

BIOTEKNOLOGI

MULIG ANVENDELSE I FRAMTIDIG HUSDYRAVL

AV

HARALD SKJERVOLD

BIOTEKNOLOGI

MULIG ANVENDELSE I FRAMTIDIG HUSDYRAVL

AV

HARALD SKJERVOLD

LANDBRUKSBOKHANDELEN

ISBN 82-557-0170-2

ÅS-NLH 1983

I N N H O L D S F O R T E G N E L S E

	Side nr.
FORORD	1-3
I. TRANSPLANTERING AV EMBRYO (eggtransplantering)	4
A. Forhistorie	4
B. Superovulering	5
C. Oppsamling av de befrukta eggene	7
D. Synkronisering av brunsten hos mottager-dyrene	9
E. Oppbevaring av embryo	9
F. Dypfrysing av egg	10
G. Innlegging av egg	12
H. Eggproduksjon på slaktedyr - produksjon av tvillinger	13
Beredskapsplan	15
Komplikasjoner	16
I. Den økonomiske konsekvensen ved egg- transplantering	17
1. Økt seleksjonsintensitet blant hunddyra	18
Seleksjon av mødre for rekruttering av hunddyr	18
Seleksjon av mødre for rekruttering av hanndyr	19
2. Økning av sikkerheten ved avlsdyrut- utvalget	20
3. Økte muligheter for utnyttelse av heterosiseffekten	22
4. Økt tvillingfrekvens	22
5. Estimering av maternal effekt	23
J. Spesielle avlsopplegg basert på egg- transplantering	25
Litteratur	31
II. KLONING	33
A. Parthenongenese (jomfrufødsel)	34
B. Identiske (eneggede) tvillinger	36
C. Framstilling av fullstendige homozygoter ved hjelp av kloning	38
D. Kloning ved overføring (transplantering) av cellekjerner	41
E. Avlsopplegg i tilfelle det i praksis blir mulig med splitting av embryo. (kloning)	44
Litteratur	49

III. BEFRUKTNING IN VITRO	50
A. Behandling av eggcella	50
B. Modning av spermene	52
C. Overlevingsevnen til in vitro befrukta egg	53
D. In vitro befruktning i praksis	54
E. In vitro ovulering	55
Litteratur	57
IV. KJØNNSPROPORSJON - KJØNNBESTEMMELSE	58
Innledning	58
A. Forutbestemmelse av kjønn	60
a. Separering av sperma på grunnlag av kjønnskromosom	60
1. Overflateladning	61
2. Separasjon på grunn av ulik mobilitet	61
3. Separering på grunnlag av immunologiske ulikheter	62
4. Resistensforskjell mellom de to typer av sperm	62
5. Separering på grunnlag av ulik spesifikk vekt	62
6. Andre metoder for forutbestemmelse av kjønn	65
B. Prenatal bestemmelse av kjønn	65
1. Kjønnskromatinmetoden	65
2. Kjønnsbestemmelse på grunnlag av kromosomanalyse	66
3. Kjønnsbestemmelse på grunnlag H-Y antigener	67
4. Ved bruk av hormonbestemmelse	67
C. Miljømessig betydning av en eventuell forutbestemmelse av kjønnsproporsjonen	72
Litteratur	73
V. LITT OM DET MOLEKYLÆRE GRUNNLAG	75
1. Det stofflige grunnlag for arven	75
2. DNA-replikasjonen	79
3. Den genetiske kode	80
Sammenhengen mellom DNA og proteiner	80
4. Verksted for proteinsyntesen	84
5. Biokjemiske årsaker til mutasjoner	86
6. Bestemmelse av baserekkefølgen - antall gener	88
7. Informasjonsveier - "Det sentrale Dogme" innen molekylærbiologien	89
8. Regulering av genfunksjonene	90
Sammenfatning	91
Litteratur	94

VI. MULTIPLE KOPIER (GJENTATTE SEGMENTER) AV DNA	95
1. Hvordan estimere omfanget av multiple kopier?	96
2. DNA-molekylet hos storfe	99
3. Hvilken rolle spiller så disse multiple kopier?	100
VII. GENTEKNIKK	107
A. Tilfeldige og delvis kontrollerte genoverføringer	109
1. Hybridisering av somatiske celler	109
2. Kromosomoverføring	112
B. Dirigert genoverføring	114
1. Overføring av gener fra pattedyr til bakterier	114
2. Overføring av gener fra ett dyr til et annet	114
3. Identifisering av lange basesekvenser	117
4. Genoverføring til organer	120
C. Syntetiske gener	120
Litteratur	123
VIII. MULIG ANVENDELSE I HUSDYRAVLEN	125
Debatten omkring transplantering av gener	126
Er det aktuelt i praksis?	127
Identifisering av gener	131
Hvilke egenskaper?	133
Bilag 1	Restriksjonsenzymmer
Bilag 2	Oversikt over gener som er klonet
Bilag 3	Oversikt over de dyr og planter det er klonet gener fra
Bilag 4	Forklaringer til enkelte faguttrykk

FORORD

Det har i de senere år vært en rask utvikling innenfor den del av biologisk forskning som kan kalles bioteknologi. Det gjelder:

- ^{Eggoverfør} Føsteroverføring (transplantering)
- Kloning
- Genteknikk
 - overføring av gener fra dyr til mikrober
 - overføring av gener fra et dyr til et annet
 - syntetisk fremstilte gener

Når vi betrakter denne utvikling blir vi slått av hvor enormt mye som egentlig har skjedd siden begynnelsen av 70-årene.

I stikkords form refereres her en liste over noen av de oppdagelser som er gjort i løpet av de siste 10 år, - oppdagelser som er av en slik rekkevidde at det endog har vært brukt uttrykk som: "En revolusjon innenfor biologien". (Science 1980*)

- * Dypfrysing av embryo. Wittingham 1972.
- * Kloning av arvestoffet. Cohen 1973.
- * In vitro befruktning. Oliphant og Brackett 1973.
- * Fremstilling av homozygote diploide pattedyr. Hoppe og Illmensee 1977.
- * Splitting av embryo, - kloning av pattedyr. Moustafa og Hahn 1978.
- * Kloning av syntetiske arveanlegg. Gilbert og medarb. 1979.

