

Transgeenne lammas



Probleem

Emfüseem on kopsukudet kahjustav haigus, mis põhjustab mõnedel inimestel kolmekümnendates ja neljakümnendates eluaastates raskeid hingamishäireid. Põhiliselt areneb see välja geneetilise eelsoodumusega inimestel, kes viibivad ruumis, mis on saastunud tubakasuitsu või kemikaalidega.

Tavaliselt on sissehingatavas õhus haigustekitajaid, nt baktereid ja spore, mis tuleb lagundada, enne kui nad meie organismi kahjustada jõuavad. Kopsudes on suur hulk neutrofiile – leukotsüüte, mis eritavad võõrvalke lagundavaid ensüüme. Üks oluline neutrofiilide poolt eritatav ensüüm on elastaas, mis lõhustab õhu kaudu kopsudesse sattunud valke. Mida rohkem saasteaineid õhus on, seda rohkem elastaasi toodetakse.

Kopsualveoolide seinad sisaldavad elastiini, mis tagab kopsude elastsuse. Ka seda võib elastaas lõhustada. Viimase vältimiseks eritatakse verre ensüümi, mida nimetatakse α -proteinaasi inhibiitoriks (α PI). α PI seostub elastaasiga, inaktiveerib

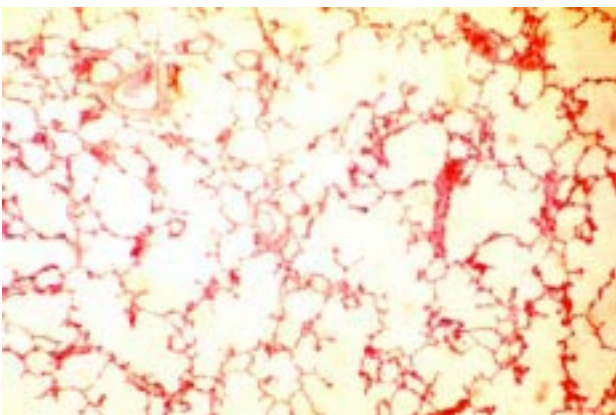
selle ja väldib seega kopsukoe kahjustusi. Kahe ensüümi kontsentratsiooni vahel on püsiv tasakaal. Kui α PI-t on vähe, väljub elastaas kontrolli alt ja ründab kopsude elastseid kiude. Tulemus meenutab kääridega kalavõrgu lõikamist – augud (alveoolid) muutuvad suuremaks. Mikrofotod (joonis 1) on tehtud ühesuguse suurendusega.

Kuna kopsudes tekivad suured tühimikud, väheneb kopsu sisepind, mille kaudu toimub gaasivahetus. Kopsude töö efektiivsus väheneb, samuti muutuvad nad vastuvõtlikumaks saasteainete poolt põhjustatud haigustele.

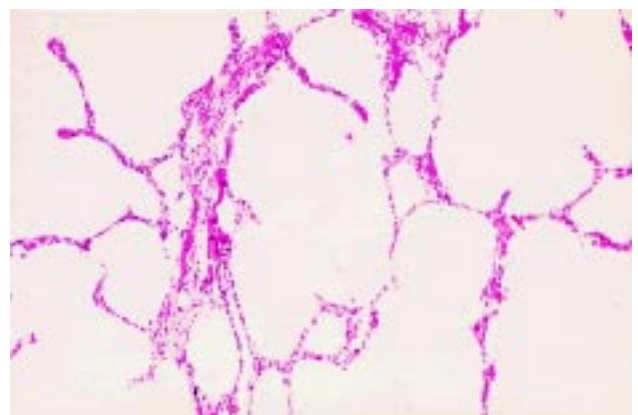
α PI geneetika

Nagu kõigi valkude, nii ka α PI tootmine on geneetiliselt määratud. α PI geen asub 14. kromosoomis. Tähistame α PI-t tootva alleeli tähega *M*. Enamikul inimestel on neid kaks – *MM*. Need inimesed on kopsuhaiguste eest suhteliselt kaitstud, välja arvatud väga tugeva ärrituse, nt suitsetamise puhul. Umbes 5-10% inimestel on üks mutantne alleel - tähistame selle tähega *Z*. Neil on *MZ* kombinatsioon ning α PI-t ei toodeta

Joonis 1. Kopsukude



Normaalne kopsukude



Emfüseemi põdeva inimese kopsukude

piisavalt. Umbes ühel kahest tuhandest inimesest on mõlemad mutantsed alleelid. Neil on ZZ kombinatsioon ja α PI-t ei toodeta üldse.

