



Genteknologi på naturfagrommet

Temaark frå Bioteknologinemnda • Oppdatert juli 2007 • www.bion.no

Mens bioteknologi i ulike former har vore i bruk i fleire tusen år, har genteknologi berre vore i bruk sidan midten av 1970-talet (sjå tidslinje på www.bion.no). Då ein fekk teknologi for å jobbe med og studere enkeltgen og endre på gena til ein organisme, opna det seg ei heilt ny verd av moglegheiter for å forstå og kontrollere biokjemiske prosessar.

I dag bruker ein genteknologi innan eit breitt spekter av område både på menneske, dyr, planter og mikroorganismar. Her skal vi sjå på nokre av basismetodane i genteknologi som kan utførast på naturfagrom på skular, men fyrst må vi sjå på DNA-molekylet.

Arvestoffet – DNA

Arvestoffet vårt, DNA-et, er bygd opp av fire byggesteinar: basane adenin (A), cytosin (C), guanin (G) og tymin (T). Desse er kopla saman på lange trådar. To trådar er tvinna om kvarandre slik at det blir danna *basepar* mellom basane på dei to trådane. Det er alltid slik at A og T dannar basepar saman, mens G og C dannar basepar saman (figur 1). Eit *gen* er eit stykke av eit DNA-molekyl som kodar for eit protein (les om dette på temaark om arv og genetik). Det er proteina som utfører dei ulike jobbane i cellene. Proteina er bygde opp av lange rekkjer av aminosyrer. Tre og tre basar i DNA-et kodar for ei aminosyre i proteinet. Det er stort sett dei same tre og tre basane i DNA-et som kodar for same aminosyre i proteina i alle organismar, så koden er nesten universell. Derfor er det mogleg å setje gen frå ein organisme inn i ein annan organisme og få genet til å lage proteinet det kodar for og i den organismen.



Figur 1. Skjematiske framstilling av ein del av eit DNA-molekyl.

Bioteknologi

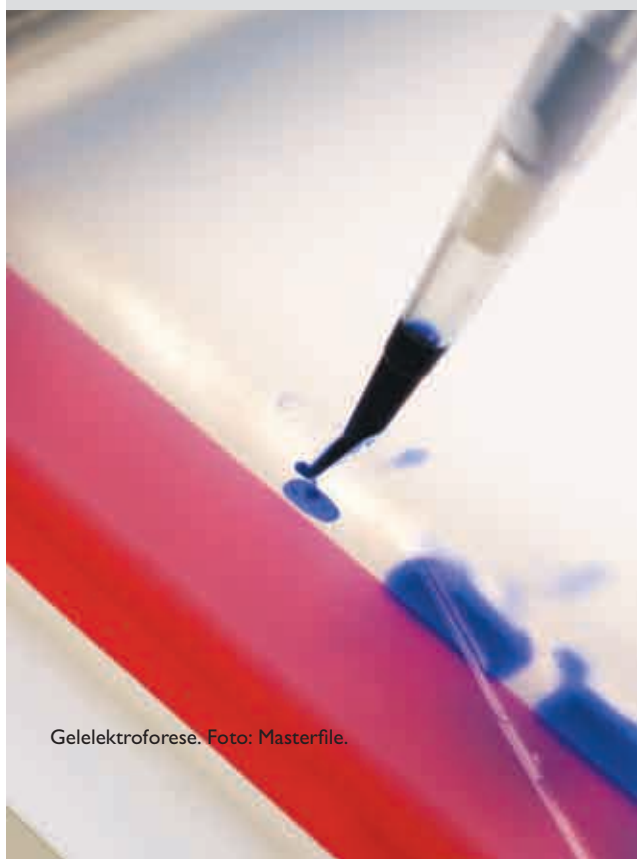
”Bios” er gresk for ”liv”. Bioteknologi er altså all teknologi der ein bruker levande organismar. Ordet er relativt nytt, men omfattar til dels gamle og velkjende prosessar. Gjær har for eksempel vore brukt til å bake brød og bryggje øl i fleire tusen år.