* For et par av disse oppdagelser kan det diskuteres hvem som egentlig var de første.

- * Overføring av arveanlegg fra en pattedyreart til en annen (DNA-kloning). Illmensee og Hoppe 1981.
- * In vitro ovulasjon. Yoshimune og medarb. 1981.
- * Markedsføring av instrumenter for syntetisering av gener. Hapwood 1981.

Mange av disse oppdagelser er såvidt nye at vi ikke riktig øyner den fulle rekkevidde av dem. Denne reservasjon gjelder spesielt utviklingen innen genteknikken.

I årene 1958-80 er det ikke mindre enn 18 forskere som er tildelt Nobelprisen for oppdagelser de har gjort innenfor molekylærgenetikken. Dette illustrerer hvilken forskningsinnsats og hvilke framskritt som er gjort innenfor denne nye retning av arvelighetslæren.

Hittil er det praktisk talt ikke noe av denne kunnskapsvekst som er tatt i bruk innenfor den kvantitative genetikk, - altså moderne avlslære.

Utviklingen innenfor bioteknologien har ført oss så langt at den kommer inn på områder som reiser dypt moralske/etiske spørsmål.

Vi må selvsagt ha motforestillinger ovenfor bioteknologien, men uansett hvilke standpunkt vi har, er det nødvendig at vi skaffer oss kunnskap om hva som er i ferd med å skje.

Det synes mer og mer sannsynlig at bioteknologien, og særlig da genteknikken, på noe lengre sikte vil kunne få betydning innenfor husdyrforedlingen/husdyravlen. Ønsker vi å ha noen direkte innvirkning på retningen av denne utvikling, må vi begynne å sette oss inn i problematikken.

Fordi utviklingen går så raskt er det vanskelig å være ajour med denne. Dette gjelder spesielt genteknikken der litteratur eldre enn 3 år er karakterisert som "gammel". På grunn av denne raske utvikling har det derfor heller ingen hensikt å gå detaljert tilverks i en slik oversikt.

Før vi i kapittel VII går inn på selve genteknikken, er det kort repetert litt om det molekylære grunnlaget for arven. Mye av det som nevnes i dette avsnittet vil forhåpentligvis være kjent fra før, i så fall gjør det ingen skade om vi disponerer noen sider for en repetisjon. Hvis stoffet derimot ikke er tilegnet tidligere, vil det være praktisk med en sammenstilling.

Videre er det i kapittel VI gitt en kort innføring i enkelte molekylærgenetiske spørsmål i nær tilknytning til genteknikken. Studiet av multiple DNA-kopier har i betydelig grad vært basert på DNA fra storfe.

Et viktig kapittel innenfor bioteknikken, - kunstig sædoverføring/dyppfrysing er imidlertid utelatt fra denne oversikten. Kunstig sædoverføring (KS) er nemlig for lengst blitt en integrert del av en tidsmessig husdyravl, og kunstig sædoverføring er derfor allerede inkludert i den spesielle avlslæra.

Det er ikke her i landet i bruk noe av den bioteknikk det er referert til i det etterfølgende, men en er ved flere av våre universiteter så smått kommet igang med forskning innenfor genteknikken.

I denne summariske oversikt over utviklingen innenfor bioteknikken, har en i stor grad hatt det avlsmessige aspekt i tankene. Det er først og fremst sannsynligheten for anvendelse i praktisk husdyravl, og i liten grad viktige fysiologiske og biokjemiske sider ved bioteknikken som er søkt belyst.

En takk til Torbjørn Almlid, Odd Arne Olsen og Nils Standal for råd og hjelp i samband med stoffvalget.

En hjertelig takk også til Reidun Pettersen for tekstbehandlingen og til Grethe Tuven for illustrasjonene.

desember 1982

Harald Skjervold

I. TRANSPLANTERING AV EMBRYO (eggtransplantering)

A. Forhistorie

Den første som lykkes med overføring av embryo fra et dyr til et annet var Heape. Han transplanterte i 1890 to embryo *) som var på 4-cellestadiet fra en kaninrase til en annen. Overføringen skjedde 32 timer etter paringen hadde funnet sted, og ungene ble født etter en normal drektighetstid.

I årene 1946-49 transplanterte Ole Venge nesten 15 hundre egg som et ledd i en undersøkelse over størrelsen av moreffekten på veksthastighet hos kanin. Fram til denne tid var det gjennomført bare sporadiske forsøk med transplantering av befrukta egg. Venge (1950) oppnådde en drektighetsprosent på 57 og med en overlevingsrate for transplanterte egg på 58%.

I praktisk husdyravl ble det i begynnelsen av 70-årene stor interesse for bruk av eggoverføring. Der var særlig to forhold som bidro til dette, nemlig:

- Den forskningsrapport om fostertransplantering på storfe som i 1969 ble presentert av Rowson og medarbeidere. Av denne rapporten gikk det fram at de hadde oppnådd en overlevingsprosent hos de transplanterte egg på 91. Både oppsamling og innlegging av egg var gjort ved bruk av kirurgiske inngrep.
- De store økonomiske interesser en registrerte i England, USA og Australia for import og oppformering av såkalte eksotiske kjøttraser. Det dreide seg om tilsammen 10-12 franske, italienske og tyske kjøttraser som det av veterinærmedisinske årsaker var lagt strenge importrestriksjoner på.

Den store økonomiske interesse knyttet til eggtransplantering resulterte i en intensivert forskning, - noe som førte til betydelige tekniske framskritt.

*) I det etterfølgende erstatter vi i blant det fremmede ordet embryo med egg, slik det ofte også gjøres i utenlandsk litteratur.

