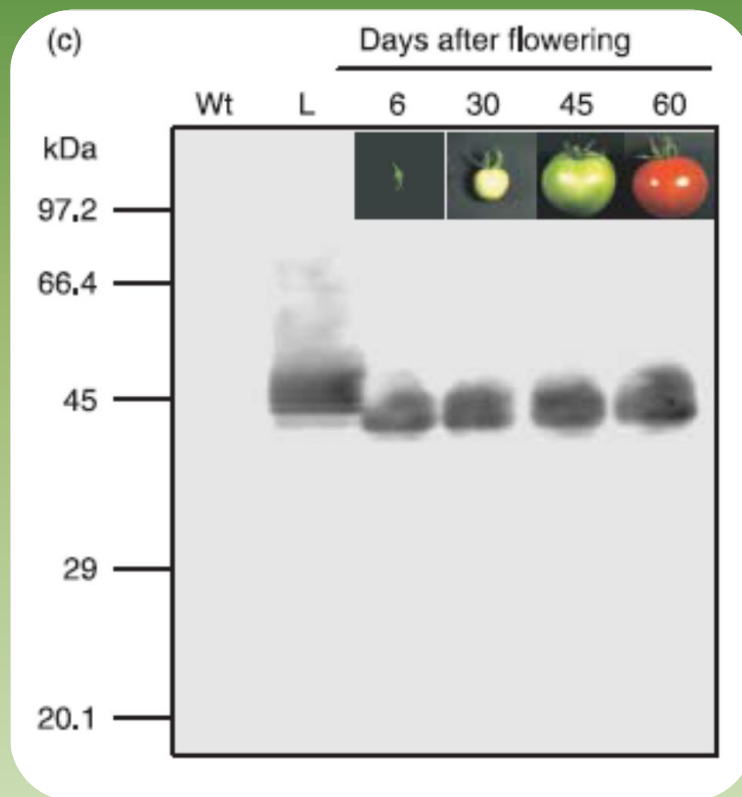


A)



Рекомбинантни листа (А) от домати, съдържащи miraculin от годжи бери (102.5 µg) и плодове (Б) с 90.7 µg/g свежо тегло.

Б)



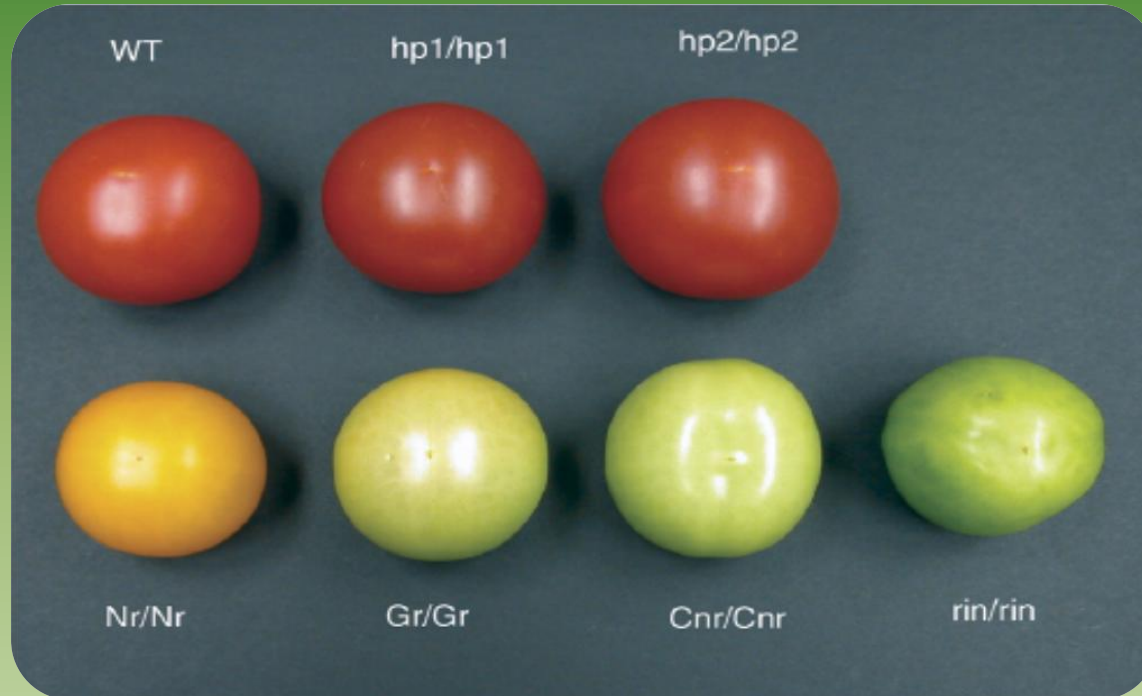
Journal Medical hypothesis, 2006

Доматите са от различни
сортове, цветове и форма
на плодовете. Те са транс-
генни и са носители на
гени, които експресират
различни антигени за
малария.



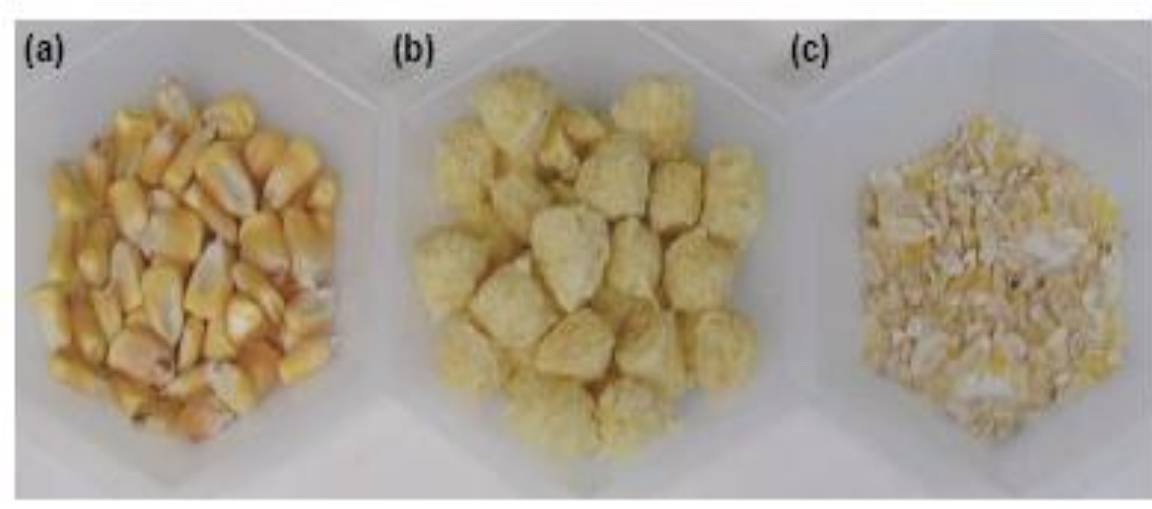
Fruit ripening mutants yield insights into ripening control

James J Giovannoni **Current Opinion in Plant Biology** 2007, 10:283–288.



Нормални и мутантни домати

Високо съдържание на пигмент 1 (hp1/hp1), Високо съдържание на пигмент 2 (hp2/hp2), Неузряващ (Nr/Nr), Зелени (Gr/Gr), Без оцветяване и узряване (Cnr/Cnr) и Съдържащ инхибитор на узряването (rin/rin) мутанти.



Производство на ваксина от семената на царевица

Трансгенни царевични семена (a)

Царевичен snack (b)

Ембрионални или зародишни
клетки (c)





Dr. Eady, Crop & Food Research in
New Zealand and his collaborators in
Japan

Сух лук, който
не люти на очите



Когато лукът се нарязва, клетките се разкъсват, отделя се вещество, което разгражда аа sulfoxides - образува сулфониева киселина, която е нестабилна и се превръща в летлив газ - syn-propanethial-S-oxide – дифундира с въздуха – достига до очите - реагира с влагата в тях и образува разреден разтвор на sulphuric acid – Слъзната жлеза произвежда сълзи, за да разрежи и промие роговицата.



<http://www.dailymail.co.uk/news/article-514799/The-orange-purple-green-cauliflowers-scientists-claim-healthier-you.html>



*Лилави домати с високо
съдържание на антоцианини*

<http://news.bbc.co.uk/2/hi/health/7688310.stm>

***Високо антоцианинови
лилави домати и червени
(див тип) домати***





Prof Cathie Martin from the John Innes Centre

Anthocyanins offer protection against certain cancers, cardiovascular disease and age-related degenerative diseases. Anthocyanins also have anti-inflammatory activity, promote visual acuity and hinder obesity and diabetes.

Tomatoes already contain high levels of the antioxidant lycopene. Highly processed tomatoes are the best source, or tomatoes cooked in a little oil, which helps to release the lycopene from cells.

Flavonoids meanwhile are soluble in water, and foods containing both water soluble and fat-dissolved antioxidants are considered to offer the best protection against disease.

In this study the scientists expressed two genes from snapdragon that induce the production of anthocyanins in snapdragon flowers. The genes were turned on in tomato fruit.

Anthocyanins accumulated in tomatoes at higher levels than anything previously reported for metabolic engineering in both the peel and flesh of the fruit. The fruit are an intense purple colour.

<http://www.seedquest.com/News/releases/2008/october/24091.htm>

World's First Blue Roses On Display In Japan

- Danielle Demetriou, Daily Telegraph, October 31, 2008,
See the rose at
<http://www.telegraph.co.uk/news/worldnews/asia/japan/3327043/Worlds-first-blue-roses-on-display-in-Japan.html>

Tokyo, Japan - World's first blue roses have been unveiled to the public for the first time at an international flower fair in Japan, following nearly two decades of scientific research.

The blue-hued blooms are genetically modified and have been implanted with a gene that simulates the synthesis of blue pigment in pansies.

Its scientists successfully pioneered implanting into the flowers the gene that produces Delphinidin, the primary plant pigment that produces a blue hue but is not found naturally in roses.

The world's first genetically modified blue roses were unveiled in the laboratory four years ago, although further research was required to make them safe to grow in nature.



Синя роза,
получена от
сорт Suntory

Гориво от гъби

Bozeman, Mont. -- U.S. scientists say a [FUNGUS](#) in the Patagonian rainforest might be a new source of biofuels since it produces a number of diesel compounds from cellulose.

"This is the only organism that has ever been shown to produce such an important combination of fuel substances," said Montana State University Professor Gary Strobel, making it a better source of biofuels than anything used now.

The fungus, **Gliocladium roseum**, produces various molecules made of hydrogen and carbon that are found in diesel, the researchers said. Because of that, the fuel it produces is called "myco-diesel."

"Gliocladium roseum lives inside the Ulmo tree in the Patagonian rainforest," Strobel said. "We were trying to discover totally novel fungi in this tree by exposing its tissues to the volatile [ANTIBIOTICS](#) of the fungus Muscodor albus. Quite unexpectedly, G. roseum grew in the presence of these gases when almost all other fungi were killed.

"It was also making volatile [ANTIBIOTICS](#). Then when we examined the gas composition of G. roseum, we were totally surprised to learn it was making a plethora of hydrocarbons and hydrocarbon derivatives," Strobel said."

Strobel said the discovery brings into question scientists' knowledge of the way fossil fuels are made.

The discovery is reported in the journal Microbiology.

The fungus grows inside the Ulmo tree in the temperate Patagonian rainforest of Chile and Argentina.



Корените на растенията се развиват в горния им край

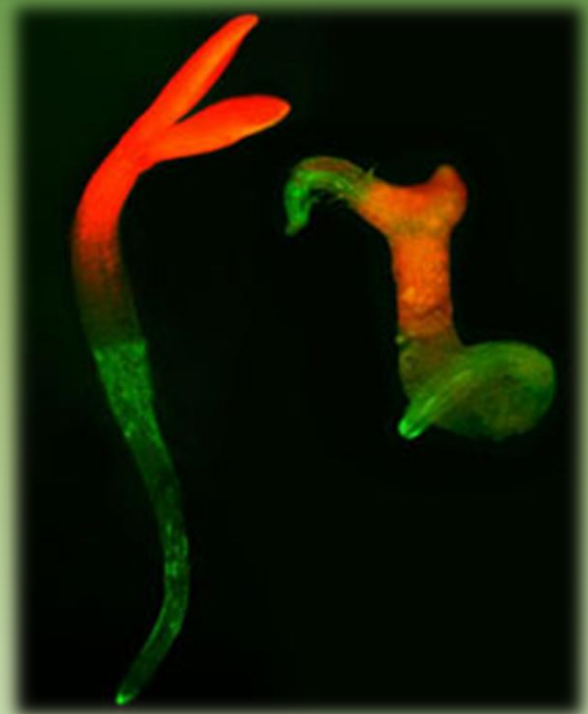
Utrecht University (The Netherlands) and Ghent University (Belgium) with help from scientists in Japan, USA and Switzerland. The results of this research appeared as an advance online publication of the weekly science journal Nature on 26 October 2008.

