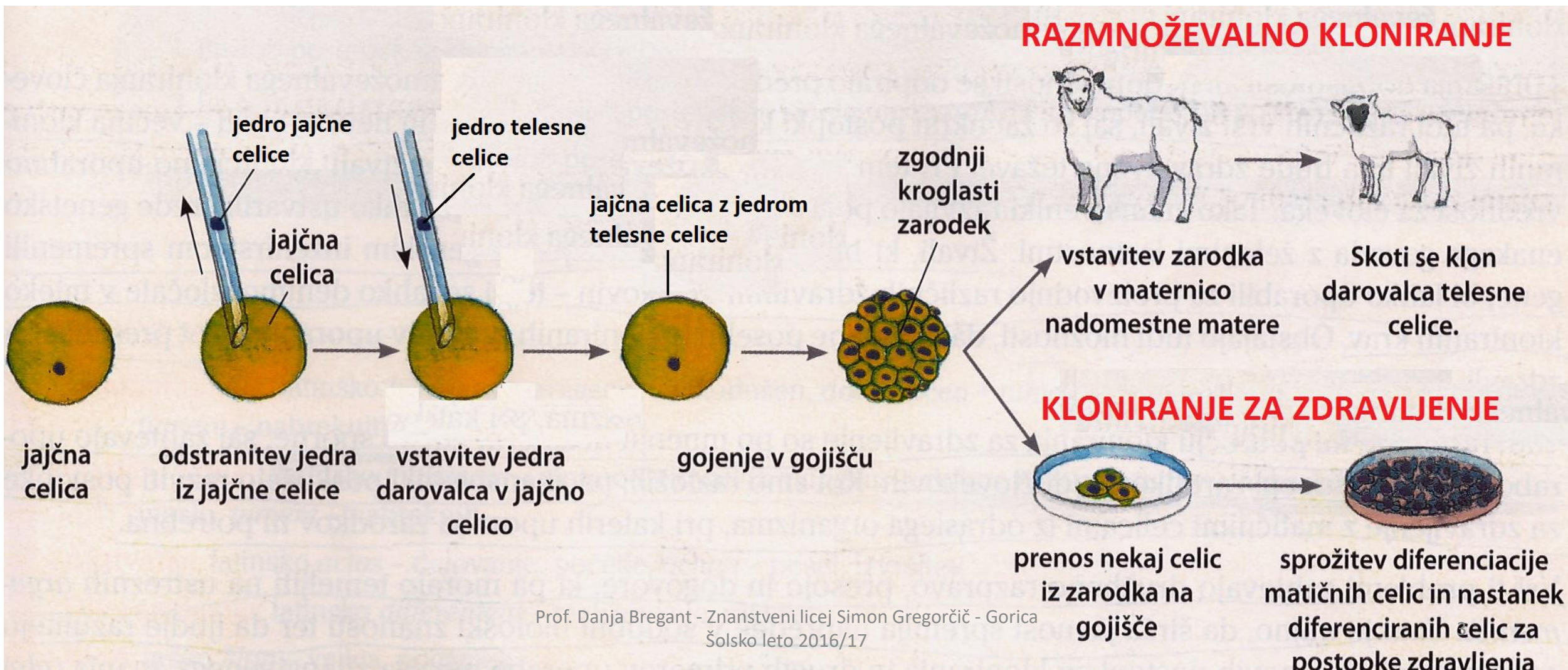


Kloniranje

Kloniranje

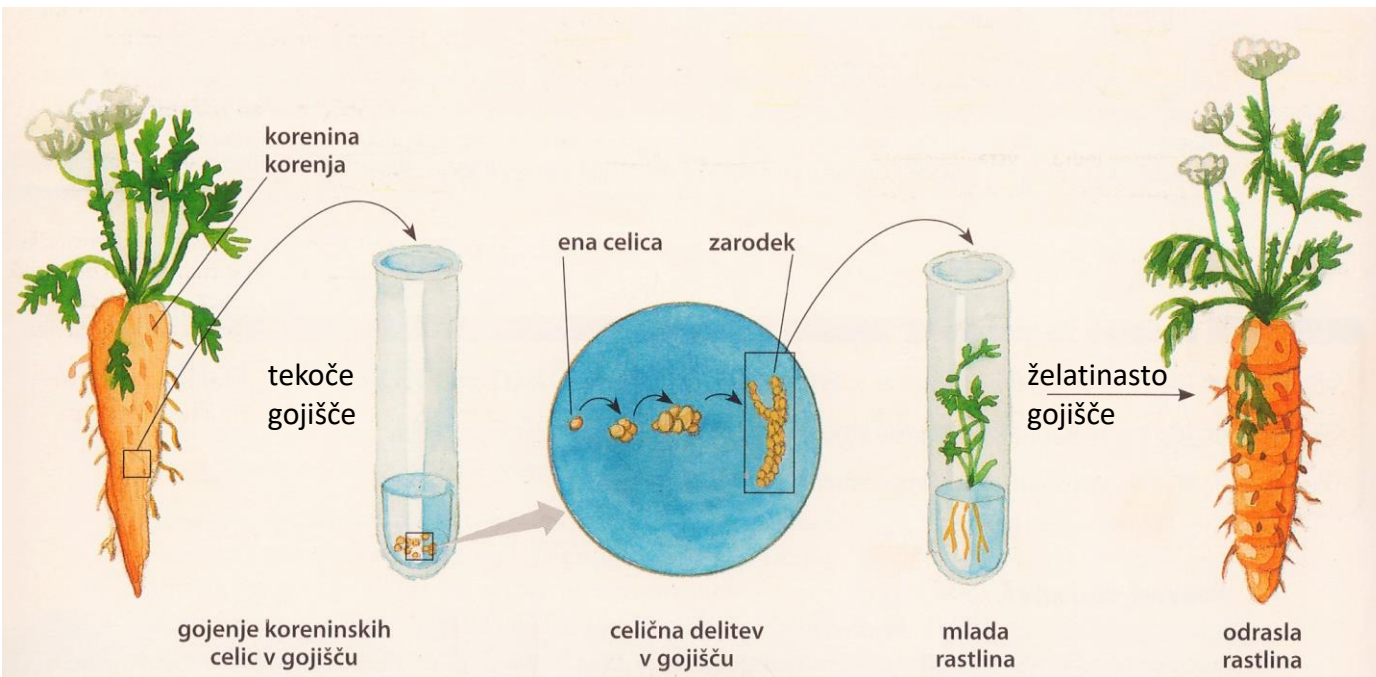
- Kloniranje je postopek **nespolnega razmnoževanja**, pri katerem je **nov nastala celica** oz. osebek (**klon**) **genetsko identičen izvorni celici** oz. osebk.
- Glede na namen razlikujemo:
 - **reproduktivno kloniranje**, kadar želimo narediti nov živ individuum, ki bo **enak tistemu**, ki ga kloniramo;
 - **terapevtsko kloniranje**, kadar se **razvoj** kloniranega zarodka ustavi že v epruveti in se njegove **celice uporabijo za proizvodnjo novih celic, tkiv in organov.**
 - S tem postopkom se lahko pridobijo zarodne matične celice, iz katerih je možno izdelovati tkiva in organe **brez nevarnosti zavrnitve organizma**, saj gre za **celice z enakim genskim zapisom**.

Razmnoževalno kloniranje in kloniranje za zdravljenje



Kloniranje rastlin

- Leta 1958 je britanski biolog Frederick C. Steward dokazal, da **ima vsaka rastlinska celica, čeprav diferencirana, sposobnost, da se razvije v celo rastlino**, ki vsebuje različna tkiva.
- **Diferenciacija celic torej ni nepovraten proces!**



Diferencirane celice je mogoče gojiti v epruveti na tak način, da postanejo zopet nediferencirane, da se v njih začnejo izražati geni za celično delitev in za postopno diferenciacijo novih nastalih celic.