Kokkuvõtteks (siin esitatu on tegeliku situatsiooni lihtsustus, välja on jäetud geen S):

MM	normaalne α PI tootmine;
MZ	ebapiisav α PI tootmine, kalduvus haigestuda emfüseemi;
ZZ	α PI tootmine puudub, väga suur oht haigestuda emfüseemi.

Uuringud näitavad, et

- ZZ suitsetajatel areneb emfüseem välja umbes 9 aastat varem kui ZZ mittersuitsetajatel;
- ZZ inimeste taluvus on väiksem kõigi õhus leiduvate saasteainete suhtes;
- MZ inimesed haigestuvad tubakasuitsu või muu saasteaine tõttu sagedamini kui nende MM kaaslased;
- α PI madal tase on leitud paljudel tuberkuloosihaigetel.

Küsimused :

1. Kas teie tahaksite noorelt teada saada, kas teil on MM, MZ või ZZ alleelid? Põhjendage, miks te nii otsustate.
2. Kui te saaksite teada, et teil on MZ kombinatsioon, kas hoiduksite selle tõttu suitsetamisest? Põhjendage oma otsust.

Paljude haiguste puhul on nii keskkonnal kui pärilikkusel suur roll. Järgnevad ametid eeldavad inimeste viibimist keskkonnas, mis võib viia kopsuhaiguste arenemisele:

- veini valmistajad - hallitanud korkidest;
- juustutegijad - hallitanud juustust;
- töölised saeveskis - kõdunenud puidutolmust;
- suhkruroo töötajad - kõdunenud suhkruroost;
- heinategijad - hallitanud heinast;
- vilja töötajad ja pagarid - jahutolmust;
- linnukasvatajad - lindude väljaheidetest.

Küsimus:

3. Kas nendel erialadel töötavaid inimesi tuleks geneetiliselt analüüsida, et kindlaks teha nende genotüüp (MM, MZ või ZZ)?

Lahendus



Kasutades geneetilisi markereid, saab *MZ* ja *ZZ* inimesi identifitseerida juba sünnimomendil, isegi varem. Puuduliku α PI tasemega inimesed saaksid sel juhul vältida või vähendada tsüstilisse fibroosi haigestumist kahel viisil:

- Kahte tüüpi geeniteraapiat:
 - a) somaatiline geeniteraapia, mille korral normaalne geen viiakse kopsukoosse ning see hakkab tootma α PI-t;
 - b) sugurakkude geeniteraapia, mille korral sisestatakse puuduv *M*-geen. Uued geenid päranduvad ka järgmistele põlvkondadele.
- Ravimpreparaatide kasutamine, mille korral α PI viiakse aerosooli koostises kopsu. Ensüümi vajatakse suurtes doosides: umbes 4 g nädalas (200 g aastas).

Geeniteraapia

Geeniteraapia suhtes pole veel ühest seisukohta, kuigi näiteks tsüstilise fibroosi ravis on juba edu saavutatud. Praegu tundub eelloetletud meetoditest perspektiivikam (a) variant.

Ravimpreparaadid

Tavaliselt saadakse α PI-t inimese vereplasmast, kuid selle kogus on väike ja hind väga kõrge. Paljudele inimestele oleks sellisest ravimpreparaadist kasu, kui piisavalt suur kogus oleks kättesaadav madalama hinnaga. Šoti firma *Pharmaceutical Proteins Ltd.* otsustas saada lamba, kes toodab seda ensüümi oma piima koostises.

Võimalikud eelised:

- lambad kui imetajad toodavad α PI-t, mis on inimese ensüümile sarnasem, kui see, mida saadakse bioreaktoris kasvatatavatest bakteritest;
- lammaste kasutamine on odavam võrreldes veistega, sest nad saavad kiiremini suguküpseks;

- piima on lihtne koguda;
- ensüümi toodetakse ainult piimas, ülejäänud loomas ei muutu midagi, seega peaks lammas olema täiesti terve;
- ensüümi saab toota väga suurtes kogustes, sest selliseid lambaid saab kasvatada palju;
- ensüümi saab lihtsalt piimast eraldada;
- ensüümi tootmine on odav.

Meetod

Joonisel 2 on kujutatud etapid, mis on vajalikud inimese valgu tootmiseks lambapiimas.