Pankaj Dhonukshe discovered a molecular switch to alter the auxin transport.

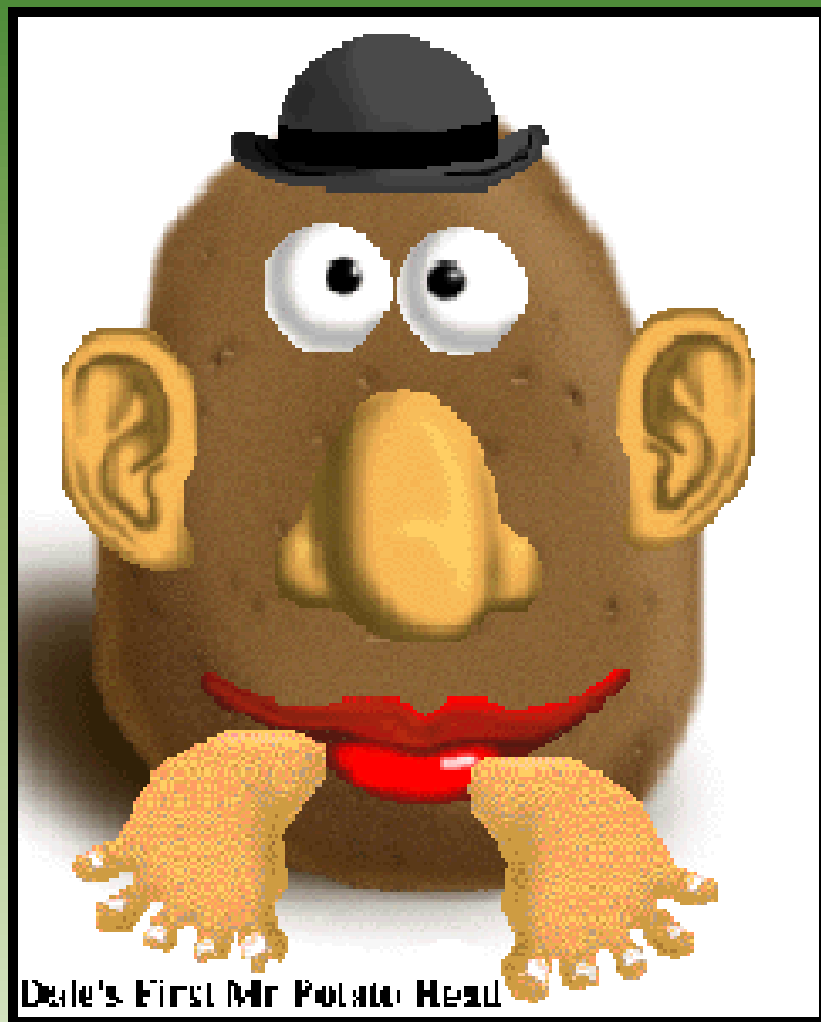
By turning on the switch, Dhonukshe was able to reduce the extent of auxin transport towards the roots.

The hormone then began to accumulate at the places in the young leaves where it is produced and roots began to emerge here where normally leaves would grow.

The photo on the left shows a normal plant with normal leaves and a root and the photo on the right shows a plant on which root has started to grow at the place of young leaf. The shoot part is shown in orange and the roots in green.



КОРЕНОПЛОДИ



Бобови



Устойчиви на хербициди растения



Трансгенни растения с устойчивост на хербициди: а) Соя (Bialaphos); б) Памук (Bialaphos); в) Фасул (Bialaphos); д) Соя с устойчивост на хербицидите Glyphosate и Bialaphos; е) Ориз (Bialaphos).

Получени трансгенни растения от:

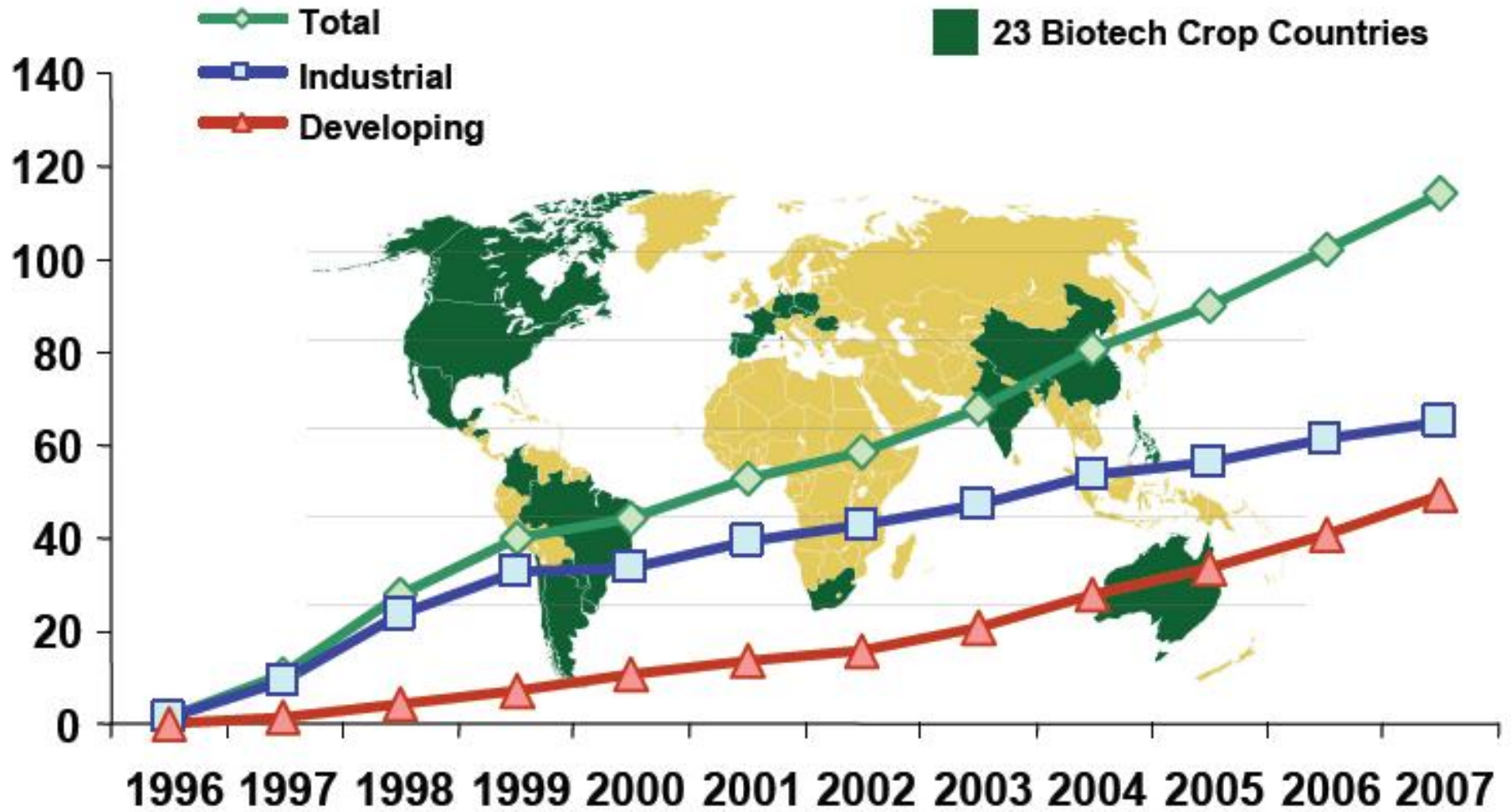
- Соя
- Царевича
- Памук
- Рапица
- Цвекло
- Домати
- Тютюн



- Карамфили
- Картофи
- Лен
- Папая
- Цикория
- Ориз
- Пъпеши

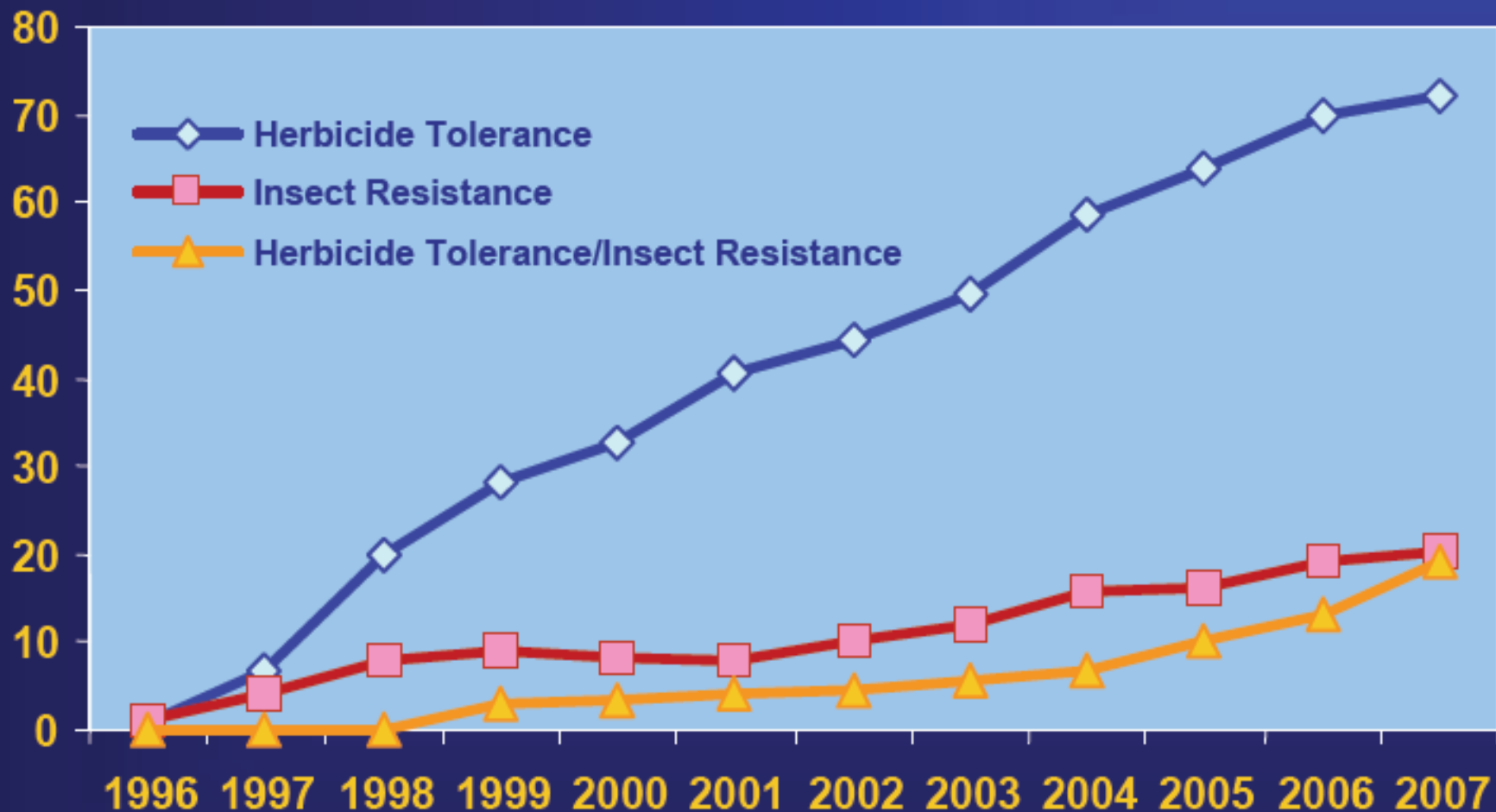
GLOBAL AREA OF BIOTECH CROPS

Million Hectares (1996 to 2007)