Eggtransplantering kan teoretisk sett tjene en rekke formål slik som:

- En sikrere vurdering av hunddyras avlsverdi.
- En rask oppformering av nytt dyremateriale.
- Produksjon av kjøttfe-avkom på spesialiserte mjølkeraser slik som Jersey og Guernsey.
- Økning av tvillingfrekvensen.
- Overføring av egg fra gode avlsdyr til bruksdyr.
- Eksport av befrukta egg isteden for livdyr.
- Grunnlag for helt nye avlsopplegg.

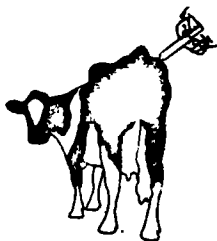
Lignende utnyttelse kan en tenke seg ved embryooverføring innenfor både sau, geit, svin og hest.

I USA og Canada ble det i 1980 foretatt ca. 10 tusen embryo-transplantasjoner hos storfe.

I alt var det i 1981 97 forskjellige stasjoner som arbeidet med eggtransplantering. Av disse firmaer arbeidet 93 med storfe, 16 foretok transplantering på hest og 7 med sau og geit, mens 6 også arbeidet med laboratoriedyr.

Eggtransplantering har altså hittil i alt vesentlig vært konsentrert om storfe. I den etterfølgende summariske oversikt skal vi derfor stort sett holde oss til transplantering hos storfe.

B. Superovulering.



Superovulasjon ved gonadotropin.

Et vesentlig argument for bruk av transplantering er det forhold at en ved hjelp av superovulering i sterk grad kan øke eggantallet hos de spesielt verdifulle hunddyr som nyttes som givere (donors). I de fleste tilfeller blir giverdyrene behandlet med gonadotropin (PMSG)* eller med follikkelstimulerende hormoner (FHS).

* PMSG er forkortelse for pregnant mare's serum gonadotropin.

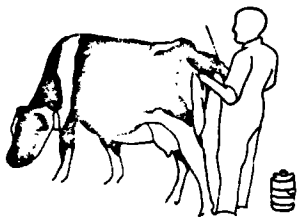
Det finnes nå svært mye litteratur om resultatene ved superovulasjon. Som et omtrentlig middeltall kan en anføre at en ved slik behandling oppnår en 8-10-dobling av antallet egg hos storfe, sau og geit, mens en ved superovulasjon hos svin oppnår 2-3 ganger det normale eggantallet.

I de senere år har en i samband med superovulering også begynt å gi en injeksjon av prostaglandin. Slik injeksjon blir samtidig gitt mottakerdyrene, og dermed har en minsket problemene med synkroniseringen (Gordon og Boland 1978).

Erfaringer med superovulering viser at giverne på grunn av behandlingen lett kommer i ulage, slik at en sjelden kan superovulere de mer enn 3-4 ganger. Amerikanske undersøkelser (Seidel 1981) viser at det i praksis tar 7 mndr. for å oppnå 3 superovuleringer hos ei ku, og det er mange eksempler på at en superovulering resulterer i slike forstyrrelser i seksualcyklusen at en kan tape en helt laktasjon. Seidel (1981) nevner at antallet avkom pr. superovulasjon varierer innenfor vide grenser, - fra 0 til så mye som 50 kalver. Denne variasjon resulterer selvsagt også i stor variasjon når det gjelder kostnadene ved eggtransplantering.

I Irland arbeider en spesielt med å kunne øke tvillingfrekvensen ved hjelp av eggtransplantering. På denne måte kan en få effektivisert storfekjøttproduksjonen betraktelig. Dette formålet krever selvsagt ikke spesielt selekterte givere.

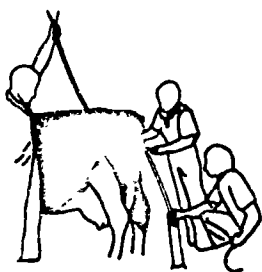
Gordon og Boland (1978) har utviklet en metode som tar sikte på to superovuleringer av kviger. Kvigene blir slaktet 4-5 dager etter siste inseminering, og eggene fra 2.superovulasjon samles altså opp etter slakting.



Inseminasjon skjer
5 dager etter
hormonbehandling.

Fra første superovulering har de i middel ikke fått stort mer enn ett befrukta egg, mens de fra 2. superovulering i middel har fått 8,5 befrukta egg. Dette gir som en skjønner en langt rimeligere eggproduksjon enn når en arbeider med spesielt utvalgte hunndyr. Gordon har antydnet at en ved å basere eggproduksjonen på kviger skulle kunne produsere befrukta egg til en pris i overkant av ett pund. (11-12 kr.)

Oppsamling av de befrukta eggene



Oppsamling av
egg.

Ubefrukta egg som skal befruktes in vitro må samles opp straks etter ovulasjonen. Eggene (embryoene) blir ellers samlet opp i tidsintervallet mellom befruktning og implantasjon, men vanligvis etter at det befrukta egget har kommet ned i uterus. ✓

Hos storfe og hest blir eggene samlet opp 6-9 dager etter brunsten er slutt. Ved en oppsamling senere enn etter 9 dager blir drektighetsresultatene noe dårligere, dette gjelder spesielt når en nytter operative inngrep hos kua. For om mulig å kunne foreta kjønnsbestemmelse på embryoene bør de helst ikke samles opp før 12-15 dager etter at brunsten er slutt.

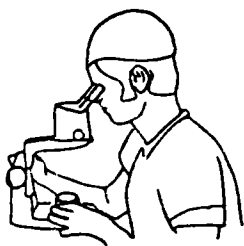
Fram til omkring 1975 ble såvel oppsamling som innlegging av eggene gjort ved kirurgiske inngrep. Fordi det lå så store økonomiske interesser bak transplantasjon (salg av avlsdyr) var det mulig å ta de høge kostnader ved transplantering basert på kirurgiske inngrep.

I 1975 brøt livdyrmarkedet for eksotiske kjøttferaser fullstendig sammen både i Amerika og i Australia.

