

Hands on genterapi

At sætte et gen ind i en stamcelle fra en mus er nu noget enhver i princippet kan gøre, blot man har det rette udstyr og vejledning. En gymnasieelev fortæller her om sit møde med "hands on genterapi" på Aarhus Universitet.

Forfatter



Hanna Pilgaard Christensen, gymnasieelev i 3.g på Vestjysk Gymnasium
hanna.pilgaard@gmail.com

For bare 10 år siden var forsøg med genterapi stemplet til fiasko, fordi for mange skuffende resultater og livstruende bivirkninger stoppede de positive tanker. Men i dag har flere nye eksperimenter vist, at behandling af folkesygdomme igen kan blive med genterapi på dagsordenen. Der har været lovende fremskridt inden for behandling af tilfælde af blødersygdom, boblebørn og blindhed, og forventningerne om, hvor langt man kan komme med denne form for behandling er steget med raketfart. På trods af de lovende resultater er vi dog langt fra at kunne udnævne genterapi til en mirakelkur.

Forsøg som model for genterapi

Princippet i genterapi er meget enkelt. Formålet er at erstatte de syge gener i kroppen med raske. I forbindelse med mit studieretningsprojekt ved Vestjysk Gymnasium har jeg fået førstehåndsindtryk af arbejdet med genterapi. Det foregik på Institut for Molekylærbiologi og Genetik ved Aarhus Universitet, hvor jeg lavede et forsøg med genterapi på stamceller fra mus. Formålet med forsøget var at vise, at der kan sættes et gen ind i embryonale stamceller fra en mus. Vi forsøgte mere præcist at indsætte et lille cirkulært DNA-molekyle (et plasmid), der indeholdt et sammensat gen. Det vil sige, at det i praksis er to gener, der koder for to forskellige enzymer, men de to gener udtrykkes samtidig, så de opfører sig som et. Det ene gen ("terapigenet") koder for enzymet β -galaktosidase, som kan farves blå. Det andet gen koder for enzymet neomycinofotransferase, som gør cellen resistent overfor antibiotikummet G418. Når cellerne bliver udsat for G418 vil celler, der ikke har resistensgenet derfor dø, og de celler, hvor genterapien er lykkedes, vil overleve.

Vellykkede forsøg

Den første udfordring er at få plasmidet med DNA'et ind i cellen. Dette kan gøres på mange måder, men vi brugte en metode kaldet elektroporation. De embryonale stamceller bliver udsat for kortvarige strømstød, i en beholder, hvor plasmiderne med DNA'et også befinder sig. Under det korte strømstød vil der opstå små huller i cellemembranen på stamcellerne. DNA er negativt ladet og vil derfor løbe mod plus. Noget DNA vil ramme hullerne i cellemembranen og dermed komme ind i cellen. Når strømmen slukkes forsvinder hullerne, og nogle af cellerne vil nu forhåbentligt indeholde arvematerialet.

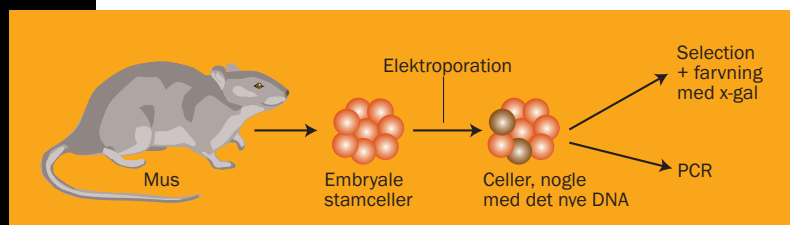
For at afgøre, hvilke celler der indeholdt det nye DNA, brugte vi to forskellige metoder.

Den ene metode går ud på først at selekttere cellerne ved hjælp af antibiotikummet G418, og derefter tilsætte farvestoffet X-gal, der farver celler med enzymet β -galaktosidase blå. Vi fik fire skåle med celler, hvor de to blev udsat for G418, mens de to andre ikke blev. Efter at skålene havde stået mørkt ved 37 grader i en halv time kunne forskellen ses. I skålene, hvor der havde været selektion, var der kun blå cellekolonier, og der var ca. 3-5 kolonier pr. skål. I skålene, der ikke var blevet udsat for G418, var der derimod masser af kolonier uden farvestof og kun en enkelt blå koloni.

Den anden metode gik ud på at udtage DNA fra cellerne og opformere det til større mængder ved hjælp af såkaldt PCR. Derefter tilføres DNA'et farve og det overføres til små brønde på en gel. Når der sættes strøm til gelen, så der kommer plus i den modsatte

Petriskål med celler, der ikke er blevet udsat for antibiotikumet G418. Kun en enkelt blå koloni, hvor gentherapie er lykkedes, har overlevet. I skåle, der blev udsat for antibiotikum, var der derimod kun blå kolonier.