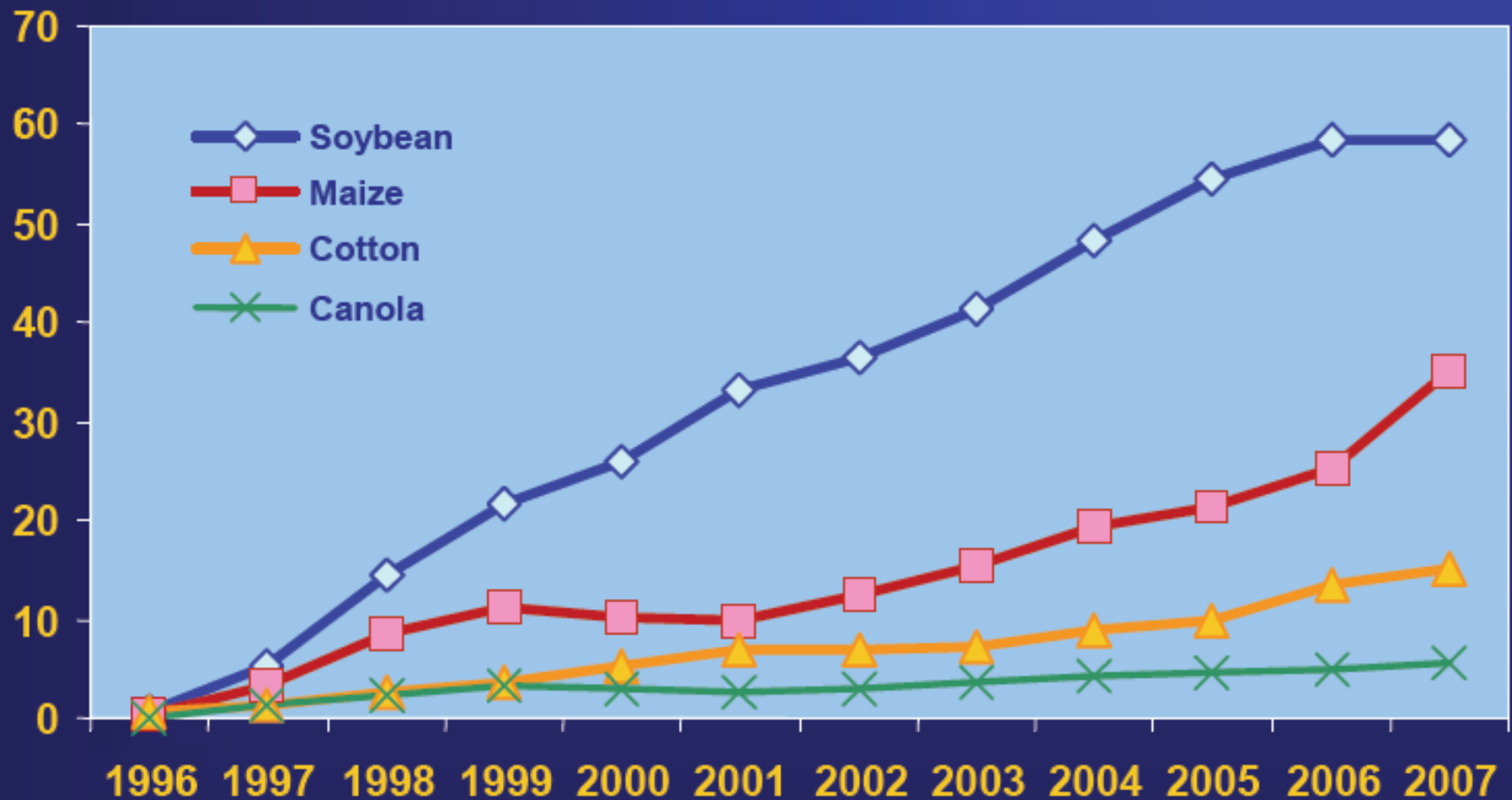
Increase of 12%, 12.3 million hectares (30 million acres), between 2006 and 2007.

Global Area of Biotech Crops, 1996 to 2007: By Trait (Million Hectares)



Source: Clive James, 2008

Global Area of Biotech Crops, 1996 to 2007: By Crop (Million Hectares)



Source: Clive James, 2008

Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2007

Major Biotech Crops

Soybean



- 64% (28.6 million hectares) of total global soybean planted is biotech
- US\$5.4B increase in farmer income
- Countries growing biotech soybean: Argentina, Brazil, Canada, Chile, Mexico, Paraguay, and South Africa



Maize

- 34% (35.2 million hectares) of total global maize planted is biotech
- US\$1.4B increase in farmer income in 2006
- Countries growing biotech maize: Argentina, Canada, Chile, Czech Republic, France, Germany, Honduras, Philippines, Poland, Portugal, Romania, Slovakia, South Africa, Spain, Uruguay, and the USA

Cotton

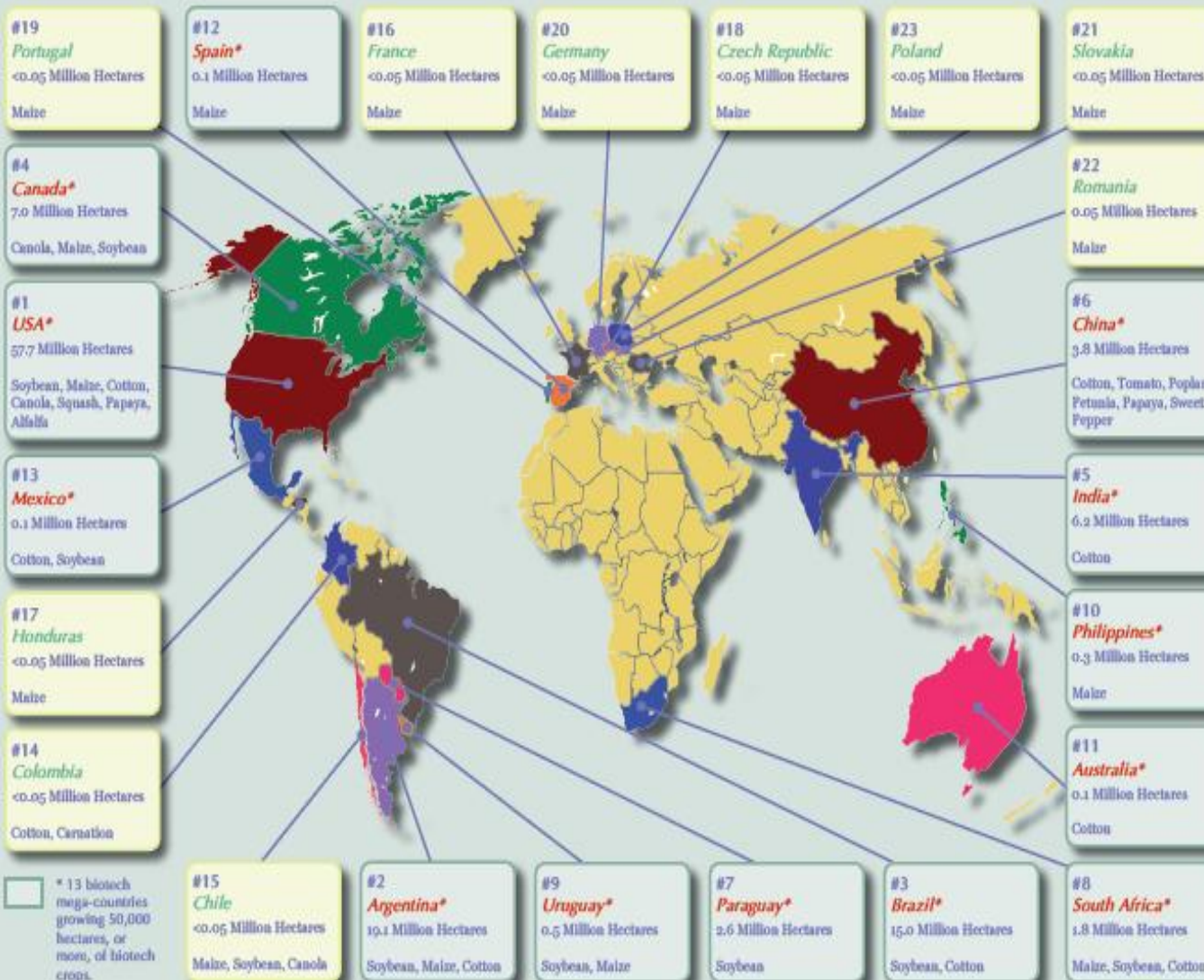


- 45% (15 million hectares) of total global cotton planted is biotech
- US\$2.2B increase in farmer income in 2006
- Countries growing biotech cotton: Argentina, Australia, Brazil, China, Colombia, Mexico, South Africa, and the USA



Canola

- 20% (5 million hectares) of total global canola planted is biotech
- US\$0.2B increase in farmer income in 2006
- Countries growing biotech canola: Canada, Chile, and the USA



Global Area of Biotech Crops in 2007: by Country (Million Hectares)

Country	Area	Biotech crops
USA*	57.7	Soybean, maize, cotton, canola, squash, papaya, alfalfa
Argentina*	19.1	Soybean, maize, cotton
Brazil*	15.0	Soybean, cotton
Canada*	7.0	Canola, maize, soybean
India*	6.2	Cotton
China*	3.8	Cotton, tomato, poplar, petunia, papaya, sweet pepper
Paraguay*	2.6	Soybean
South Africa*	1.8	Maize, soybean, cotton
Uruguay*	0.5	Soybean, maize
Philippines*	0.3	Maize
Australia*	0.1	Cotton
Spain*	0.1	Maize
Mexico*	0.1	Cotton, soybean
Colombia	<0.05	Cotton, carnation
Chile	<0.05	Maize, soybean, canola
France	<0.05	Maize
Honduras	<0.05	Maize
Czech Rep.	<0.05	Maize
Portugal	<0.05	Maize
Germany	<0.05	Maize
Slovakia	<0.05	Maize
Romania	<0.05	Maize
Poland	<0.05	Maize

* 13 biotech mega-countries growing 50,000 hectares, or more, of biotech crops.
Developing countries in italics

Biotech Crop Traits:

- Herbicide tolerance (HT)
- Insect resistance (IR)
- Virus resistance (VR)
- Delayed ripening (DR)
- Stacked traits (IR/HT, IR/IR, IR/HT/HT)



For more information about ISAAA, contact the Center nearest you:

ISAAA AmeriCenter
417 Bradford Hall
Cornell University
Ithaca NY 14853, USA
Email: americenter@isaaa.org

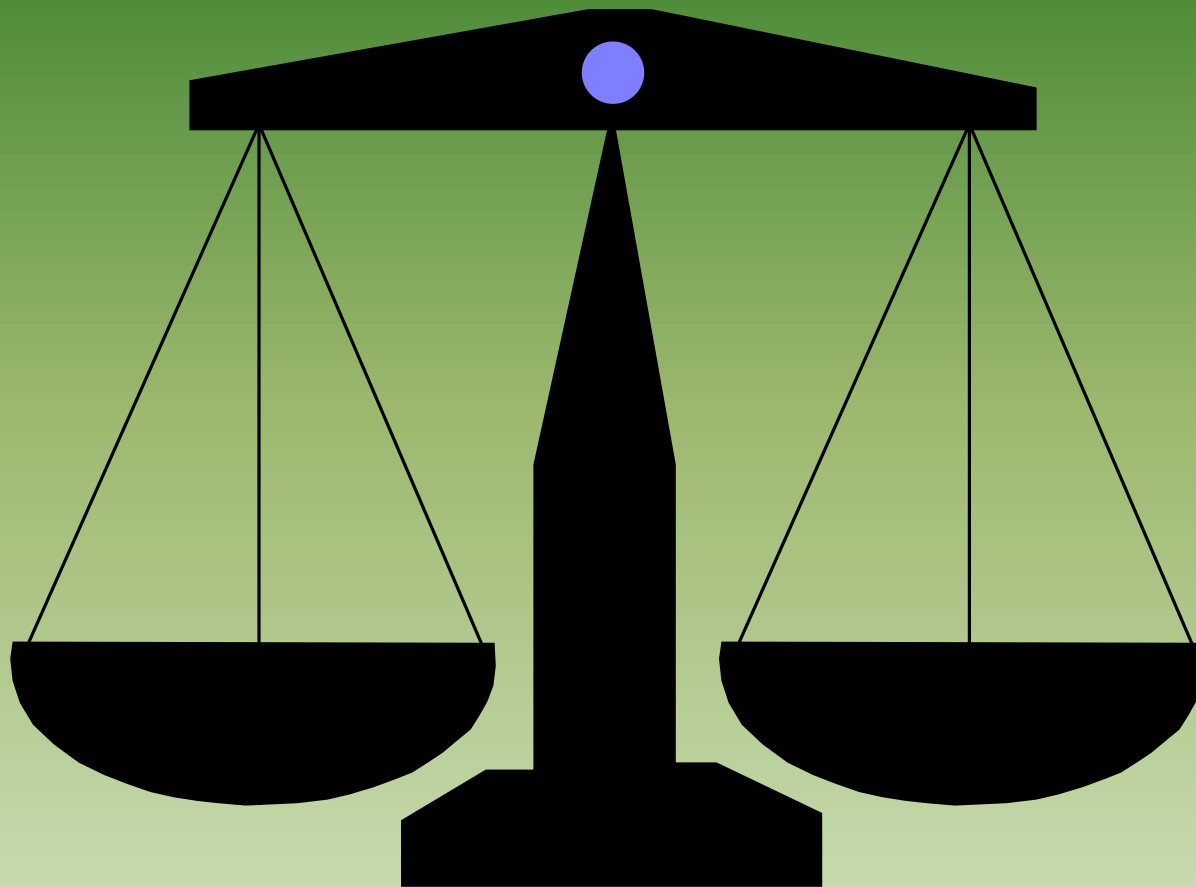
ISAAA AfriCenter
c/o CIP
PO 25171
Nairobi, Kenya
Email: africenter@isaaa.org