Kloniranje živali s presaditvijo jedra

- **Prvo uspešno** izvedbo **kloniranja sesalcev** je izpeljal škotski embriolog Ian Wilmut leta **1997**, ko se je skotila **ovca Dolly**.
- Ovca Dolly je imela **tri matere**:
 - **prvo**, ki ji je darovala **jedro iz celice vimena**,
 - **drugo**, ki ji je darovala **jajčno celico** (kateri so zamenjali jedro)
 - in **tretjo**, ki jo je **donosila** in **skotila**.
- **Dolly** je bila **klon prve matere**, tiste, ki ji je darovala jedro (DNA) in je bila torej **njej genetsko enaka**.

Kloniranje ovce Dolly

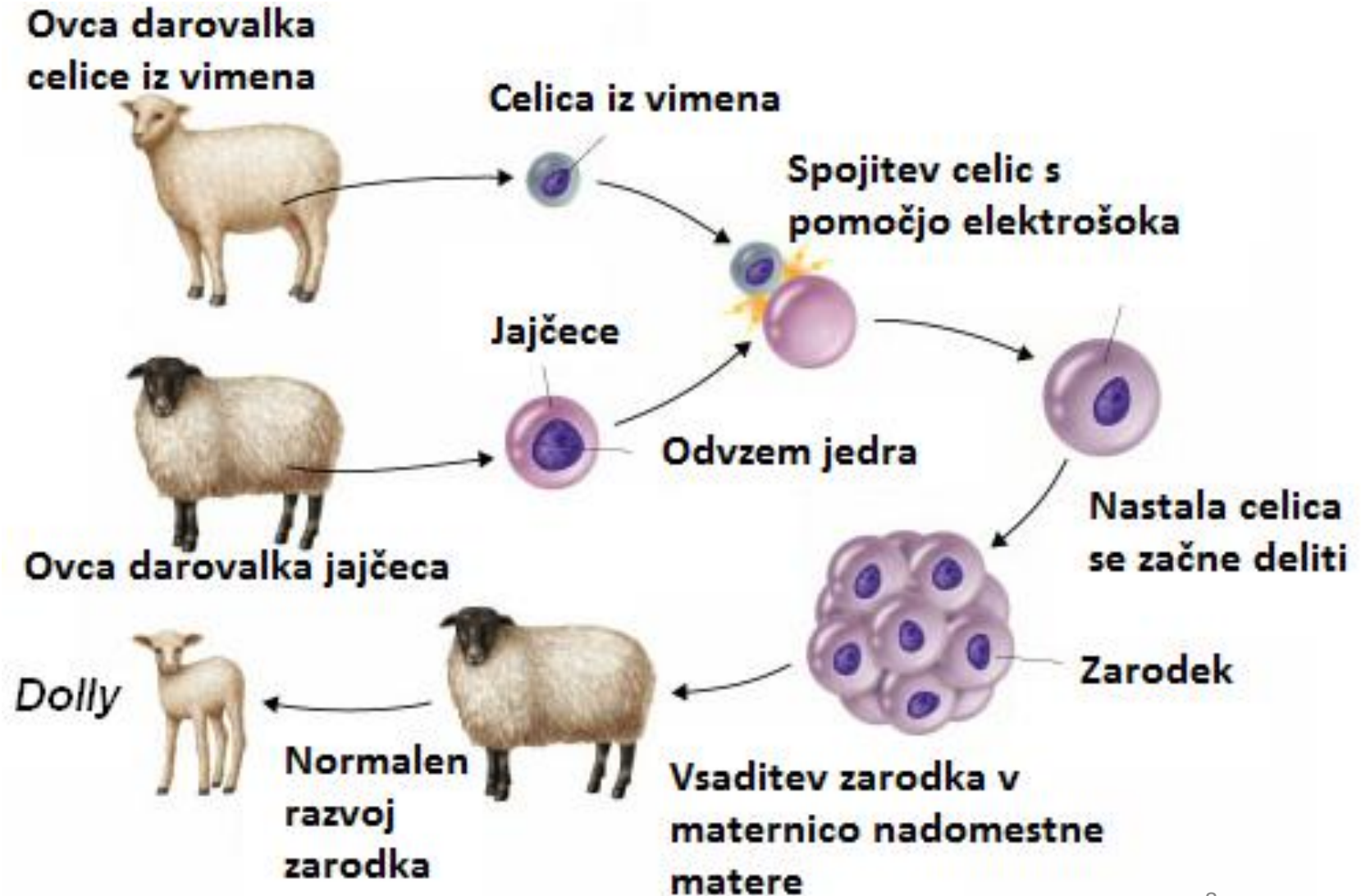
Kloniranje ovce Dolly je potekalo na sledeči način:

- Iz vimena odrasle ovce so odvzeli nekaj celic.
- Te celice so nekaj časa gojili v epruveti, tako da so postale spet nediferencirane, se pravi, da v bistvu niso bile več celice vimena, temveč bolj podobne celicam, kakršne najdemo v zarodku.
- Iz celic v gojišču so osamili eno, ji odvzeli jedro in ga z električnimi impulzi spojili z neoplojeno jajčno celico druge ovce, kateri so pred tem odvzeli jedro.
 - Jajčno celico so uporabili zato, ker vsebuje veliko beljakovin in mRNA, ki so potrebne za razvoj zarodka v prvih nekaj dneh po oploditvi. V začetku razvoja se namreč celice v zarodku podvajajo tako hitro, da ni časa za prepisovanje in prevajanje DNA; celica potrebuje ves čas za podvojevanje DNA.

Kloniranje ovce Dolly

- **Jajčno celico** s presajenim jedrom **so spodbudili, da se je začela razvijati**, kot če bi se spojila s semenčico, le da je ta celica vsebovala DNA druge odrasle ovce.
- Nastal je **zarodek**, ki so ga **vsadili v tretjo ovco**, ki jo je donosila in skotila.
- **Dolly je živela 6 let** in je bila **prvi kloniran sesalec**.
- 14. 2. 2003 so ovco Dolly uspavali, ker je bolehal zaradi **artritisa** in **pljučnega obolenja**, ki sta **značilni za precej starejše živali**.
- To kaže, da so bile njene **celice „starejše“** od celic njenih vrstnikov.
- Njeno telo je odslej v *Museum of Scotland* v Edinburghu, Velika Britanija.

Ovca Dolly



(Ne)uspešnost metode za kloniranje živali

- Uspešnost te metode je zelo nizka.
- Škotski znanstveniki so namreč 300 jajčnim celicam zamenjali jedro in spodbudili razvoj zarodka, vendar se je le eden od njih razvil do rojstva ovce Dolly.
- Ian Wilmut opozarja, da je tveganje za razvojne nepravilnosti izredno veliko in da je tudi verjetnost uspešnega rojstva klona prav neznatna.
- V kromosomih kloniranih osebkov namreč nastajajo določene spremembe, ki porušijo normalne vzorce uravnavanja izražanja genov.
- Z isto metodo so klonirali še druge vrste sesalcev: kravo, mulo, opico, miš, svinjo, zajca, mačko in kozo.

Kloniranje živali ima potencialno uporabno vrednost za človeka

- Obstajajo tudi možnosti, da bi **organe kloniranih prašičev** uporabljali kot **presadke za zdravljenje človeka**.
- Pri tem se seveda odpirajo **etična vprašanja** o **dopustnosti ali nedopustnosti** kloniranja živali za zadovoljevanje človekovih potreb.

Kloniranje človeka ?

- Kloniranje človeka ni več znanstvena fantastika, temveč nekaj, kar je morda že bilo uresničeno oziroma naj bi bilo po napovedi nekaterih uresničeno v bližnji prihodnosti.
- Biologi so danes prepričani, da kloniranje človeka še ni izvedljivo.
- Raziskovalci podjetja *Advanced Cell Technology* iz Massachusettsa v ZDA so javnost obvestili, da so kot prvi na svetu klonirali človeški zarodek.
- Kaj so zares naredili?
- V jajčne celice darovalk so vključili jedro ene od celic, ki obdajajo in prehranjujejo jajčno celico med zorenjem.
- Na 71 jajčnih celic jim je uspelo dobiti 1 klon.
- V celoti so naredili le 3 klone, od katerih sta 2 preživela in se delila do 4 oziroma 6 celic, potem pa se je rast ustavila.