Genteknologi

Teknologi der ein endrar eller undersøker arvestoffet – DNA – til ein organisme. Arvestoffet inneheld gena våre, som vi har arva frå foreldra våre.

Moderne bioteknologi

Uttrykket blir ofte brukt for å skilje nyare teknologi frå bruken av levande organismar som vi har drive med i fleire tusen år. Felles for mykje moderne bioteknologi er at genteknologiske metodar spelar ei sentral rolle.



Gelelektroforese. Foto: Masterfile.

Isolering av DNA

Isolering av heile arvestoffet (*genomet*) til ein organisme er ei standardprosedyre i laboratoriearbeid både når ein skal analysere DNA-et til ein person og når ein driv forskning på ulike typar organismar. Ein treng då ei biologisk prøve å isolere DNA-et frå. Biologiske prøver kan vere celler frå ulike typar vev. Hos menneske bruker ein ofte blod. For å isolere DNA-et må ein først øydeleggje cellene slik at DNA-et som ligg i cellekjernen, blir tilgjengeleg. Dette gjer ein ved å blande cellene med såpe som øydelegg cellemembranane, som består av feitt. Ein må så tilsetje enzym som øydelegg proteina i cella, slik at DNA-et som kjem ut av cellekjernen, ikkje blir øydelagt av cella sine enzym. Til slutt må ein skilje DNA-et frå alt det andre i cella slik at

ein set att med ei løysing som berre inneheld DNA. Dette gjer ein ved å tilsetje alkohol (for eksempel etanol). DNA-et samlar seg då i sjiktet mellom alkoholen og resten av løysinga, og flokar av DNA-trådar blir synleg for det blotte auge. Dette DNA-et kan ein så løyse i ei eigna væske (ein buffer) som held DNA-et i løysing og gjer det stabilt.

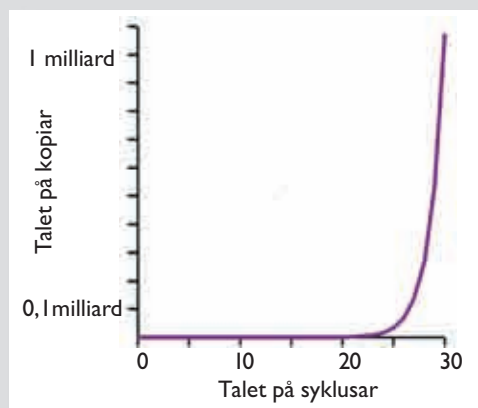
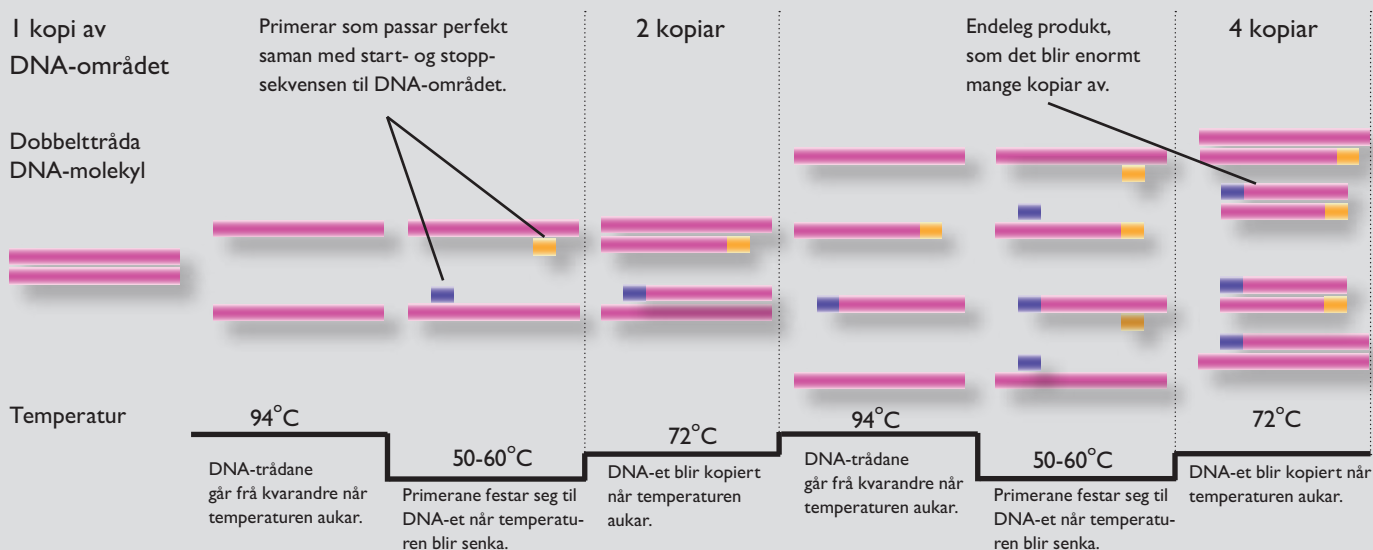
Kopiere DNA med PCR