ISAAA SEAsiaCenter
c/o IRRI, DAPO Box 7777
Metro Manila, Philippines
Email: seasia@isaaa.org

Or visit: <http://www.isaaa.org>

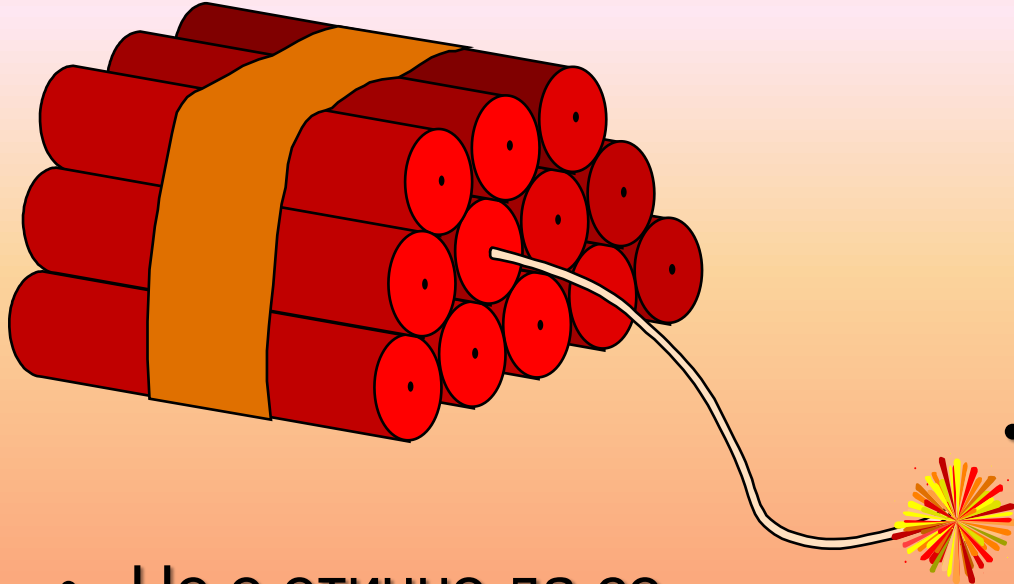
Source: Clive James, 2007.
Global Status of
Commercialized Biotech/GM
Crops: 2007. ISAAA Briefs
No. 37-2007.

Възможности и проблеми



Модифициране на бъдещи признаци и методологии

- Устойчивост на стрес, индуциран от околната среда.
- Ваксини от храна.
- Качество след прибирането.
- Биоразграждащи се пластмаси.
- Устойчивост на гъбни заболявания.
- Насочване към хлоропластите.
- Органоспецифична експресия.
- Селекция без участие на антибиотици.
- По-голяма стабилност на трансферираните гени.
- Повече видове растения.



‘Проблеми’ с ГМ храни

- Не е етично да се месиш на природата.
- ‘Замърсяване’ на не ГМ растения.
- Липса на публичен избор.
- Алергични реакции.
- Генериране на ‘супер-плевели’
- Прехвърляне на гени за устойчивост на антибиотици.
- Реактивиране на латентни вируси.
- Токсини.
- Намаляване на генетичната разнообразие.
- Отравяне / Намаляване на полезните насекоми.

Приложение на трансгенните растения

- Растения, устойчиви на хербициди.
- Растения, устойчиви на неприятели.
- Ваксини от растения (едва сега започват да се използват).

Растения, устойчиви на хербициди

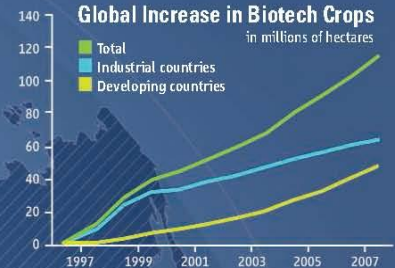
- Устойчивост на хербицида “Round-up” (glyphosate), който инхибира EPSP синтетазата.
- Генно инженерните растения съдържат бактериална EPSP синтетаза, която не се инхибира от glyphosate.
- Предимства: по-добра борба с плевелите, по-малко оран.
- При употреба на: соя (дикотиледонни), царевица, ориз, пшеница.

GM Crops A World View

In 2007, farmers grew more than 114 million hectares of GM crops—mainly soy, maize, cotton, and canola. Here we show who grows them, who imports them, and who avoids them, and highlight the top eight countries that together produce more than 99% of the world's biotech plants.

Compiled by: Elsa Youngsteadt and Erik Stokstad
Design: Kelly Krause
Illustration: Preston Huey

Global Increase in Biotech Crops



Science

Explore the interactive online map » www.sciencemag.org/plantgenomes/map.html

Top Producers

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

7

8

1

2

3

4

5

6

3. ДНК-РЕКОМБИНАНТНИ ТЕХНОЛОГИИ ПРИ БОЗАЙНИЦИ

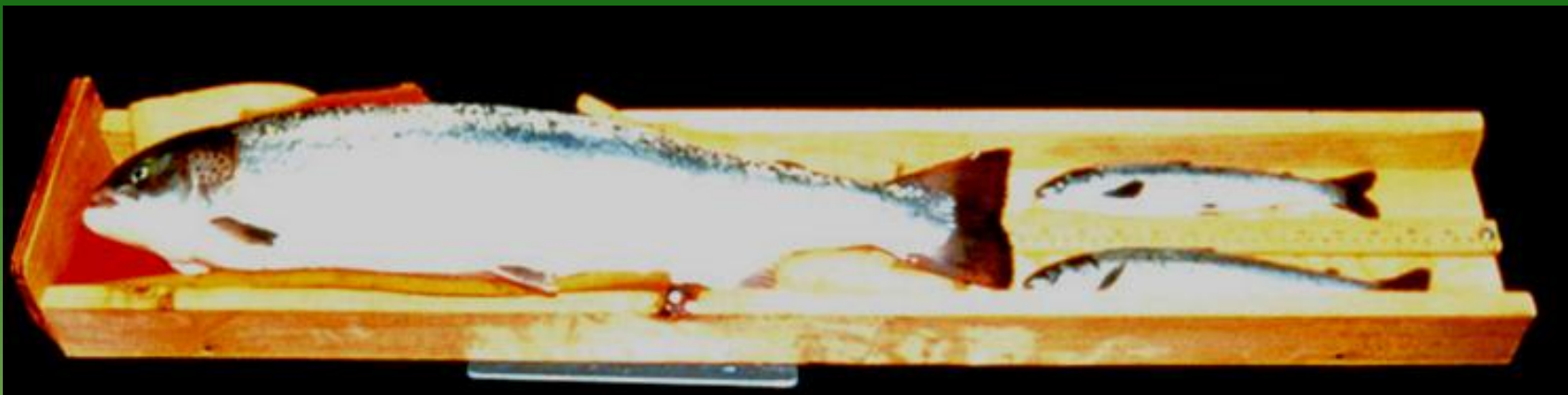
Плъховете са едни от първите животни върху които се прилага трансгеноза



Нормален черен плъх.



Генно модифициран
“гол плъх”.



Четиринадесет месечна генно модифицирана (вляво) и обикновена съомга (вдясно).



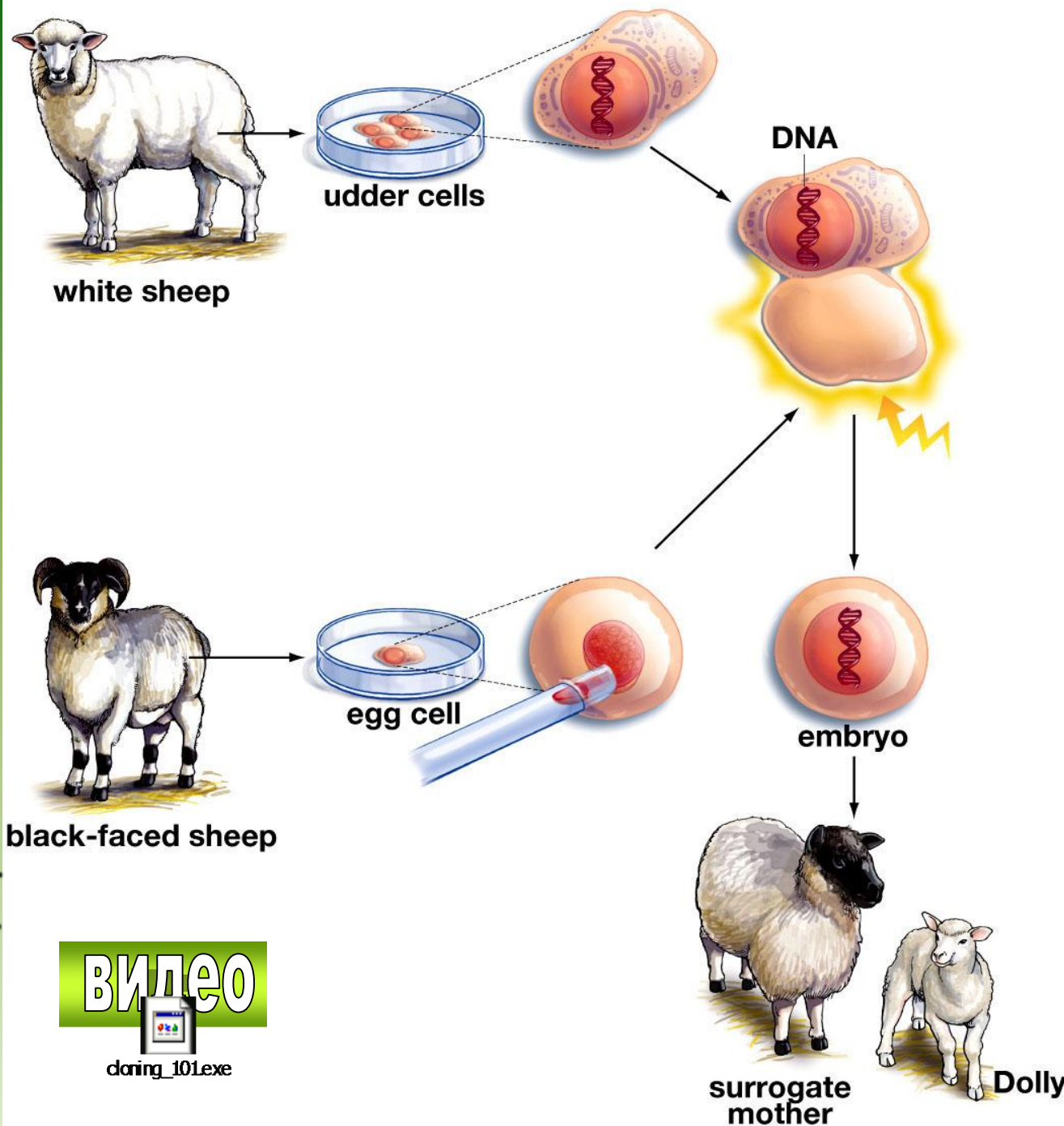
Декоративни рибки с ген за фосфорициране



Биотехнология на репродуктивното клониране

Дори при наличие на най-добри условия, съвременната технология за клониране е много неэффективна.