Etični pogledi na kloniranje človeka

- Reprodktivno kloniranje človeka postavlja **etična vprašanja** o bistvu novih človeških bitij in njihovih sorodstvenih vezi, o vlogi ženske in moškega.
- Pri **reproduktivnem kloniranju** se namreč **rušijo sorodstvena razmerja** med osebami:
 - **kdo je oče, mati, sin, hči?**
- Teoretično bi bilo **možno razmnoževanje brez moških**.
- Prav tako se **popredmeti vloga ženske** in **novega človeškega bitja**, ki je le **kopija določene odrasle osebe z določenimi lastnostmi**.
- Pri človeškem kloniranju se nam vsiljuje tudi logika **industrijske proizvodnje človeških bitij**.
 - **Tisti, ki bi imel kapital in moč, bi odločal o tem, katere osebe so vredne, da se jih klonira...**

Prepoved reproduktivnega kloniranja človeka

- Dne 12. decembra 2001 je Generalna skupščina Združenih narodov oblikovala **Mednarodno konvencijo o prepovedi reproduktivnega kloniranja človeških bitij**.
- V **Veliki Britaniji, Avstraliji** in **nekaterih državah ZDA** je dovoljeno **terapevtsko kloniranje človeka**.

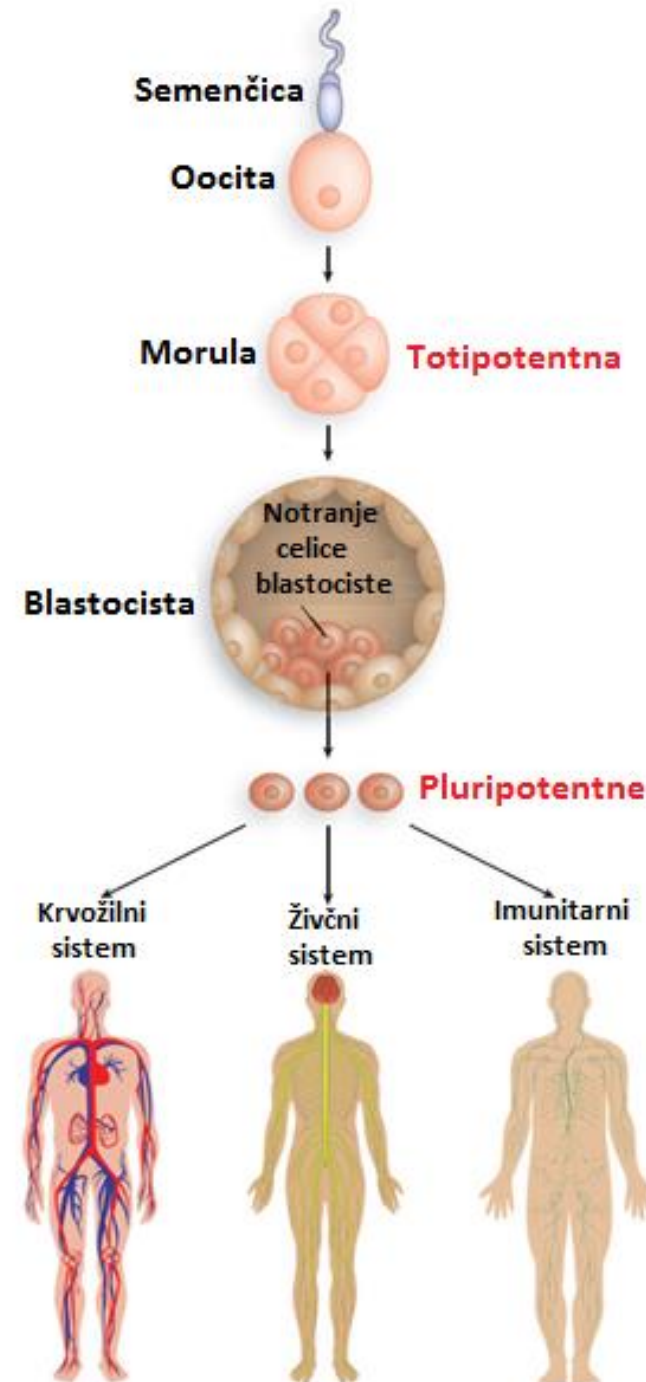
Terapevtsko kloniranje

- Drug postopek kloniranja je kloniranje za zdravljenje, pri katerem znanstveniki **iz zarodka vzamejo posamezne celice**.
 - Te celice v zgodnjem zarodku so **zarodne matične celice** – **nediferencirane** celice, ki **se hitro delijo** in so se sposobne diferencirati v vse celične tipe (**totipotentne**).

