

2.1

α. Η παραγωγή κλώνων μορίων DNA μπορεί να γίνει είτε με τη δημιουργία βιβλιοθηκών που απαιτούν την παρουσία ζωντανών οργανισμών (*in vivo*), όπως βακτήρια, είτε *in vitro* μέσω της τεχνικής PCR. Μια βιβλιοθήκη περιλαμβάνει συνήθως το σύνολο των βακτηριακών κλώνων, που είτε περιέχουν το συνολικό γονιδίωμα ενός οργανισμού δότη (γονιδιωματική), είτε περιέχουν αντίγραφα των ώριμων mRNA (σε μορφή DNA) όλων των γονιδίων που εκφράζονται σε έναν κυτταρικό τύπο (cDNA βιβλιοθήκη).

β. Η κλωνοποίηση ζωικών οργανισμών είναι πολύ χρήσιμη για τον πολλαπλασιασμό διαγονιδιακών ζώων που παράγουν φαρμακευτικές πρωτεΐνες. Με κλωνοποίηση μπορούν να παραχθούν πολλά πανομοιότυπα ζώα και έτσι ακόμη μεγαλύτερες ποσότητες του φαρμάκου. Η κλωνοποίηση μπορεί, επίσης, να συνεισφέρει στην προστασία από την εξαφάνιση διάφορων ζώων του πλανήτη μας. Στις καταψύξεις πολλών ζωολογικών κήπων υπάρχουν κατεψυγμένα ωάρια και σπερματοζωάρια ή έμβρυα ζώων που κινδυνεύουν να εξαφανιστούν. Πυρήνες από αυτά τα κύτταρα μπορούν να μεταφερθούν σε απύρηνα ωκύτταρα του είδους που μας ενδιαφέρει και στη συνέχεια να κυοφορηθούν στο ίδιο ή σε συγγενικό είδος ζώου.

2.2

α. Η αντίστροφη μεταγραφάση απομονώθηκε από την κατηγορία των ρετροϊών. Η παραπάνω ανακάλυψη θεωρήθηκε κρίσιμη για την επιστήμη της Βιολογίας, αφού έως τότε το Κεντρικό Δόγμα της Βιολογίας (ΚΔΜΒ) υποστήριζε την μονόδρομη πορεία από το DNA προς το RNA και από το RNA προς τις πρωτεΐνες. Επομένως, μετά την ανακάλυψη της αντίστροφης μεταγραφάσης, για πρώτη φορά οι επιστήμονες διαπίστωσαν ότι και το μόριο RNA μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως καλούπι για την σύνθεση συμπληρωματικού κλώνου DNA, με την παρουσία του κατάλληλου ενζύμου που καταλύει την σχετική αντίδραση. Έτσι, το ΚΔΜΒ συμπληρώθηκε με την παραπάνω αντίδραση που ονομάστηκε αντίστροφη μεταγραφάση. Η αντίστροφη μεταγραφάση χρησιμοποιείται σήμερα στην βιοτεχνολογία στα πλαίσια της κατασκευής cDNA βιβλιοθηκών. Σε αρχικό στάδιο της διαδικασίας αυτής και μετά την απομόνωση των ώριμων μορίων mRNA από το κυτταρόπλασμα των κατάλληλων κυττάρων, το ένζυμο αυτό, συνθέτει, με

κατεύθυνση 5'→3', τις συμπληρωματικές αλυσίδες cDNA ώστε αυτά στη συνέχεια να μετατραπούν σε δίκλινα DNA μόρια.

β. Στην προσπάθεια της πρόληψης ορισμένων ασθενειών, η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA συνέβαλε στην ανάπτυξη μιας νέας γενιάς εμβολίων. Σε αυτά περιλαμβάνονται τα εμβόλια από ζωντανούς γενετικά τροποποιημένους ιούς. Στην περίπτωση αυτών των εμβολίων, γονίδια από επικίνδυνο ιό ή άλλο μικροοργανισμό ενσωματώνονται σε άλλο ιό, που είναι αβλαβής για τον άνθρωπο, όπως ο ιός της δαμαλίτιδας. Ο γενετικά τροποποιημένος ιός που προκύπτει εξακολουθεί να είναι αβλαβής, αλλά επειδή παράγει την αντιγονική πρωτεΐνη του επικίνδυνου ιού ή του μικροοργανισμού, εισάγεται στο σώμα και προκαλεί έντονη ανοσολογική αντίδραση. Όσον αφορά στη θεραπεία πολύ σοβαρών γενετικών ασθενειών, με γονιδιακή θεραπεία, η βιοτεχνολογία χρησιμοποιεί διάφορους ιούς ως μεταφορείς φυσιολογικών γονιδίων σε ασθενείς, που λόγω γενετικών μεταλλάξεων δεν παράγουν τα προϊόντα των γονιδίων αυτών. Στην περίπτωση αυτή, ο ιός που επιλέγεται, αρχικά τροποποιείται ώστε να γίνει αβλαβής και στη συνέχεια σε αυτόν εισάγεται το επιθυμητό γονίδιο με τις τεχνολογίες του ανασυνδυασμένου DNA. Σε οποιοδήποτε τύπο γονιδιακής θεραπείας και αν επιλεγεί (είτε *ex vivo* θεραπεία, όπως στην περίπτωση ασθενειών του αιμοποιητικού συστήματος, είτε *in vivo* θεραπεία), ο γενετικά τροποποιημένος ιός προσβάλλει τα κύτταρα-στόχους του ασθενούς εισάγοντας σε αυτά το επιθυμητό γονίδιο, το οποίο στη συνέχεια ενσωματώνεται στο γονιδίωμα τους, οπότε παράγεται το φυσιολογικό προϊόν (εναλλακτικά: στον τομέα της θεραπείας, η χρήση ιών για την ενεργοποίηση κυττάρων προκειμένου να απομονωθούν από αυτά ώριμα mRNA ιντερφερονών στα πλαίσια της βιοτεχνολογικής παραγωγής τους σε ευρεία κλίμακα).