Клонирането показва, че всички клетки в организма съдържат неговата основна генетична информация.



Клониране на животни



Доли и нейната майка

(A)



(B)



Възрастната Доли (A) с полученото от нея поколение Бони (B).



Трансгенни клонове на Доли

ПЪРВОТО КЛОНИРАНО КОТЕ (индигово копие)



(Science (2002) 295:1443)



Всъщност, индиговото копие не е абсолютно еднакво с изходното животно, от което е получено.



Разпадане по окраска на генно модифицирани прасенца



**Пет генетично идентични
клонирани прасенца**

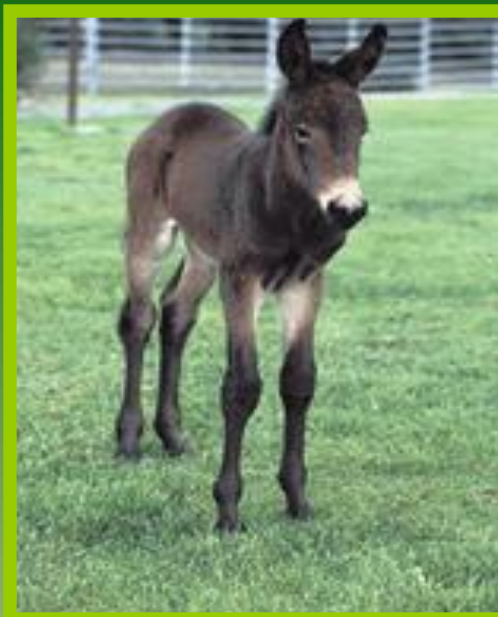
Етичен проблем ли е клонирането на животни?



Първият клониран кон и неговата майка са генетични близнаци



Както и при други важни въпроси, отговорът е зад целите на науката.



Клонирано е муле и това е
първият получен клонинг.



Клонингът с неговата
майка







Запазена чрез клонирание?

Някои вярват на тези технологии, докато други считат за някаква реклама.

Прилага се при близкородствени видове, например домашната коза е използвана като донор на яйцеклетка (сурогатна майка).



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

Следваща стъпка в клонирането?



Много жалко!

Постигнатото в човешкото клониране не се възприема много добре от научната общност.

© Original Artist
Reproduction rights obtainable from
www.CartoonStock.com



"Nobody's perfect, but we're
working on it."

© Original Artist
Reproduction rights obtainable from
www.CartoonStock.com



"Darling, we were made for each other."

УСТОЙЧИВОСТ НА АНТИБИОТИЦИ

Някои бактерии стават устойчиви на антибиотици благодарение на техните плазмиди. Чрез тях те могат да трансформират други бактерии и да им предадат устойчивост на:

- а. Ампицилин;
- б. Канамицин;
- в. Хлорамфеникол;
- г. В-галактозидаза;
- е. Гентамицин.



Harnessing the силата на рекомбинантните ДНК технологии – производство на човешки инсулин от бактерии

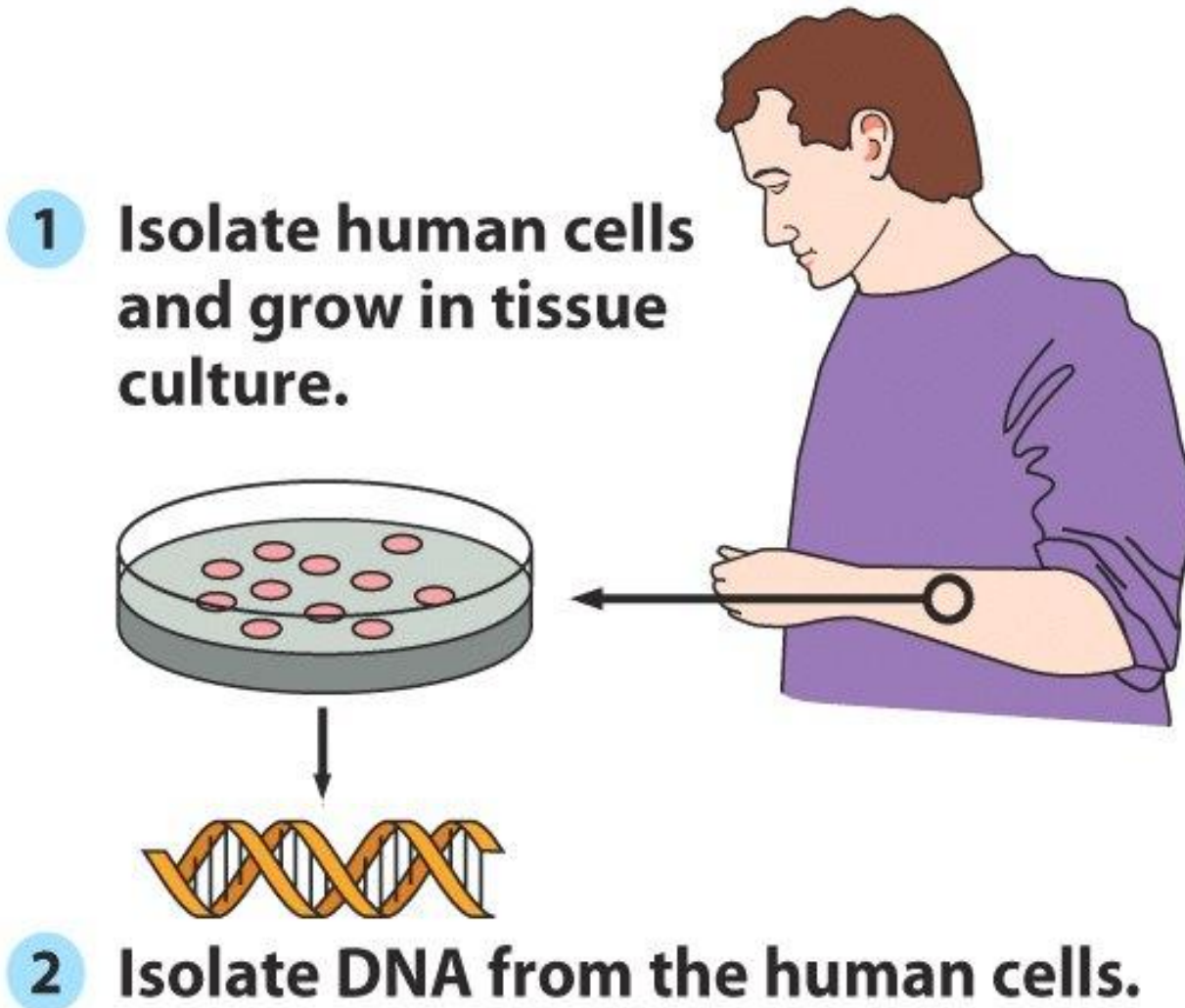


Figure 4-3 (1) Biology Today, 3/e (© 2004 Garland Science)

ПРОИЗВОДСТВО НА ЧОВЕШКИ ИНСУЛИН ОТ БАКТЕРИИ

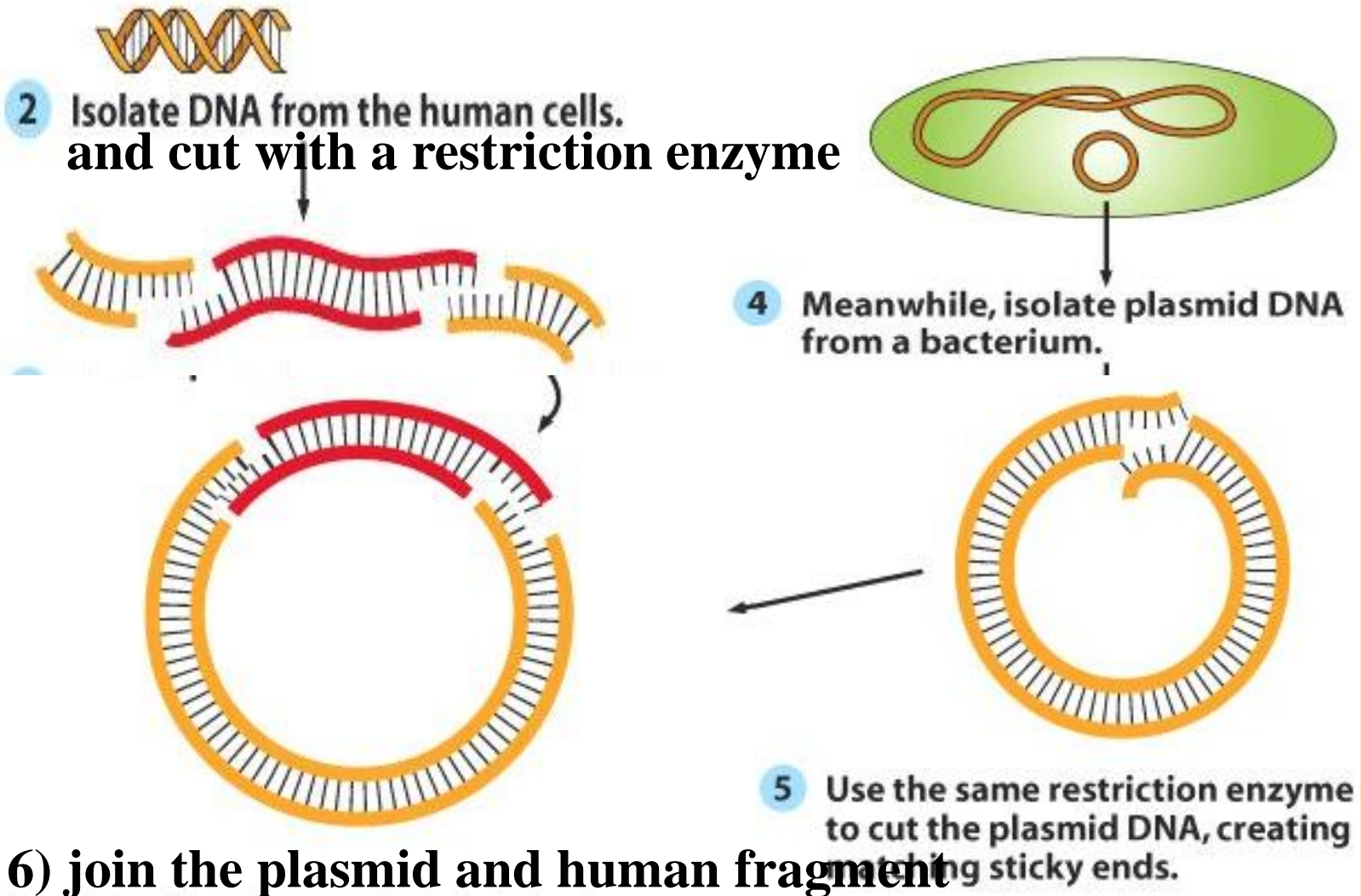
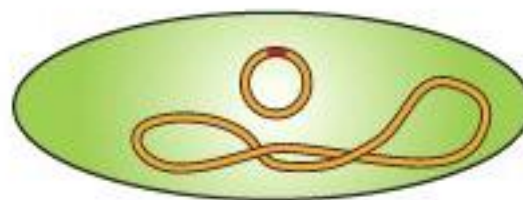
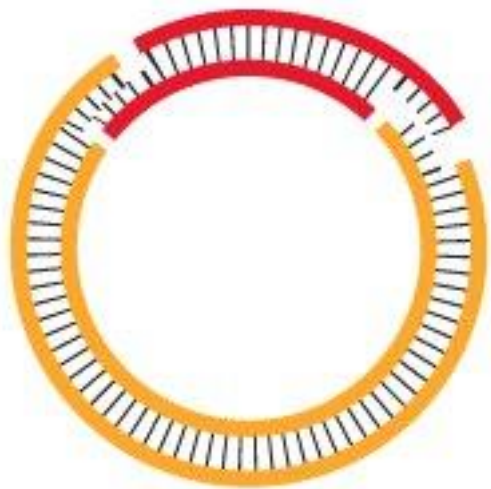


Figure 4-3 (2) Biology Today, 3/e (© 2004 Garland Science)

ПРОИЗВОДСТВО НА ЧОВЕШКИ ИНСУЛИН

(продължение)