Vrste matičnih celic

- **Totipotentne matične celice** se lahko diferencirajo v vse celice organizma, tudi ekstraembrionalne (hranilne, oporne) (**zigota, celice morule**).
- **Pluripotentne matične celice** se lahko diferencirajo v skupino različnih tkiv (celice treh kličnih plasti v zarodku, **endoderm, mesoderm in ektoderm**).
 - Iz celic **endoderma** se razvijejo pljuča, jetra, prebavila in hormonalne žleze.
 - Iz celic **mesoderma** se razvijejo žile, mišice, izločala, ogrodje in spolni organi.
 - Iz celic **ektoderma** se razvijejo krovna tkiva, sluznice, živčevje in čutila.
- **Multipotentne matične celice** se lahko razvijejo v različne vrste celic, ki pripadajo istemu tkivu (npr. **ematopoietske celice** v kostnem mozgu ali **celice v popkovnični krvi**, ki se lahko razvijejo v različne vrste krvnih celic, **mezenhimalne celice** v kostnem mozgu, ki se lahko razvijejo v različne vrste vezivnega tkiva (kondrocite, osteoblaste, adipocite).
- **Unipotentne matične celice** se lahko razvijejo v eno samo vrsto celic (npr. **hepatociti, celice zarodne plasti povrhnjice, spermatogoniji, oogoniji** (prasemenčice in prajajčeca)).

Terapevtsko kloniranje z zarodnimi matičnimi celicami



Možni postopki kloniranja za zdravljenje z zarodnimi matičnimi celicami

- Bolniku bi odvzeli nekaj somatskih celic.
- Te celice bi nekaj časa gojili v epruveti, tako da bi postale spet nediferencirane.
- Iz somatske celice bi odvzeli jedro in ga prenesli v jajčno celico ali zarodno matično celico, ki ohranja sposobnost celičnih delitev.
- Tako spremenjeno matično celico bi dali v gojišče in jo namnožili s celično delitvijo.
- Nato bi dodali v gojišče določene sporočilne molekule (aktivatorje), ki vplivajo na izražanje genov, da bi sprožili diferenciacijo v določen celični tip.
- Diferencirane celice, ki bi jih vzgojili, bi bile vse genetsko enake bolnikovim somatskim celicam.
- Ob prenosu kloniranih celic v bolnikovo telo bi bolnik nanje ne reagiral kot na tujke ali na tuje presadke.
- Tako vzgojene celice bi lahko uporabljali za zdravljenje poškodovanih ali obolelih tkiv.