Foto: Hanna Pilgaard



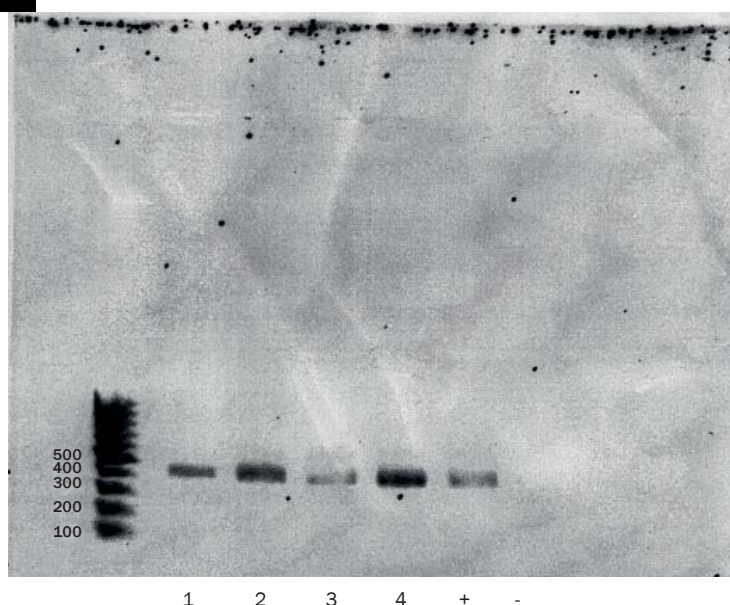
Forsøget gik ud på at sætte et gen ind i embryonale stamceller fra mus, og efterfølgende med to forskellige metoder afgøre, om missionen var lykkedes.

ende af, hvor brøndene befinder sig, vil DNA løbe mod plus, da det er negativt ladet. De korteste DNA-stykker vil løbe længst og de længste vil løbe kortest. Dette kan aflæses direkte på gelen som farvede bånd. Det DNA, vi forsøgte at få ind i cellen, var 400 basepar langt, og det viste sig, at alle vore fire prøver var lykkedes, idet vi ud for alle fire prøver kunne se bånd på gelen på omkring 400 basepar.

Åbner nye døre

Selvom vækkeuret ringer 05:30 føler jeg mig alligevel privilegeret over at kunne stå på Institut for Molekylærbiologi og Genetik klokken ni, vel vidende, at resten af mine klassekammerater kun lige er begyndt på anden time.

Privilegeret, fordi mulighederne her er meget bedre end mulighederne i laboratoriet derhjemme. Stamceller og gentherapie er ikke pensum i 3.g, og vi har hverken materialer, ressourcer, faciliteter eller viden til at gennemføre sådanne forsøg. Derfor er det guld værd at få mulighed for at prøve det alligevel. Det giver en ny vinkel på en opgave, når man har haft det i fingrene selv. Forståelsen for emnet kommer ikke længere kun fra bøger og internet, men også fra det arbejde, vi selv udførte, og selvfølgelig fra de mennesker, der hjalp os. Uden dem var forsøget ikke blevet til noget. Deres tålmodighed, og hjælp til at forstå, forklare og hjælpe med forsøget var helt uundværlig. Vi brugte af deres tid i flere dage, og alligevel besvarer de stadig gerne spørgsmål. Det er en fantastisk mulighed, for det er mennesker som arbejder med det hver dag, og derfor mere kompetente til at svare på spørgsmål end lærerne derhjemme. Udover det, havde de også styr på de mange etiske problemstillinger, der er ved gentherapie.



Billedet viser resultat af såkaldt elektroforese, hvor vi først har opformeret DNA ved hjælp af PCR og derefter overført DNA'et til en gel, hvortil der sættes strøm. Det negativt ladede DNA vil bevæge sig mod plus, og jo længere DNA-stykkerne er, jo længere vil de bevæge sig. Til venstre ses en "stige", hvor hvert trin på stigen svarer til 100 basepar. De fire prøver i midten viser, at der i alle tilfælde er et bånd ved 400 basepar (som netop er længden af det gen, vi gerne vil sætte ind i cellen). Yderst til højre er to kontroller. I +kontrollen ved vi, at det DNA, vi kigger efter, er til stede. I -kontrollen har vi ikke haft DNA i, så den viser heldigvis ikke noget bånd.

Vi brugte embryonale stamceller fra et musefoster, der måtte lade livet for forsøget. Det kan de fleste mennesker acceptere. Men hvad så, når det handler om mennesker? Spørgsmålet er også, om vi skal stoppe ved sygdomsbehandling, eller om vi også må forbedre mennesket – og hvor går grænsen? Det handler om den enkeltes livs- og menneskesyn, og på den front bliver verden nok aldrig enige, men har fortsat brug for lovgivning og debat. ■