Samtidig som dette skjedde ble det lansert metoder for oppsamling, - såvel som innlegging av egg uten å gå veien om kostbare kirurgiske inngrep. Denne nye, - og langt rimeligere teknikken bidro til at egg-transplantering har fortsatt å øke i omfang selv om det kanskje ikke er stor avlsgevinst i metoden.

Oppsamling av eggene skjer idag hos ku og hos hoppe ved utskylling. Til dette formål nyttes det et spesielt kateter. Fordi det hos sau, geit og svin er vanskelig å passere cervix med et kateter, må en hos disse husdyrartene fremdeles gå veien om kirurgiske inngrep ved oppsamling av eggene.

Ved å spyle ut eggene får en hos ku ikke tak i mer enn 50-80% av de embryo en ville ha fått samlet opp ved kirurgiske inngrep (Betteridge 1977), for hest ligger dette tallet på 40-90%. Ved slik ikke-blodig oppsamling er det mindre risiko for å skade hunndyra, og en har derfor større muligheter for å lykkes med gjentatte superovuleringer.



Eggene sjekkes.

Siden 1976 er ikke metodene for verken oppsamling eller innlegging av eggene blitt endret nevneverdig, og ifølge Seidle (1981) venter en heller ikke nevneverdige endringer i denne teknikken.

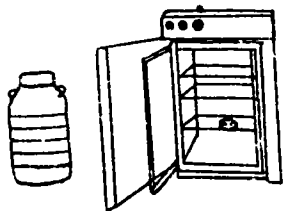
D. Synkronisering av brunsten hos mottager-dyrene.

Effektiv brunstkontroll er meget viktig i samband med egg-transplantering.

Vi har nå i et par tiår hatt gode metoder for synkronisering av brunsten, men ofte har drektighetsresultatene blitt noe dårligere ved synkronisering enn ved naturlig brunst. I de senere år er det imidlertid utviklet opplegg for synkronisering som gir meget nær samme drektighetsresultat som ved naturlig brunst. (Holtan og emdarbeidere 1977, Hanzel og Beal 1979).

Wright (1981) har jevnført drektighetsresultater ved eggoverføring i praksis og har fått følgende resultater:

- Drektighets-prosent ved innlegging på synkroniserte kyr 59% (1784 kyr).
- Drektighets-prosent ved innlegging på kyr med normal brunst 58% (661 kyr).



Korttidsoppbevaring av eggene ved 37°C eller langtidslagring i flytene N.

Hvis en har metoder for korttids,- eller langtidsoppbevaring av egg, slik at en har egg til disposisjon når mottakerdyra er brunstige, vil det strengt tatt ikke være nødvendig med synkronisering av brunsten.

E. Oppbevaring av befrukta egg.

Av mange årsaker er det nødvendig å kunne oppbevare embryoene en tid før de legges inn på mottakerdyret. Det kan f.eks. ta noe tid fra oppsamlingen inntil en rekker fram til mottakerdyret. Oppbevaring vil også være nødvendig ved kjønnsbestemmelse, in vitro befruktning og ved deling av embryo i samband med kloning (se kapittel III).

Embryo kan temporært oppbevares i børen til kaniner (Seidel 1981), men mest vanlig er det å oppbevare de in vitro i substrater.

Substratet må være slik at det gir mulighet for celledeling (vekst) hos embryo, men det kan også være nødvendig å endre miljøet slik at en stopper utviklingen.

De fleste media gir muligheter til oppbevaring av embryo fra noen minutter og opp til et døgn. Embryo hos storfe, sau og geit tolererer kjøling ned mot 0°C i noen dager uten nevneverdig tap, mens fostre av svin ikke kan kjøles lengre ned enn til 15°C (Betteridge 1977).

Eggene vil i de fleste tilfeller gjennomgå 1, men ofte 2 eller flere celledelinger mens de oppbevares i substratet.

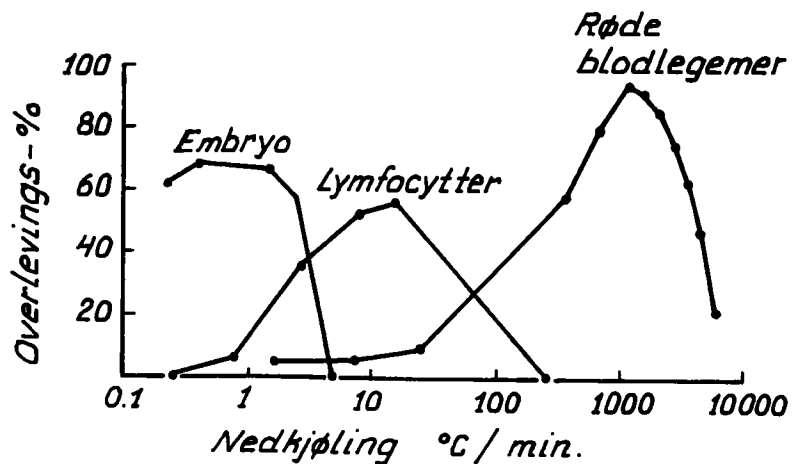
De viktigste ytre faktorer er temperatur, pH, osmotiske forhold samt oksygeninnhold.

F. Dypfrysing av eggene.

Det var i 1972 at Whittingham og medarbeidere første gang lykkes med å dypfryse embryo. Senere er denne teknikken utviklet slik at en i dag rekner med en overlevingsprosent på over 70.

For å motvirke skade på cellene under nedfrysingen har det vist seg mest effektivt med tilsetning av glyserol. En har i denne sammenheng høstet mye erfaringer fra dypfrysing av sæd.

Tempoet ved selve nedkjølingen viser seg å være svært viktig. Fordi et embryo er en såvidt stor partikkel jevnført med spermier, må nedkjølingen skje over en lengre tid. Som vist i Fig.1 oppnår en best overlevingsprosent når temperaturen senkes med ca. 1°C pr. minutt. Ved frysing av kvite, - eller røde blodlegemer skal som vist i Fig.1 nedkjølingen gå mye raskere.