Otsustav etapp on inimese geeni viimine lambasse, sellest tuleb ka nimetus - transgeenne. Kasutatavat tehnikat nimetatakse geenitehnoloogiks, insenergeneetikaks või geneetiliseks modifitseerimiseks. Kõik need mõisted tähendavad sisuliselt sama meetodit. Kasutades transgeenseid loomi, on teoreetiliselt võimalik toota inimese kõiki ravi otstarbeks vajalikke valke.

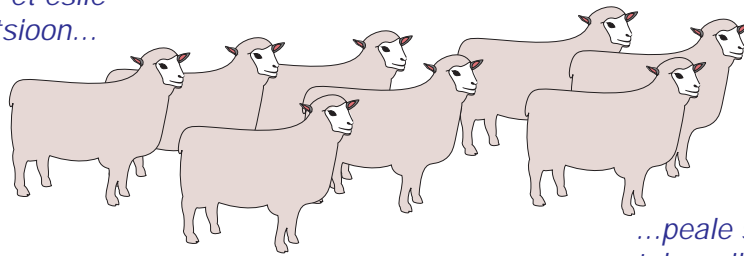
Piim saadakse kätte ja kooritakse (eraldatakse rasv). Valgud sadestatakse ja eraldatakse kolonnkromatograafiaga. Selle meetodi abil on võimalik kätte saada 30% piimas leiduvast α PI-st.

Selliste “lokkiskarvaste bioreaktorite” toodang on väga odav. Üksutt Tracy toodab iga piimaliitri kohta 30 g α PI-t. Esimese laktatsiooni jooksul tootis ta poolteist kilogrammi α PI-t. Ensüümi kõrge kontsentratsioon saavutatakse piimas, mille tootmine on väga odav: piimaliitri saamiseks kulub paar naelsterlingit (alla 50 EEK). Lambad on täiesti terved ja neil ei paista olevat α PI tootmise tõttu mingeid kõrvalnähte.

Seega on geenitehnoloogia abil võimalik saada suurtes kogustes ja küllaltki odava hinnaga spetsiifilist ensüümi, mis funktsioneerib sarnaselt inimese omaga. Emfüseemi ohuga inimesed ei pea kartma

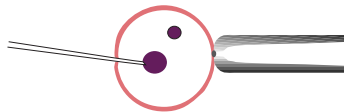
Joonis 2. α PI tootmine lambapiimas

doonorlammastele antakse
hormoonpreparaate, et esile
kutsuda superovulatsioon...

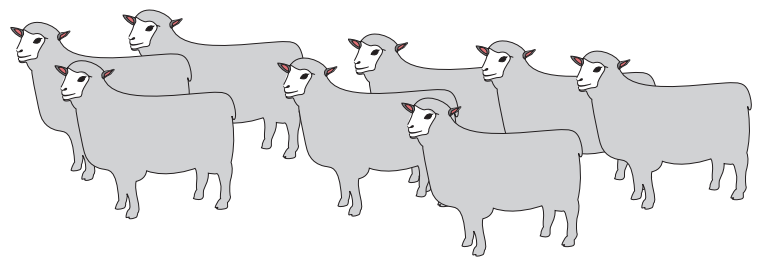


...peale seemendamist kogu-
takse viljastatud munarakud

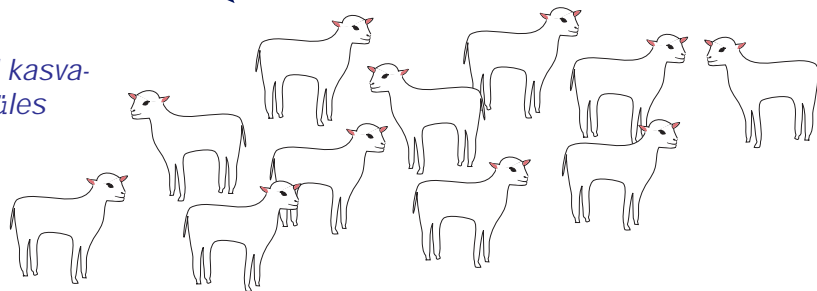
inimese
geen viiakse
viljastatud munaraku
tuuma



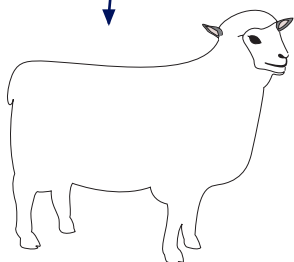
munarakud viiakse
retsipientlammastesse



järglased kasva-
tatakse üles



suguküpsetest järglastest valitakse isend,
kellel on suurima α PI sisaldusega piim



α PI eraldatakse

α PI antakse
haigetele inimestele

tuleviku pärast ning need, kes on praegu haiged, saavad haiguse edasist arengut pidurdava ravimi.