Mens protein finst enkeltvis i cellene og kan isolerast ut frå bestemte kjemiske eigenskapar, er ikkje dette mogleg for eit gen, eller eit anna DNA-område, fordi det berre er ein liten del av eit stort kromosom. Det kan derfor verke som å leite etter ei nål i ein høystakk å skulle få tak i det DNA-området ein skal arbeide med. Men etter at vi fekk PCR-metoden i 1986, har dette arbei-

det blitt mykje lettare. Ved hjelp av PCR (Polymerase Chain Reaction – polymerase kjedereaksjon) får ein i løpet av kort tid ekstremt mange kopiar av akkurat det DNA-området ein er ute etter. For å kunne bruke PCR-metoden, må ein kjenne til baserekkefølga til delar av DNA-området ein skal kopiere (figur 2).

Kopiering av DNA med PCR blir brukt i stor utstrekning både i forskning når ein for eksempel skal få tak i genet for eit protein, eller når ein skal analysere DNA. Dersom ein for eksempel ønskjer å lage ein DNA-profil for å identifisere ein person, bruker ein PCR for å få mange kopiar av dei DNA-områda som skal analyserast (les meir om dette på temaark om DNA-analyse for identifikasjon).

DNA-kopimaskin – PCR



Figur 2. Over: Polymerase Chain Reaction (PCR) blir brukt for å lage kopiar av DNA i laboratoriet. Ein etterliknar naturen sin måte å lage nytt DNA på ved å blande DNA med primerar, DNA-byggjesteinar (basane A, C, G og T) og enzym som kopierer DNA-et (polymerase). Enzymet kjem frå varmekjære bakteriar. Derfor skjer kopieringa ved høg temperatur. Primerane er korte enkeltråda DNA-bitar som er laga i laboratoriet. Dei er laga basert på kunnskap om baserekkefølga i endane av DNA-området som skal kopierast. Basane i primerane må nemleg kunne danne basepar med basane i desse endane. Primerane er på ein måte trykkknappar som festar seg der ein skal starte kopiering. For å utføre PCR bruker ein ei PCR-maskin som ein programmerer til å heile tida endre temperaturen slik at dei ulike trinna i prosessen skjer i den rekkefølga som trengst for å få laga nytt DNA.

Til venstre: Talet på kopiar av DNA-området doblar seg for kvar runde – det aukar eksponentielt. Ei runde blir kalla ein syklus, og etter 30 syklusar (kan til saman ta rundt ein time) vil ein altså ha heile ein milliard kopiar av DNA-et.