Figur.1

Sammenhengen mellom temperatur ved nedfrysing av embryo og blodceller, og overlevingssevne (etter Leibo og medarb. 1978).

En har lite erfaring med andre oppbevaringstemperaturer enn det som tilsvarer flytende N, dvs. -196°C .

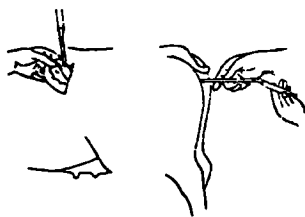
Hvor lang tid embryoene kan oppbevares nedfrosset vet en ikke, men Lyon og medarbeidere (1981) rapporterer samme drektighetsresultat av embryo som har vært dypfrossent i 5 år jevnført med hva han fikk ved implantering av egg som var oppbevart i substrat inntil 24 timer etter oppsamlingen. En antar nå at eggene kan oppbevares dypfrosne over flere ti-år.

Hvor raskt opptiningen skjer, viser seg å ha stor innvirkning på overlevingsprosenten til eggene. Forsøkene viser at det optimale tempo under tiningen er avhengig av tempoet ved nedfrysingen. ✓

Et praktisk problem ved bruk av nedfrosne embryo er det forhold at de for innlegging må vaskes rene for glycerol. Embryo må derfor før innleggingen tas ut av strået for "vasking".

Metodikken med bruk av dypfrosne embryo er etter hvert blitt utviklet slik i USA at innleggingen nå kan skje ute i besetningene etter omtrent samme metode som ved KS.

G. Innlegging av eggene



Innlegging av egg.
Idag mest vanlig
gjennom cervix.

Erfaringsmessig er en kommet til at det gunstigste tidspunkt for innlegging er 1-3 dager etter opphør av brunsten for ku, geit og sau, mens 1-2 dager er det optimale for svin.

Ved innlegging av noe "eldre" egg (embryo) vil en ikke ha nevneverdig nedgang i overlevingsprosenten hos ku om en utsetter innleggingen til mellom dag 5 og 10. De fleste innlegginger pr. ku skjer idag mellom dag 5 og 8. Hos svin går imidlertid overlevingsprosenten ned om en legger inn eggene senere enn på dag 6. Hos purke har det ellers vist seg at det er viktig hvilken side av børen eggene deponeres i. Hvis en deponerer fostrene i det motsatte børhorn til den eggstokk der ovulasjonen har skjedd, blir resultatet mye dårligere. Dette er påvist av en rekke forskere. Hos purker løsner det alltid egg fra begge eggstokkene.

Undersøkelser av Betteridge (1977) viser ellers at en oppnår størst drektighetsprosent om en legger inn 2 egg. Dette har resultert i en drektighetsprosent på 75, (det har da vært nyttet egg med en overlevingsprosent på 50-60).

Hvilken innvirkning utviklingsstadiet til eggene har for drektighetsresultatet går fram av en undersøkelse av Wright (1981) basert på et stort tallmateriale.

	Utviklingsstadium	Drektighets-%	
<p>Drektighetsundersøkelse.</p>	Morulastadium	44	<p>9 mndr-senere.</p>
	Sen morula	53	
	Tidlig blastocyst	65	
	Blastocyst	66	
	Sen blastocyst	64	

Siden 1976 har det vært en gradvis overgang fra innlegging ved operativt inngrep til innlegging gjennom cervix. I USA var det i 1981 mer enn halvparten av alle overføringer som skjedde ved innlegging gjennom cervix.

De fleste undersøkelser indikerer noe bedre drektighetsresultat ved kirurgiske inngrep, men metoden har såvidt mange svakheter at den ser ut til å gå ut av bruk.

H. Eggproduksjon på slaktekyr, - produksjon av tvillinger.

Transplantering er svært arbeidsintensiv og krever i tillegg høgt kvalifisert personale, metoden blir derfor svært kostbar.

Fra USA foreligger det 4 ulike kalkyler over kostnadene ved transplantering (Seidel og medarb. 1981). Kostnadene varierte mellom 2348 og 2788 dollar. Fra Vest-Tyskland foreligger det et kostnadsoverslag utarbeidet av Brem (1979). Han kom fram til en utgift på ca. 4 tusen kroner pr. kalv. Tilsvarende beregninger er presentert av det engelske tidsskriftet The Economist i 1979 som konkluderer med en kostnad pr. kalv på 3800 kroner.

I alle disse kalkyler er det oppsamling av egget som utgjør den største posten. Fordi en her plasserer verdifulle kyr på spesielle klinikker og fordi en stor del av disse kyr får reproduktive forstyrrelser i samband med superovulasjonen blir det svært store kostnader pr. egg. Det er derfor ikke overraskende å finne at denne metoden bare har fått noe omfang i samband med spekulasjoner på livdyrmarkedet.

Som nevnt s.6 er det i Irland gjort forsøk på å øke tvillingfrekvensen ved hjelp av transplantering. Ved en slik problemstilling kan kostnadene ved selve eggproduksjonen bringes ned til et minimum. Under forhold hvor det er mangel på spedkalv kan metoden da muligens bli konkurransedyktig.

Det var i årene 1975-79 en viss frykt for at vi her i landet ville få for lite spedkalv for å tilfredsstille behovet i storfekjøttproduksjon. Vi snakket om at spedkalvreserven var oppbrukt.

Denne frykt ga argumenter for å øke kutallet, men samtidig økte vi slaktevektene, og på toppen av dette ble subsidiene på kjøttet redusert slik at prisene økte betydelig. Disse forhold resulterte i et overskudd isteden for mangel på storfekjøtt.

En diskusjon om å nytte eggtransplantering for å kunne øke tvillinghyppigheten kan derfor på nåværende tidspunkt synes malplassert. Faktum er imidlertid at det her i landet i 1979 for alvor ble diskutert å starte opp undersøkelser med sikte på å kunne øke tvillingfrekvensen på denne måten.

Det er meget sannsynlig at vi ved fostertransplantering har en metode til å øke spedkalvtallet uten at vi behøver en tilsvarende økning av kutallet.