Ensüümi tootmisega pole lugu veel lõppenud. Kõikvõimalike katsete järel annab vastav ametkond ravimi kasutamiseks loa. Selleks võib kuluda aastaid. Loodetavasti ei lähe α PI turule jõudmiseni siiski väga kaua aega.

Pharmaceutical Proteins Ltd. tegevdirektor doktor Ronald James saab pidevalt kirju, mis rõhutavad vajadust selle toote järele. Üks selline kiri, mille on kirjutanud Mr. Smith (nime pole muudetud), kõlab järgmiselt:

5. aprilli Daily Telegraphi esilehel oli artikkel, mis kajastas teie pingutusi α PI tootmiseks piisavas koguses, et ravida emfüseemi. Minu teada olen mina selle haiguse esimeses staadiumis. Vaikselt istudes saan ma normaalselt hingata, kuid käies bakkan hingeldama ja pingutuse puhul tekib mul õhupuudus. Muus osas on mu tervis minu vanuse kohta väga hea. Mul tekkis mõte, et oma uuringute käigus katsetate te oma toodet ka inimeste peal ning kui selline vajadus tekib, osaleksin ma katses väga hea meelega. Ma olen teadlik, et nende katsetega seostub riskimoment, kuid oma vanuses ja olukorras oleksin ma väga rahul, kui saaksin osaleda võimalike kõrvalmõjude väljaselgitamisel, lootuses, et lõpuks saadab teie pingutusi edu ning võib-olla on minulgi sellest kasu.

Küsimus

4. Kui teil oleks identifitseeritud ZZ, kas teie pakuksite oma teeneid katsete jaoks? Põhjendage oma otsust.

Tsüstilise fibroosi ravi

α PI-t katsetatakse praegu ka tsüstilise fibroosi ravimina.

Tsüstilise fibroosi põdemisel on kopsud vastuvõtlikud bakterile *Pseudomonas*.

Organism reageerib nakkusele tootes rohkem neutrofiile (leukotsüüte), mis lõhustavad baktereid. Selleks toodavad nad rohkelt elastaasi. Bakterid püüavad omakorda hoiduda elastaasi rünnakust, eritades endale limakesta. “Võitluse” tulemusena sisaldavad kopsud ja hingamisteed suurt kogust elastaasi, mis lagundab kopsude epiteelirakke ning lõhustab ka α PI-t.

Me nägime, et normaalselt on α PI ülekaalus võrreldes vaba elastaasiga, kuid tsüstilise fibroosi puhul on vastupidi: elastaas on võrreldes α PI-ga ülekaalus. α PI manustamisega patsiendile taastatakse ensüümide õige vahekord.

Kui katseid saadab edu, on suhteliselt odav α PI tsüstilise fibroosi haigetele asendamatuks ravivahendiks.

Küsimused

5. Kas selle meetodi juures, kus inimese valku saadakse transgeensete koduloomade abil, on midagi, mis teid häirib?
6. Milliseid teisi võimalusi on teie arvates peale transgeensete loomade kasutamise?

Kloonimine

1997. aasta alguses levis uudis Dolly-nimelise lamba sündimisest Roslini Instituudis, kus püüti saada transgeenset lammast. Neil oli korda läinud kloonis saamine täiskasvanud lamba keharakust. Kogu maailma ajakirjanduses ilmusid fantastilised pealkirjad, nt “Dolly kloonimine seab küsimuse alla inimelu ja soojätkamise staatuse” (*The Irish Times*, 26. veebruar 1997). Vaid üksikud artiklid selgitasid põhjuseid, miks teadlased lamba kloonisid.

Kui inimese geen viiakse lamba munarakku, ühineb see väga väikese tõenäosusega lamba genoomiga ja hakkab seejärel avalduma nii nagu vaja, nt tootma piimas ensüümi. See on nagu õnnemäng, kus edu võimalus on väga väike, ning

tulemuse saavutamiseks peab tegema palju katseid. Kui lõpuks on saadud lammas, kes toodab oma piimas suures koguses vajalikku valku, kasutatakse seejärel kloonimist. Sellega saadakse mitu karja kloonitud lambaid, kes toodavad kõik α PI-t (või mõnda muud vajalikku valku).

Küsimused

7. Kas teie arvates on oluline, et teadlased suutsid kloonida lamba?
8. Kuidas te arvate, kas lähemas tulevikus kloonitakse inimene? Kas seda oleks vaja või mitte?