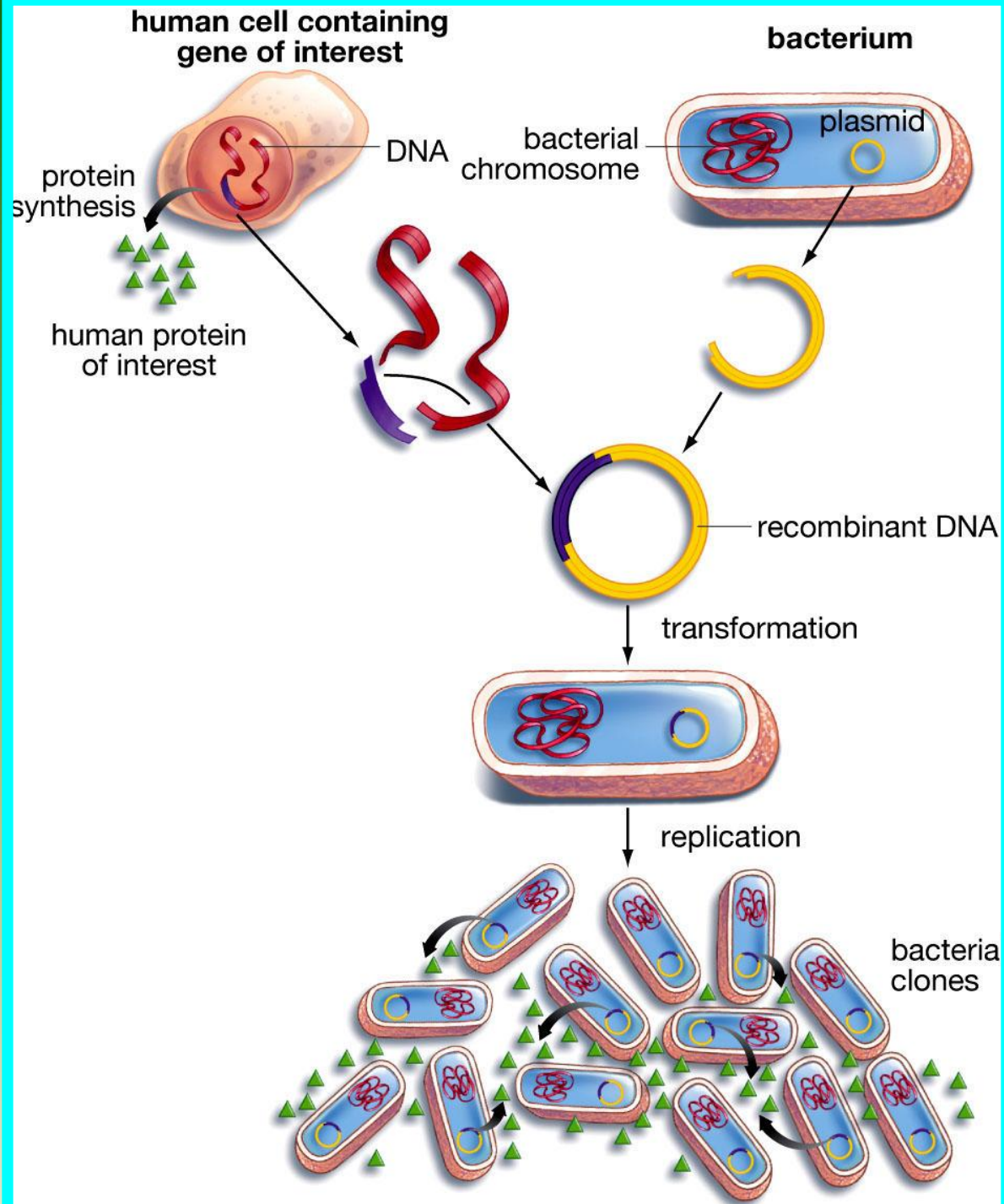
Mix the recombinant plasmid with bacteria.

- 7 Allow new bacteria to incorporate the recombinant plasmid into the bacterial cell, then screen bacteria to find the ones that have incorporated the human gene for insulin.

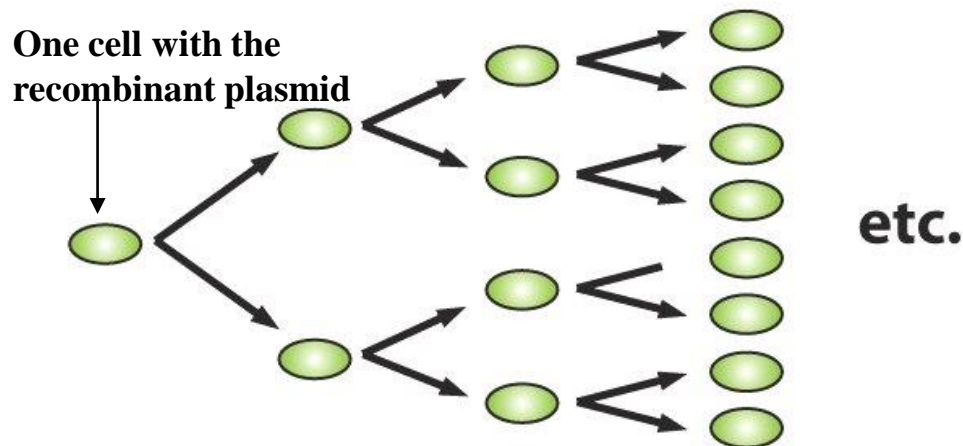
Скринирането на бактериалните клетки за откриване на тези, които съдържат ген за синтез на човешки инсулин е много трудоемко.

Получаване на
човешки инсулин
от бактерии.

Клониране на гени



ПРОИЗВОДСТВО НА ЧОВЕШКИ ИНСУЛИН ОТ БАКТЕРИИ



8 Grow trillions of new insulin-producing bacteria.

Figure 4-3 (4) Biology Today, 3/e (© 2004 Garland Science)



Използване на ферментатор за развитие на рекомбинантните бактерии.

Клониране на гена.

Рекомбинантният плазмид се реплицира в клетката.

Клетката с много рекомбинантни плазмиди произвежда трилиони подобни клетки, съдържащи рекомбинантни плазмиди, в които се съдържа генът контролиращ синтеза на човешкия инсулин.

ПРОИЗВОДСТВО НА ЧОВЕШКИ ИНСУЛИН ОТ БАКТЕРИИ



Последната стъпка е да се съберат бактериите, да се разградят техните клетки и да се пречисти инсулиновия протеин, който се получава като резултат от експресията на гена, контролиращ неговата синтеза.

Растителни ваксини

- За първи път са използвани от Charlie Arntzen.
- Евтина система за производство на ваксини.
- Растението произвежда протеин/и или ДНК от човешки патогени и имунитетът се индуцира чрез храната – картофи, банани и др.
- Получени са за различни човешки и животински болести, включително срещу морбили, холера, шап, хепатит В и С.
- Четири растителни ваксини са преминали успешно през първата фаза на клинично проучване.



C.J. Arntzen et al. (2005) Plant-derived Vaccines and Antibodies: Potential and Limitations. *Vaccine* 23, 1753-1756.

Pharming

Под “pharming” на английски се разбира производство на фармацевтични продукти в генно модифицирани животни, които съдържат чужди гени за производство на лекарства.



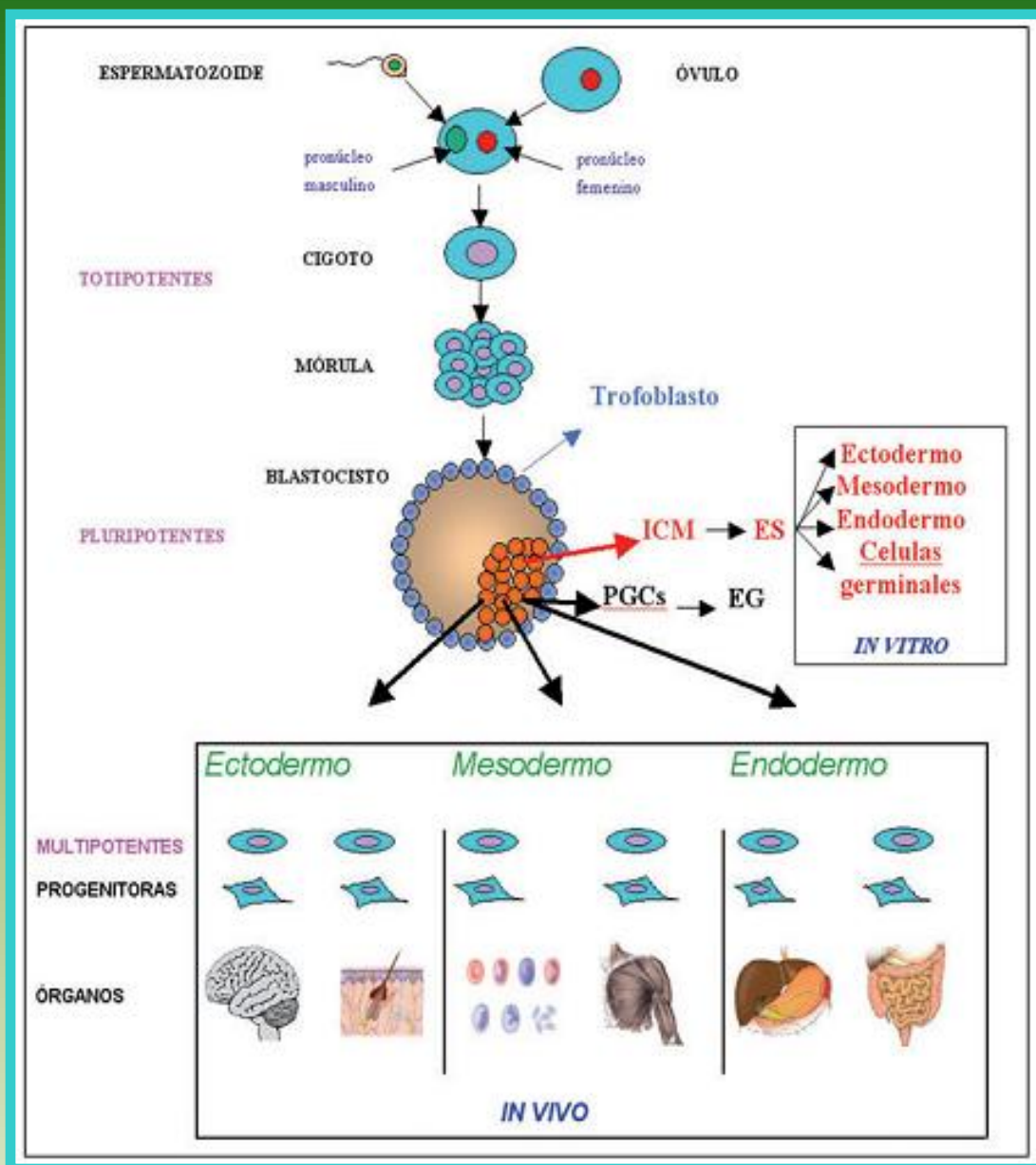
Тези кози съдържат човешки ген за синтез на протеин, спомагащ за разтваряне на съсиреци. Той се произвежда в тяхното мляко.