Klippe og lime DNA

Når ein skal setje saman ulike DNA-bitar, det vil seie lage såkalla *rekombinant DNA*, må ein klippe og lime DNA-et. Det kan for eksempel vere at ein vil setje eit gen frå menneske inn i eit plasmid (eit sirkulært DNA-molekyl) som etterpå skal setjast inn i ein bakterie for å produsere det proteinet genet kodar for.

Først må ein behandle DNA-et for å lage DNA-bitar som passar saman. Det er vanlig å klippe/kutte DNA-et slik at den eine DNA-tråden blir lengre enn den andre i endane (figur 3). Dette gjer ein ved å blande DNA-et med "molekylære sakser" som blir kalla restriksjonsenzym. Dette er protein som kjenner igjen spesifikke DNA-sekvensar, for eksempel: GAATTC CTTAAG, og deler DNA-et ved desse sekvensane. Resultatet kan bli slik:

```

G      AATTC
CTTAA  G
  
```

Restriksjonsenzyma er reinsa frå bakteriar der dei finst naturleg for å verne bakteriane mot ukjent DNA frå for eksempel virus.

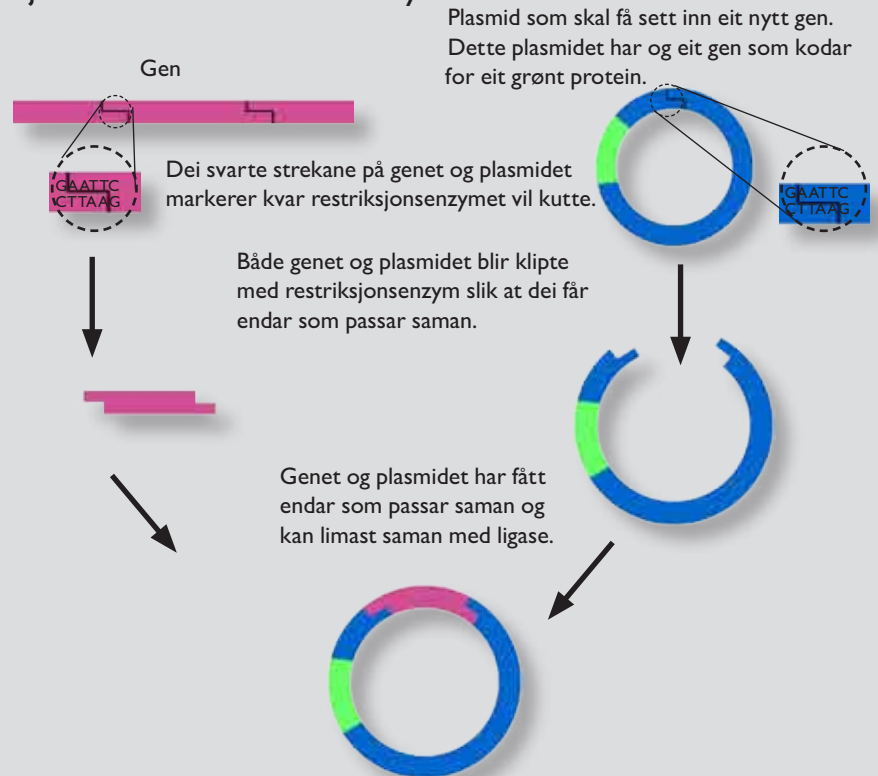
Dersom ein ønskjer å kople saman ulike DNA-bitar, bruker ein eit "molekylært lim" som blir kalla ligase. Dette er eit enzym som kan binde saman DNA-bitar som passar saman (figur 3, midten).