Tabell 1 gir et begrep om hvilke muligheter vi her har for økning av tvillinghyppigheten. I dette forsøket ble det lagt inn 2 egg, ett i hvert børhorn, men videre hadde de et forsøksledd der de 5 dager etter inseminasjonen la inn et 5 dagers embryo i tillegg.

Tabell 1.

Resultater fra et forsøk med det formål å øke hyppigheten av tvillingfødsler. (Etter Anderson 1979).

	5 dager etter siste brunst ble det lagt inn 2 befrukta egg (fostre)		Dyrene ble inse- minert, men i til- legg ble det 5 dager senere lagt inn <u>ett</u> befrukta egg (embryo)	
	Kyr	Kviger	Kyr	Kviger
Antall dyr	21	21	17	18
% drektige	71	81	71	50
% tvillingfødsler	71	73	82	56

Som det går fram av tabellen er det ved en kombinasjon av kunstig sædooverføring og eggtransplantering mulig å oppnå en meget høy frekvens av tvillinger.

Beredskapsplan. Tenker vi oss transplantering brukt for å "produsere" tvillingpar, blir det ikke lenger samme krav til mordyrene. Hvis vi tar sikte på å produsere spedkalver for kjøttproduksjon, kan vi se bort fra avstamningen til mødrene. Dermed kan vi konsentrere "eggproduksjonen" på slaktekyr og således bli i stand til å produsere embryo til kostnader som ligger langt under det som er vanlig i samband med eggtransplantering idag.

Vi kan her tenke oss følgende opplegg:

1. Unge kyr som utrangetes vil som regel ikke være inseminert. Ved innmelding av slike slaktedyr gis det opplysning om dato for siste brunst.
2. Et visst antall dager før neste brunst blir kyrne sendt slakteriet og oppstallet på et spesielt fjøs. Kyrne blir superovulert og senere inseminert med herefordsæd.
3. Fem til seks dager etter inseminering blir kyrne slaktet og eggene spylet ut og dypfrosset. Zeilmaker og Verhamme (1979) har vist at oppsamling etter slakting byr på mange fordeler.
4. Fem dager etter inseminering blir det så på en del av mjølkekyrne lagt inn et egg som er en kryssing, feks. (NRF x Hereford).

Eggproduksjon basert på slaktekyr er fullt forsvarlig når vi som i dette tilfelle ikke har noe behov for avstammingsopplysninger. Alle avkom etter transplantering skal jo brukes i kjøttproduksjon og er lett kjennlige fordi de har kvitt hode.

Denne metoden skulle lede til minimale produksjonskostnader pr. egg, og metoden skulle også gi oss et tilstrekkelig antall befrukta egg. Som nevnt s. 7 rekker Gordon med en kostnad på ca. 1 pund Sterling pr. befrukta egg.

NB
Z

Idag rekner en med 5-6 drektigheter pr. superovulering, og det skulle således ikke være noe problem å produsere det nødvendige antall egg.

La oss anta at 30 tusen kyr ble satt inn i eggproduksjon før slakting. Dette ville teoretisk sett gi grunnlag for 180 tusen tvillinger, eller tvillingpar på ca. halvparten av kyrne. Dette er selvsagt langt mer tvillingfødsler enn hva som kan bli nødvendig, men illustrerer at metoden teoretisk sett skulle gi oss så mange kalver som vi i det hele tatt kan ha bruk for.

30x6

Komplikasjoner. Det er sannsynligvis mange problemer i samband med et slikt opplegg, og mye forsknings- og utviklingsarbeide gjenstår før et slikt system eventuelt kan tas i bruk i praksis.

Av slike spørsmål kan nevnes:

- Redusert mjølkeavdrått i samband med tvillingfødsler.

En har forholdsvis gode estimater av den innvirkning tvillinger har både på inneværende drektighet og etterfølgende laktasjon. Det totale tap i redusert avkastning har Syrstad (1974) anslått til 250 kg, men etter som en heller ikke har førkostnader på denne produksjon betyr det ikke så mye rent økonomisk sett med den avdråttsevne vi har hos kyrne idag.

- Kalvingsvanskeligheter i samband med tvillingfødsler.

De resultater som er referert fra litteraturen varierer en god del, fra ingen ekstra kalvingsproblemer til betydelig mer kalvingsproblemer med tvillingfødsler.

- Tilbakeholdt etterbyrd.

Tidligere var det erfaringen at tvillingfødsler ledet til mer tilbakeholdt etterbyrd. Nå, med bedre føring synes denne effekten å være redusert i betydelig grad.

- Sterilitet hos kvigekalv født som tvilling med okse.

Hos ulikekjønnede tvillingpar er som kjent 90% av kvigene sterile, men vil det samme være tilfelle når vi legger inn et embryo i tillegg til insemineringen? Den føtale placenta hos de to kalver vil jo i dette tilfelle være "ubeslektet" og kanskje får vi en annen frekvens av sammenvoksning.*

- Drektig bare med det foster som ble innplantert.

Etter inseminering + fostertransplantasjon vil vi i 30% av drektighetene få bare en kalv. I halvparten av disse tilfellene vil kalvene trolig være en kjøttfekreysing som således ikke kan nyttes for rekruttering av besetningen.

I. Den økonomiske konsekvensen ved eggtransplantering.

Den biotekniske nyskapning som er kommet nærmest en praktisk anvendelse er åpenbart overføring av embryo.

Etter at interessen for livdyreksporten til Amerika brått tok slutt, har en begynt å drøfte den plass dette hjelpemiddel kan tenkes å få i framtidens husdyravl.