Получаване на стволови клетки

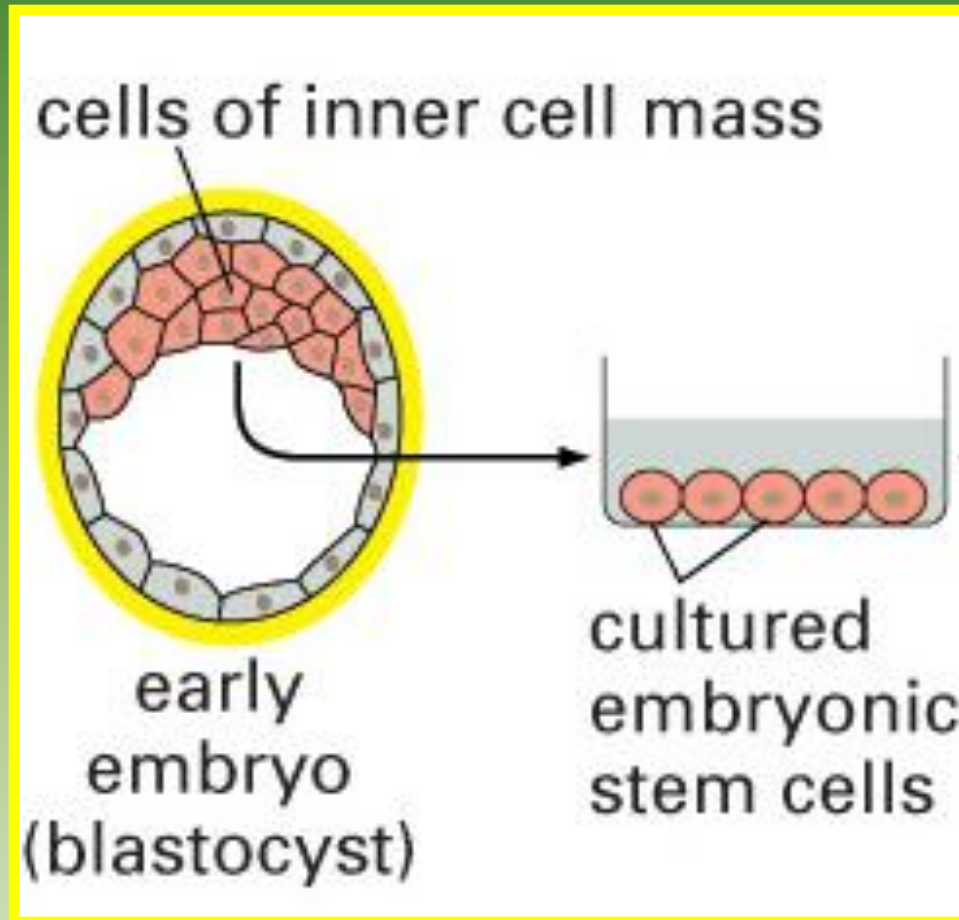
ВИДЕО

stemcells.exe

Стволовата клетка е недиференцирана, деляща се клетка, от която се получава подобна на нея дъщерна, която се превръща в специализирана.



Стволовите клетки са открити във възрастни организми.
За терапия се използват ембрионални стволови клетки



Вътрешната клетъчна маса е източник за получаване на ембрионални стволови клетки

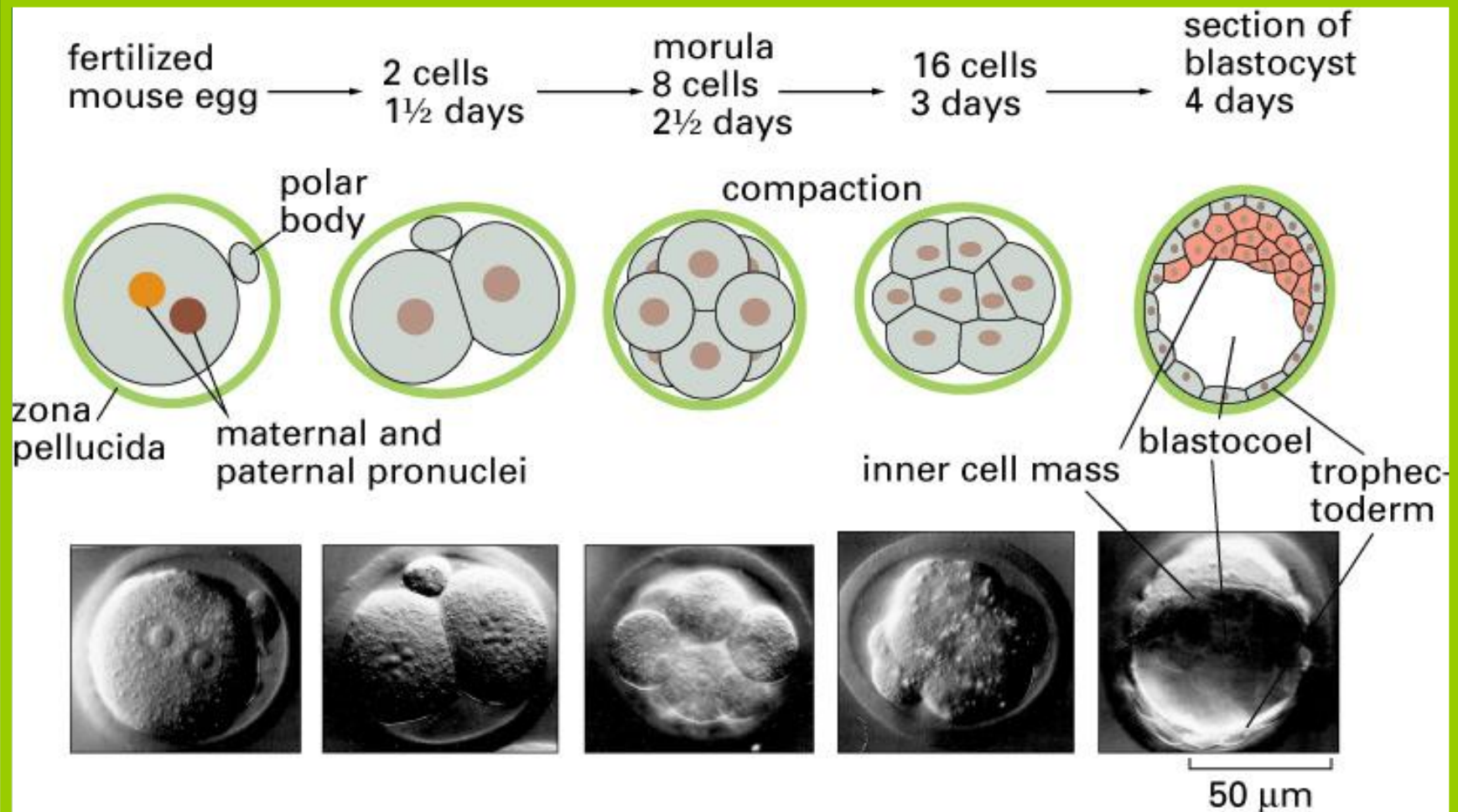


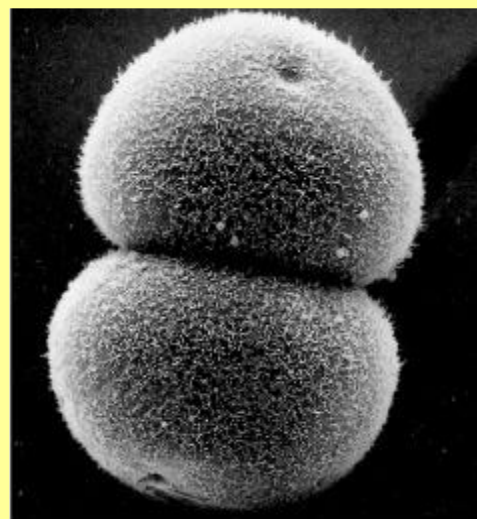
Figure 21–83. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Ембриото се разгражда на индивидуални клетки, които по-късно служат за отбор на стволови клетки.

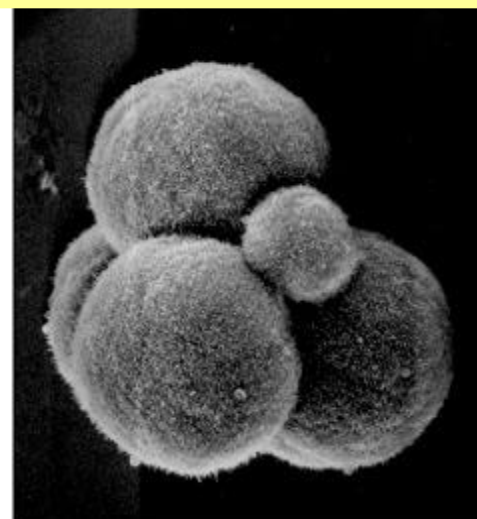
Някои етични проблеми

Тези клетки човешки
ли са?

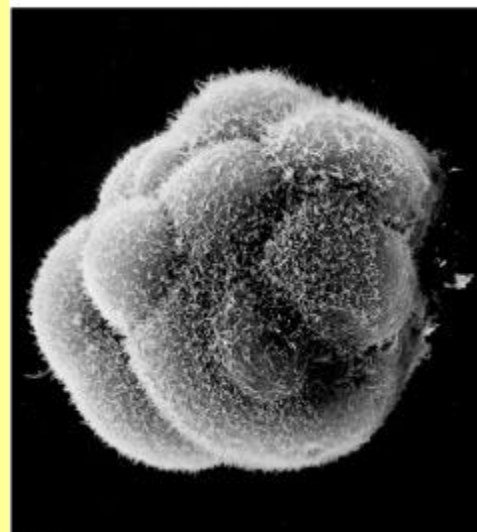
Етичен проблем ли е
отглеждането на
ембрионални стволови
клетки от “изключителни”
ембриони, получени по
време на *in vitro*
оплождане?



(A)



(B)



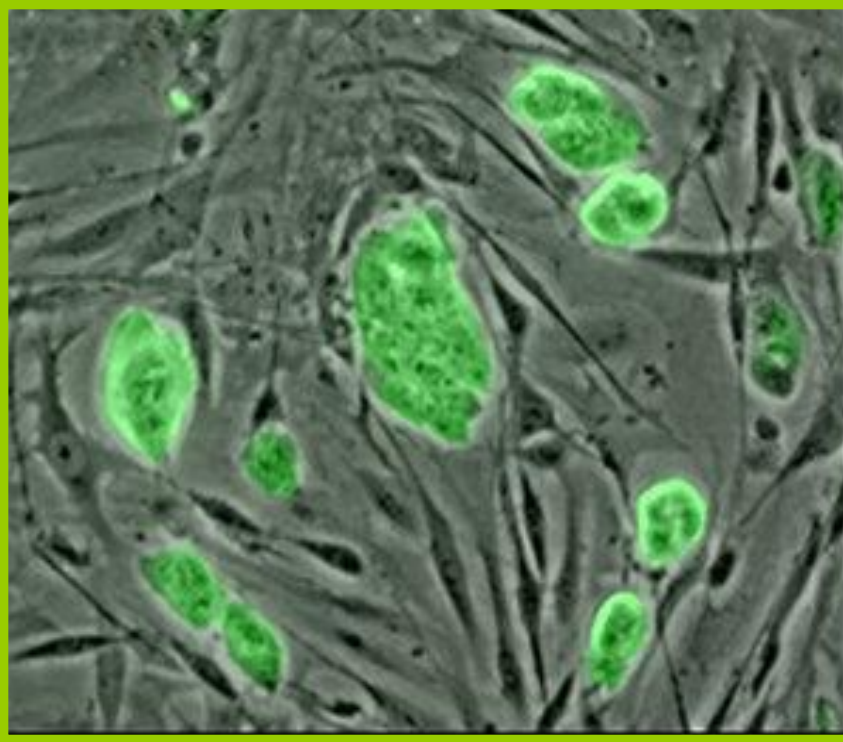
(C)



(D)

10 μm

Допълнителни дилеми – терапевтично клониране за получаване на ембрионални стволови клетки

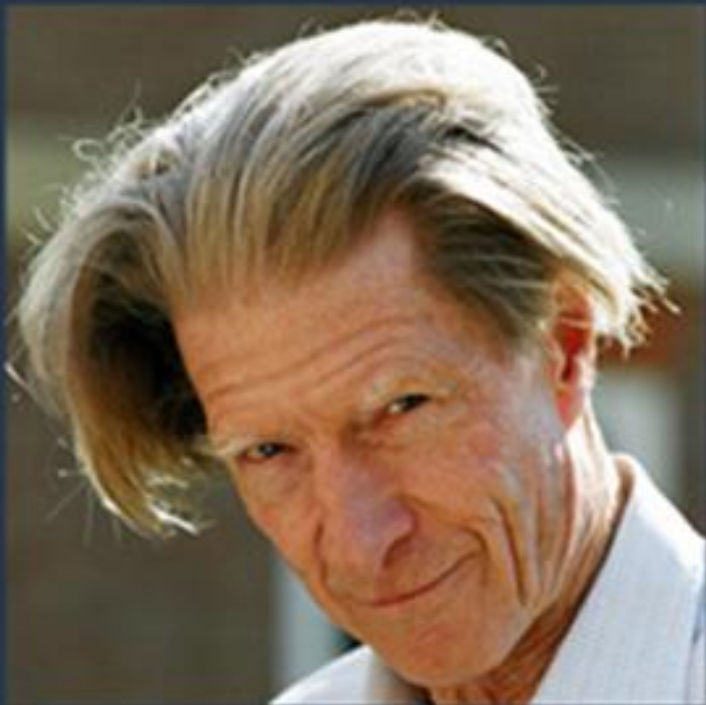


Култивиране на ембрионални
стволови клетки от мишка.