Kutting av DNA med restriksjonsenzym er og vanleg å bruke når ein skal analysere DNA-et for eksempel for å finne ut kva genvariant ein person har av eit gen (les meir om dette på temaark om gentesting)

Gelelektroforese

Når ein kuttar DNA, arbeider ein med svært små mengder DNA og enzym, og ein kan ikkje sjå kva som skjer med DNA-et direkte. Ein må derfor sjekke resultatet ved å for eksempel køyre gelelektroforese på DNA-prøvene. Ved ulike typar gelelektroforese skil ein DNA-bitar frå kvarandre etter størrelse. Ein kan bruke ein gel (ei geléliknande plate) som er laga av agarose eller polyakrylamid. Den er full av porar som gjer at små molekyl lett kan vandre gjennom gelen, mens store molekyl blir hindra i å vandre framover. I gelen plasserer ein DNA-prøver

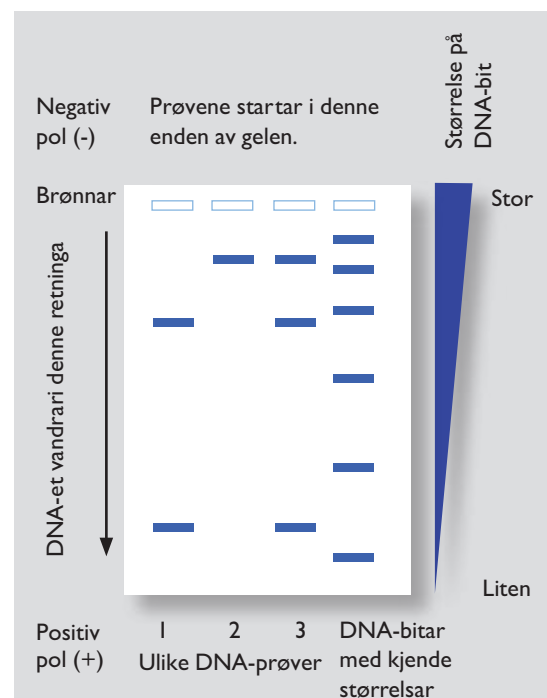
Setje saman ulike DNA-molekyl



Figur 3. Ein kan klippe DNA ved hjelp av restriksjonsenzym som kuttar ved spesifikke base-sekvensar i DNA-et. DNA-bitar som har endar som passar saman, kan så limast saman ved hjelp av enzymet DNA-ligase.

i brønningar (figur 4). Prøvene er blanda med eit fargestoff som gjer at ein lett ser kva ein gjer (sjå bilete på framsida). Gelen ligg i eit kar i ei væske (ein buffer) som inneheld ion slik at den leier straum. I karet har ein elektrodar, og gelen ligg slik at brønnane ligg ved negativ pol. DNA-et er negativt lada og vil vandre mot den positive polen når ein set på straum. Etter ei tid vil dei små DNA-bitane ha vandra langt, mens dei store bitane har vandra kort. Fargen i prøvene oppfører seg som dei kortaste DNA-bitane og vil derfor vandre fremst i gelen.

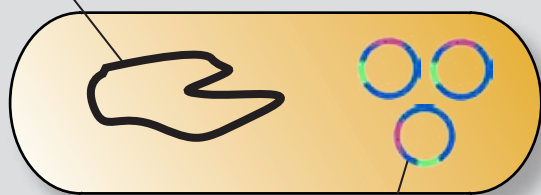
Når gelelektroforesa er ferdig, legg ein gelen i eit anna fargestoff som bind seg til DNA-bitane i gelen. DNA-et blir då synleg som band i gelen. Ein kan finne størrelsen på dei ulike DNA-bitane ved å samanlikne med banda i ei DNA-prøve der størrelsen på alle DNA-bitane er kjende. Gelelektroforese blir brukt i fleire ulike samanhengar for å analysere DNA.



Figur 4. Eksempel på resultat av gel-elektroforese der ein har kuttat eit oppkopiert gen med enzym. Mønsteret i ei kolonne er avhengig av kva genvariant personen har.