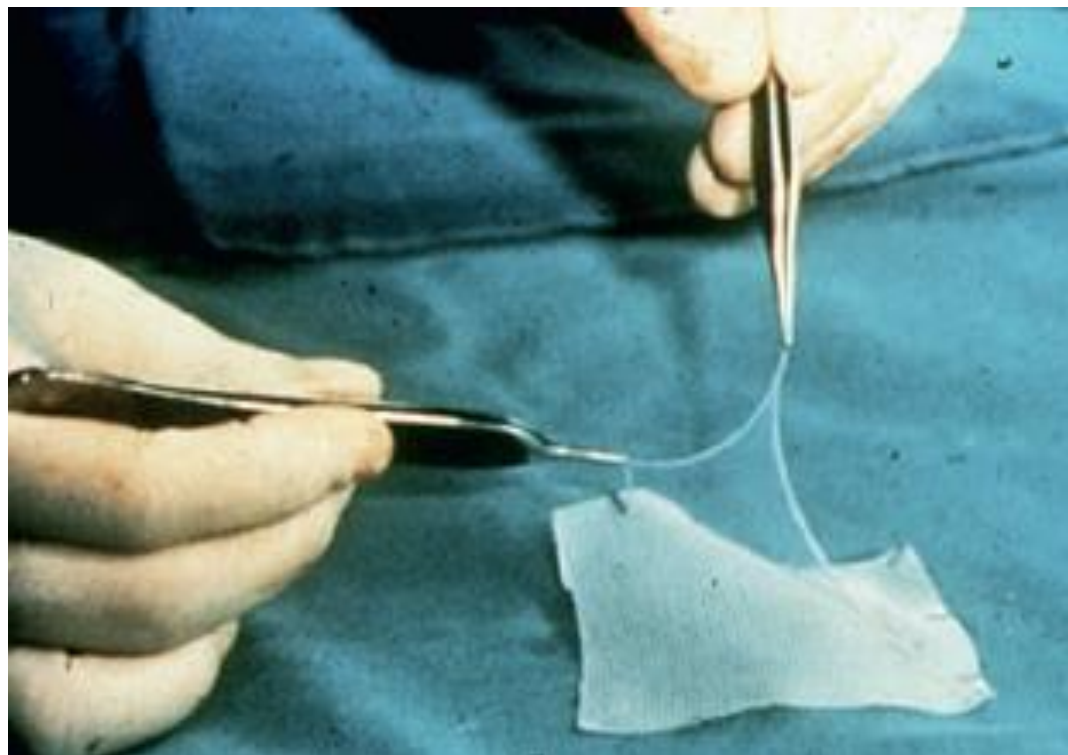
Primeri zdravljenja z zarodnimi matičnimi celicami

- Za zdravljanje **sladkorne bolezni** bi recimo lahko uporabili s kloniranjem vzgojene celice trebušne slinavke, ki izločajo insulin.
- Za zdravljenje **Parkinsonove bolezni** bi lahko uporabili klonirane možganske živčne celice.
- Za **obnovo srca po srčni kapi** bi lahko uporabljali klonirane srčne mišične celice.

Primeri zdravljenja z odraslimi matičnimi celicami

- **Matičnih celic** pa ne najdemo samo v zgodnjih stopnjah zarodka, temveč tudi v **popkovnični krvi** in v **posteljici**.
- Tudi v **telesu odraslega človeka** so matične celice, ki obnavljajo tkiva v telesu.
 - **Matične celice iz kostnega mozga** že dolgo uporabljajo za obnavljanje krvnih celic pri levkemiji.
 - **Mezenhimalne celice** v maščobnem tkivu uporabljajo za obnavljanje drugih vezivnih tkiv (npr. hrustanca).
 - **Celice zarodne plasti povrhnjice** uporabljajo za sintezo presadkov po opeklinah.