De mulige avlsmessige fordeler/økonomiske konsekvenser ved slik transplantasjon er behandlet i flere arbeider. **

De mulige avlsmessige konsekvenser av fostertransplantering kan struktureres slik:

* Regner vi som et tankeeksperiment at det på 50% av kyrne ble lagt inn et egg noen dager etter inseminering, ville vi få dette talleksempel:

50% x 70% drektighet = 35% drektige etter KS + eggoverføring

35% x 70% tvillingfrekvens = 24,5% av kubestanden drektige med tvillinger

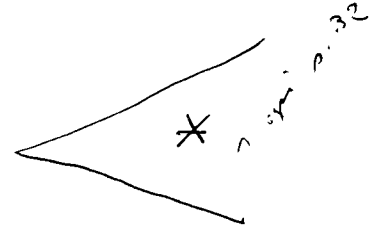
Ulikekjønnet tvillinger = 12,2% av kalvingene

Freemartine tvillinger = 11% av kalvingene

Sterile NRF.kviger i 5,5% av tilfellene.

** Skjervold (1974), Cunningham (1976), Van Vleck (1976), Petersen og Hansen (1977), Van Vleck (1981), McDaniel og Cassell, (1981), Smith (1982).

- Økt seleksjonsintensitet blant hunddyr på grunn av større formeringsevne.
- Økt sikkerhet ved utvalg av avlsdyr på grunn av:
 - mulig avkomsgranskning av hunddyr
 - mulig å foreta en fullsøskentest
- Økt effektivitet innen kryssingsavlen.
- Økt tvillingfrekvens.
- Estimering av størrelsen av moreffekten.



1. Økt seleksjonsintensitet blant hunddyra.

a. Seleksjon av mødre for rekruttering av hunddyr.

I storfeavlen blir det idag satt på nærmere 90% av kukalvene. Seleksjonsdifferansen på leddet mødre-døtre er derfor minimal. Ved transplantering kunne en kanskje greie seg med å sette på bare en tredjedel eller kanskje en fjerdedel av kyrne. Dette ville representere en flerdobling av seleksjonsdifferansen på dette leddet.

Fordi leddet mødre-døtre ikke medvirker til mer enn ca. 10% av avlsframgangen, vil ikke eggtransplantering for rekruttering av kubsetanden resultere i noen nevneverdig effektivisering av avlen.

Van Vleck (1976) har søkt å estimere hvor mye det over en 10-årsperiode er verdt pr. årsku om en ved hjelp av eggtransplantering kunne bli istand til å rekruttere besetninger ut fra den beste 10% av kyrne, i steden for som nå den beste 90%. Beregningene viser at en under amerikanske prisforhold for slik teknikk kunne betale 10,70\$ pr. ku og år.

Som vi ser (s.13) er dette bare en brøkdel av det det koster å transplantere et egg. Det er med andre ord lite sannsynlig at eggoverføring kommer til å få så stort omfang at en kan basere rekruttering av kubestanden på denne teknikk.

En har trolig dekning for denne konklusjon også når det gjelder kjøttfeavl, småfe- og svineavl. Innenfor hesteavl

(sportshest) kan det økonomisk sett bli mulig å betale langt mer for eggtransplantering.

I denne betrakningen er det ikke tatt omsyn til at ved bruk av superovulering/eggoverføring for rekruttering av kubestanden lett kunne få frigjort halvparten av kyrne for produksjon av kjøttfekreysinger. Tar en omsyn til dette, kan en sannsynligvis tåle flere ganger den embryo-pris som Van Vleck kalkulerte med.

b. Seleksjon av mødre for rekruttering av hanndyr.

Etter som dette leddet (f.eks. oksemødre) bidrar forholdsvis mye til avlsframgangen og fordi omfanget av transplanteringer kan begrenses til potensielle elitedyr, er det bedre muligheter for å kunne mestre den økonomiske side ved transplanteringen.

Den avlsmessige gevinst ved å kunne øke seleksjonsintensiteten blant oksemødrene, avhenger i betydelig grad av den seleksjonsintensitet vi har fra før.

Hvis f.eks. tilslutningen til kukontrollen er såvidt liten at en må nytte beste 5% av kyrne til oksemødre, vil det bety en økning av seleksjonsdifferansen med hele 29% om vi takket være embryotransplantasjon kan bli istand til å selektere så sterkt som den beste 1% av kyrne. En tilsvarende 5-dobling av seleksjonsintensiteten ved å ~~gå~~^{gå} fra beste 1% til beste 0,2% av kyrne vil øke seleksjonsdifferansen med 19%. Cunningham (1975) har illustrert dette i tabell 2.

NR

Tabell 2.

Virkninger av eggtransplantasjoner på seleksjonsdifferansen ved utvalg av oksemødre (etter Cunningham 1976).

Aktuell seleksjons- intensitet for oksemødre % selekterte	Antall oksekalver pr. eliteku pr. år			
	1	5	10	15
	Relativ adråttsevne			
Svak (beste 5%)	100	131	141	147
Moderat (beste 3%)	100	127	136	141
Sterk (beste 1%)	100	117	125	125

Med utgangspunkt i normale forhold, er det siste linje i denne tabellen som er av interesse, og større kull enn 5 oksekalver pr. superovulert ku er ikke realistisk. Altså kan superovulering av elitekyr neppe resultere i mer enn 17% økning i seleksjonsdifferansen. Når representerer leddet oksemødre - sønner ca. 1/4 av avlsframgangen. Superovulering av oksemødre vil derfor kunne resultere i en økning av avlsframgangen med ca. 5%.

Med de kostnader en har ved fostertransplantering idag, er det vel bare såvidt at avlsgevinsten ville dekke kostnadene med superovulering/fostertransplantasjon. Innenfor svin- og småfeavl der en har større formeringsevne hos hunndyr, ville det trolig være enda mindre å vinne ved slik teknikk.

2. Økning av sikkerheten ved avlsdyrutvalget.

I praktisk husdyravl er det som kjent sjelden en kan gjøre bruk av avkomsgransking av hunndyr. Dette skyldes ikke bare at antallet avkom ofte er svært lite, men skyldes også risiko for systematiske feil på grunn av maternal effekt eller fordi en kan ha signifikant dominanseffekt innen grupper av fullsøsken, men framfor alt at hunndyra blir for gamle før de rekker å bli avkomsgranska.