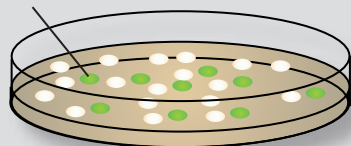
Genmodifiserte bakteriar

Bakterien sitt kromosom



Plasmid med gen som skal studerast (rosa) og GFP-gen (markørgen, grønt)

Bakteriekoloni



Figur 5. Over: Bakterie som har fått sett inn plasmid med genet ein er interessert i og GFP-genet. Under: Skål med bakteriekoloniar. Dei grøne bakteriekoloniane har fått inn plasmidet med dei to gena, mens dei kvite koloniane ikkje har fått inn plasmidet.

Å lage ein genmodifisert organisme

Dersom ein ønskjer å få ein bakterie til å produsere eit bestemt protein, for eksempel insulin som kan brukast som medisin av personar med diabetes (sukkersykje), må ein lage eit plasmid som inneheld genet for proteinet (figur 3). Plasmidet med genet blandar ein så med bakteriar under slike forhold at plasmidet kjem inn i bakteriane (figur 5). For at ein etterpå skal kunne sjekke at ein verkeleg har fått genet inn i bakterien, er det vanleg at ein har eit såkalla *markørgen* i plasmidet. Ved hjelp av dette markørgenet kan ein lett finne dei bakteriane som har teke opp plasmidet med dei nye gena. Markørgenet kan for eksempel vere eit antibiotika-resistensgen. Då dyrkar ein bakteriane med antibiotika til stades, slik at berre dei bakteriane som har fått antibiotika-resistensgenet klarer å vekse opp. Dei bakteriane som har fått markørgenet, har og fått genet for proteinet ein er interessert i. Markørgenet kan og vere eit gen som gir farge på bakteriane. Det er for eksempel mogleg å bruke eit gen som kodar for eit grønt protein (grønt fluorescerande protein – GFP) i ei grøn manet. Bakteriar som får dette manetgenet blir grøne når det blir produsert protein frå genet (figur 5). Når ein har valt ut bakteriar som har dei gena ein ønskjer,

Etiske problemstillingar

Bruk av genteknologi der ein lagar rekombinant DNA og lager organismar med nye eigenskapar, er veldig nyttig i forskning, men reiser og etiske problemstillingar, for eksempel:

- Kan det bli laga nye og farlegare mikroorganismar?
- Kan det vere skadeleg for miljøet og naturlege plantar at det blir dyrka genmodifiserte plantar?
- Er det riktig å prøve å endre på gena til dyr og menneske?

I tillegg kan kunnskap om arvematerialet til den enkelte av oss gje oss val som er etisk problematiske og informasjon kan kome på avveg.

Du kan lese meir om etiske problemstillingar på andre temaark som tek for seg bestemte bruksområde for bio- og genteknologi.

Fordi genteknologi er ein så kraftfull teknologi treng vi lover som regulerer bruken av teknologien. I Noreg har vi ei bioteknologilov (Lov om humanmedisinsk bruk av bioteknologi) for bruk av bio- og genteknologi på menneske og ei genteknologilov (Lov om framstilling og bruk av genmodifiserte organismar) for bruk av bio- og genteknologi på plantar, dyr og mikroorganismar.

og som ein veit produserer det ein vil, for eksempel insulin, dyrkar ein opp desse bakteriane i store mengder. Deretter reinsar ein produktet, insulinet, ut frå "bakteriesuppa" ved hjelp av biokjemiske metodar.

Produksjon av insulin i bakteriar var noko av det første som vart gjort innan genteknologien (1978). I dag kan ein setje inn gen og endre på eigenskapane til meir avanserte organismar enn bakteriar (les om dette på andre temaark).

Les meir på www.bion.no:

- Meir om strukturen til DNA-molekylet
- Fleire genteknologiske metodar
- Elevøvingar og andre læringsressursar (blant anna animasjonar)
- Norsk lovgjeving

Produsert av:

Støtta av:



Bioteknologinemnda



Forskringsrådet