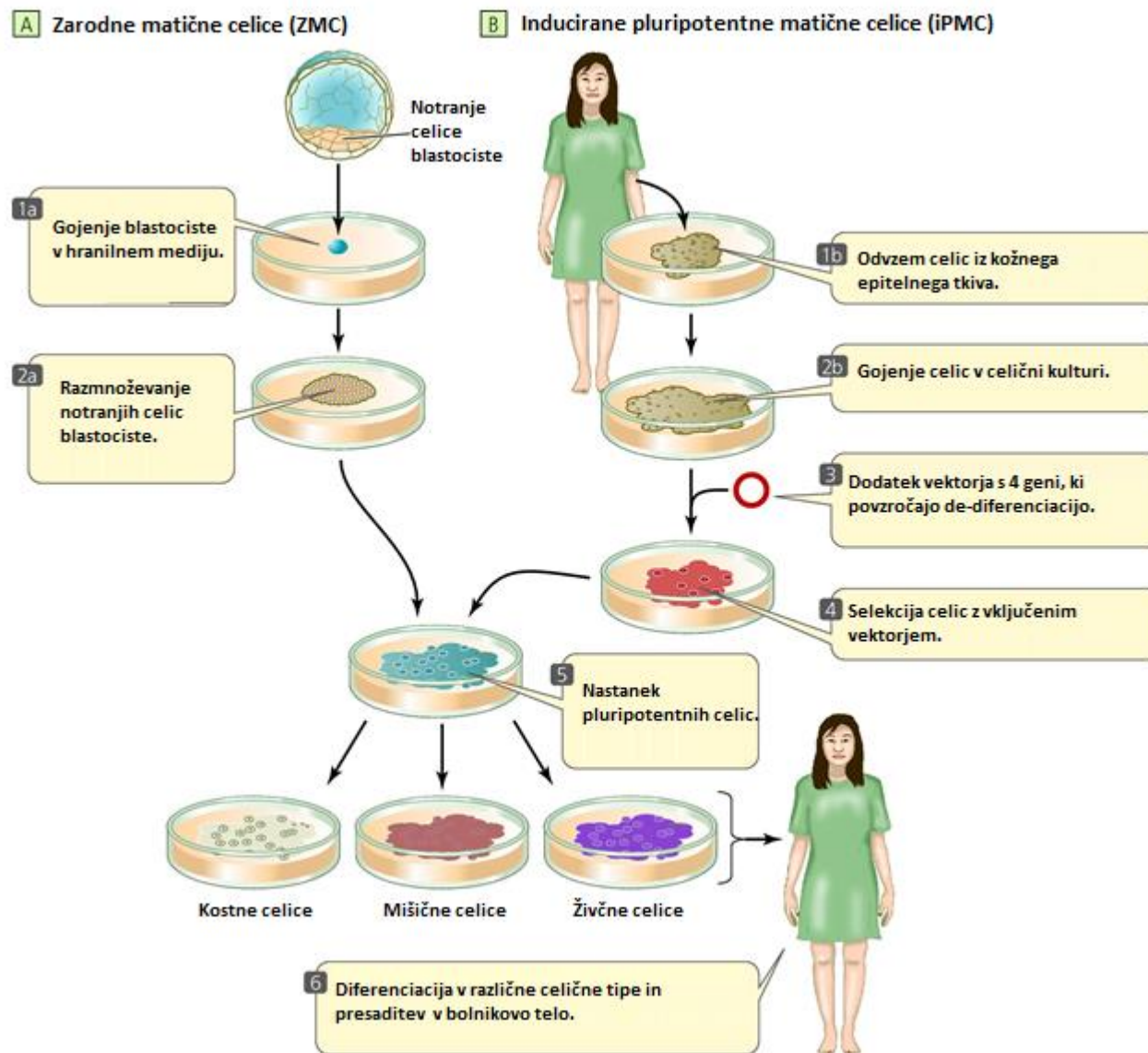
Koža iz odraslih matičnih celic (za presaditev po opeklinah)



Sinteza induciranih pluripotentnih matičnih celic (iPMC)

- Leta 2007 je skupina raziskovalcev pod vodstvom prof. **Shinya Yamanaka** z Univerze v Kyotu (Japonska) sintetizirala **inducirane pluripotentne matične celice (iPMC)**.
- Za odkritje je prof. Shinya Yamanaka prejel Nobelovo in Wolfovo nagrado za medicino.
- **Inducirane pluripotentne matične celice (iPMC)** so zelo podobne embrionalnim matičnim celicam (EMC).
- Dobimo jih tako, da **v diferencirane celice vključimo 4 gene**, ki so značilni za EMC in povzročajo celično **de-diferenciacijo**.
- iPMC se lahko ponovno diferencirajo v celične tipe, ki so različni od tistih, iz katerih izhajajo.

Genska terapija z iPMC



Mnenja o terapevtskem kloniranju z zarodnimi matičnimi celicami

- Mnenja o terapevtskem kloniranju zarodnih matičnih celic so **močno deljena**.
- Raziskave na področju **kloniranja zarodnih matičnih celic** so **etično sporne**, saj zahtevajo uporabo zgodnjih stopenj človekovih zarodkov.
- Znanstveniki skušajo čedalje bolj **razvijati postopke zdravljenja z matičnimi celicami odraslega organizma**, pri katerih uporaba zarodkov ni potrebna.