Клетките от различни организми, ако те не са близнаци, при преливане в организма, могат да се отхвърлят.

Ако е така как могат да се получат ембрионални стволови клетки, които да не се отхвърлят от организма?

Могат да се клонират ембрионални клетки от всеки организъм, които да се отглеждат в изкуствени условия.



Джон Гърдрън



Шиния Яманака

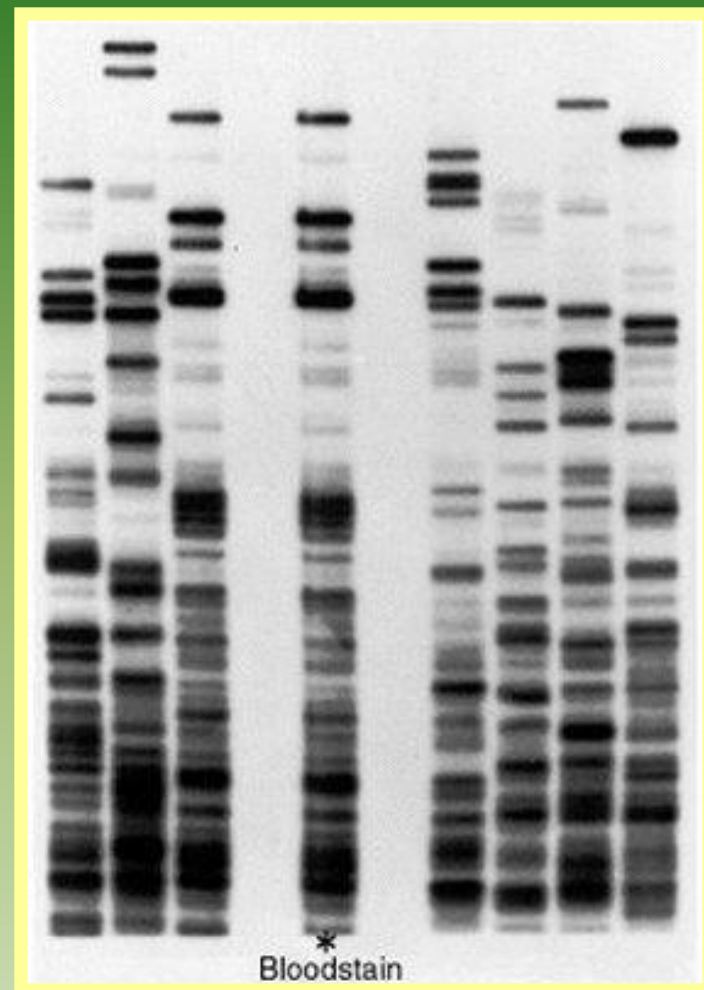
Нобеловата награда за медицина за тази година бе връчена на японския учен Шиния Яманака (професор в Университета на Киото) и американският професор Джон Гърдрън (Университета в Кеймбридж). Те получиха тази награда за откритието си, че зрелите клетки могат да бъдат препрограмирани в плурипотентни. Същността на това явление и основаните на него технологии в днешни дни са в основата на всички клинични експерименти със стволови клетки.

ДНК ОТПЕЧАТЪЦИ

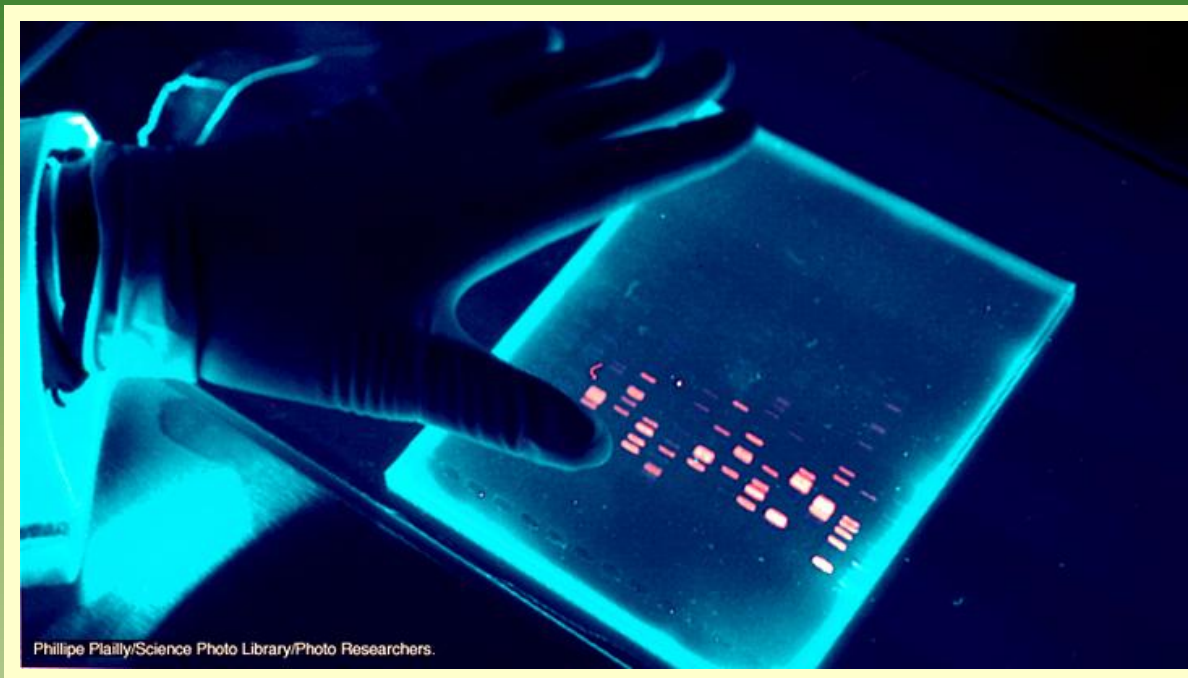
Ако ДНК се нареже с рестрикционен ензим, който разпознава сайтове с различни последователности, ще се получат ДНК фрагменти с различна дължина.

ДНК отпечатьците се разчитат по получените ДНК фрагменти от различни сайтове в генома.

Колкото повече сайтове се анализират и колкото повече варира дължината на фрагментите от дадения сайт, толкова по-правилно ще се разчетат ДНК отпечатьците.



ИЗПОЛЗВАНЕ НА ДНК ОТПЕЧАТЪЦИТЕ



Отделните индивиди носят различни алели.

При ДНК отпечатьците повечето алели се различават по броя на повтарящите се в тях ДНК последователности.

РАБОТА С ДНК-ТЕХНОЛОГИИ И ЗАКОНЪТ



DNA turns life of 'monster' upside-down

Suspected 'Parkway Rapist' can't get a lawyer to take his case

Lawyers wanted: Suspected 'Parkway Rapist' can't get an attorney to take his case

By Matthew D. LaPlante
The Salt Lake Tribune

He was a two-bit robber with an upcoming parole and an intimidating gaze. A criminal among criminals, but not a monster.

Not yet.

Like other inmates, he looked down on sex offenders - especially those who victimized children. He liked to brag about the day he attacked a prisoner who wasn't willing to "accept his place" at the bottom of the criminal hierarchy known as "the sinner's ladder."

Family members on the outside kept his "book," or prison bankroll, loaded. Inmates with cash can buy better clothing, better shoes, novels and even televisions for their cells.



Rudy Michael Romero, the "parkway rapist" during his parole hearing Friday December 3, 2004 at the Utah State Prison in Draper. (Matt Laplante/The Salt Lake Tribune)

Raymond Santana

Year of Incident: 1999

Jurisdiction: New York

Charge: Rape, Assault

Conviction: Rape, Assault

Sentence: 5-10 years

Year of Conviction: 1999

Year of Exoneration: 2002

Sentence Served: 8 years

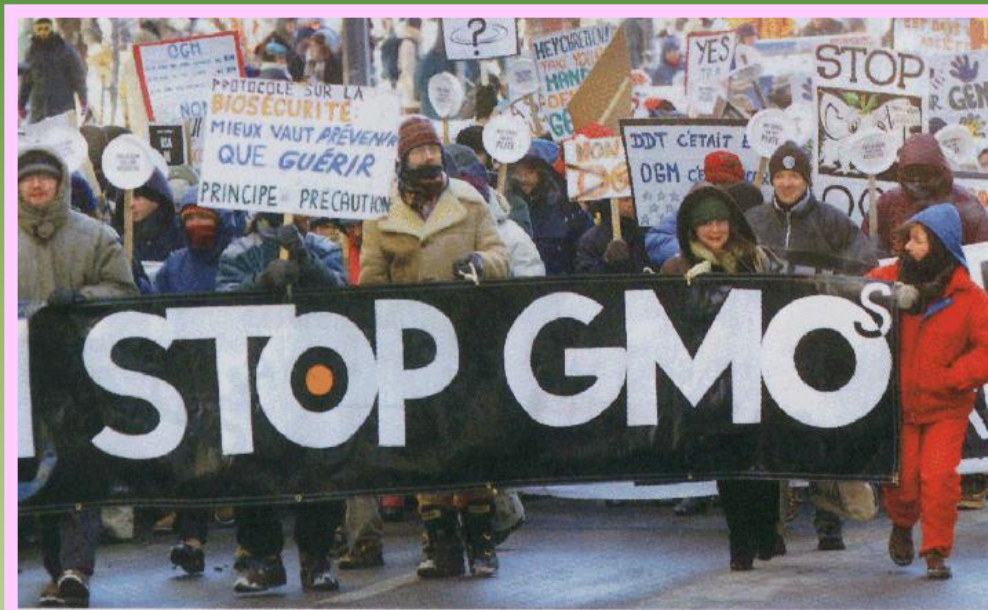
Real perpetrator found? Yes

Compensation? Not yet

Някои приложения на
ДНК-отпечатьците в
съдебната система.

SLT 3/8/05

Светът е разделен относно мнението за създаване на ГМО, особено извън САЩ



Протестиращи през 2000 год. в Монреал по време на Световната търговска среща на върха.



Европейски настроения

Настоящата загриженост на учените се фокусира върху ефекта от ГМО по отношение на околната среда и здравеопазването

BBC NEWS

You are in: **Sci/Tech**
Thursday, 20 May, 1999, 12:47 GMT 13:47 UK

[Front Page](#)
[World](#)
[UK](#)
[UK Politics](#)
[Business](#)
[Sci/Tech](#)
[Health](#)
[Education](#)
[Entertainment](#)
[Talking Point](#)
[In Depth](#)
[AudioVideo](#)

GM pollen 'can kill butterflies'



The monarch caterpillars feed on the milkweed plant

By Environment Correspondent Alex Kirby

Pollen from one of the most successful genetically modified (GM) crops in the US can kill the larvae of monarch butterflies, scientists say.

► **The BBC's Robert Pigott**
A setback for the biotechnology industry
real 28k

► **John Losey**
We need to make judgements based on good

Този въпрос все още е дискуссионен.

СВЕТОВЕН БЕСТСЕЛЪР

Семената на измамата

ИЗОБЛИЧАВАНЕ
НА КОРПОРАТИВНИТЕ
И ПРАВИТЕЛСТВЕНИТЕ
ЛЪЖИ ЗА
БЕЗОПАСНОСТТА
НА ХРАНИТЕ С **ГМО**

Мислите ли, че знаете нещо за ГМО?

Джефри М. Смит

С предговор от Майкъл Мийчър

ORGON

Опасенията, свързани с култивирането/консумирането на ГМ растения (или ГМО)

1. Те могат да бъдат токсични или да предизвикват алергии.
2. Те могат да се разпространят в природата и да попречат на развитието на други растения.
3. Те могат да влияят отрицателно на инсектите или други организми, които се развиват по растенията.
4. Те могат да се кръстосат с близки до тях диви растения и да прехвърлят гени в дивата популация.



Генно модифицирани мишки

ЛИТЕРАТУРА за оценка на регулирането и еко-риска по отношение на отглеждането на генно модифицирани култури

- Nap *et al.* (2003) *Plant Journal* 33, 1-18
– Focuses on current status and regulations
- Conner *et al.* (2003) *Plant Journal* 33, 19-46
– Focuses on ecological risk assessment
- GM Crops: A World View. *Science*, April 2008.