Ved en eventuell overgang til transplantering kunne en øke antallet avkom vesentlig, og således også kunne få avkomsgranska hunndyra ved en lågere alder. Det kunne også i samband med superovuleringen komme på tale å inseminere med en "standard sædblanding". Dermed kunne en få flere fedre bak avkomsgruppen, og fordi en får endel halvsøsken, vil eventuell dominanseffekt bli mindre utslagsgivende. Etter som embryoene blir båret fram av flere forskjellige hunndyr, blir det heller ikke systematisk maternal effekt mellom avkomsgrupper.

Selv om en baserer superovulasjonen på kviger, vil giverne allerede ha fullført 3.laktasjon ved det tidspunktet avkomsgruppen har fullført 1.laktasjon. Avhengig av arvbarheten må en ha fra 10 til 15 avkom for å få tilsvarende informasjoner om kuas avlsverdi, som det en kan slutte ut fra 3.laktasjon. Slik avkomsgransking kan under ingen omstendigheter omfatte mer enn en liten del av kyrne fordi en må ha en stor andel av kyrne til å bære fram fostrene.

Vi kan vel fort bli enige om at superovulasjonen bare i beskjedne grad vil kunne øke sikkerheten i avlsdyrutvalget i mjølkeproduksjonen.

Innenfor kjøttfeavlen er trolig denne effekten noe større. Når det gjelder egenskaper slik som veksthastighet, forutnyttelse og slaktekvalitet, vil en ved bruk av superovulasjon/fostertransplantering kunne ha riktige informasjoner om avkommet ved det tidspunkt mordyret starter sin 2.laktasjon. En vil her videre kunne ha informasjoner om viktige egenskaper en ikke kan teste på mordyret (slaktekvalitetsegenskapene).

Selv om vi her på grunn av transplantasjon får viktige informasjoner som grunnlag for avlsdyrutvalget, synes kostnadene ved embryotransplantering ennå å være alt for høye jvnført med mulig avlsgevinst.

3. Økte muligheter for utnyttelse av heterosiseffekten.

Ved bruk av eggtransplantering vil det i praksis ikke være noen slektskap mellom fosteret og det dyr som bærer fram fosteret.

Dette betyr at vi på en forholdsvis enkel måte kan kombinere full maternal heterosiseffekt med full heterosiseffekt for produktegenskaper.

Vi kan f.eks. legge inn kryssingsfostre etter to utvalgte kjøttferaser på mjølkekyr som er kryssing mellom to fremragende mjølkefepopulasjoner (eller på kyr fra syntetiske populasjoner).

En tilsvarende strategi kan selvsagt tenkes innenfor kjøttfe og innen andre kjøttproduserende husdyr.

Vinningen ved et slikt avlsopplegg vil selvsagt kunne variere, men det skulle ikke være vanskelig å estimere vinningen ved en slik avlsmetode jevnført med vanlige avlsopplegg.

De mulige fordeler ved et slikt hybridopplegg er sannsynligvis såvidt store at en kunne bære større kostnader pr. fosteroverføring enn det Van Vleck (1976) antydte i samband med seleksjon av kumødre (se s.18) ✓

Ellers vil bruk av embryotransplantering gjøre det enklere å omgå de problemer vi møter med negativ genetisk korrelasjon. Ved eggtransplantering vil det således i praksis bli enklere å praktisere opplegg med spesialiserte far-og morlinjer.

4. Økt tvillingfrekvens.

Det skulle være forholdsvis greit å estimere tilleggsverdien av en tvillingkalv på grunnlag av eggtransplantasjon.

Vi får da følgende regnestykke:

	Utgift	Inntekt
Verdien av en ekstra spedkalv		x
Kostnad ved innlegging av embryo (2 "insemineringer")	x	
Redusert mjølkeavdrått hos kua	x	
Tap pga. 1 steril kvigekalv pr. 5 tvillingkalver ekstra	x	
Økt fórutgifter (fostertillegg)	x	
Mulige tap ved økte kalvingsvansker	x	
BALANSE: Det en kan betale for 2 fostre	x	

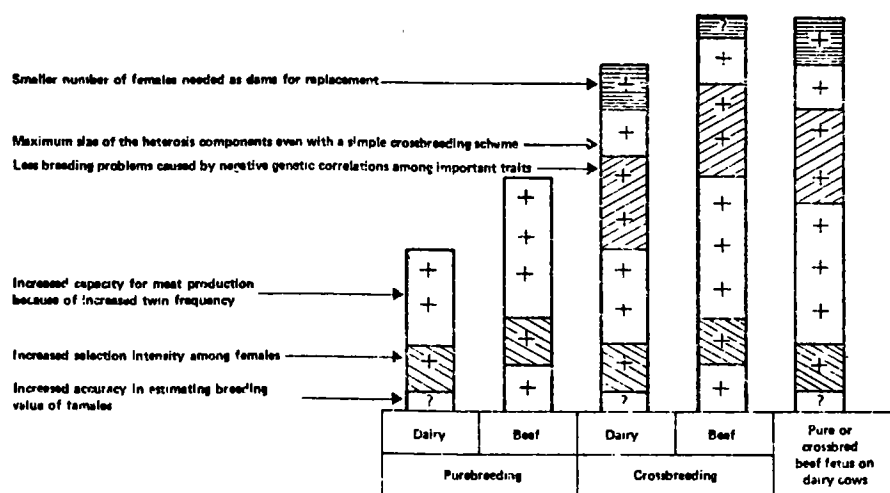
Det er sannsynlig at denne form for transplantering tåler høgre transplanteringskostnader enn de foregående anveldelsesmetoder.

5. Estimering av maternal effekt.

Transplantering av embryo, og spesielt i kombinasjon med kryssfostring, gir oss de aller beste muligheter til å estimere maternal effekt.

Ved denne teknikk kan vi lett skille prenatal effekt fra postnatal maternal effekt. Transplantasjon kan således i enkelte tilfeller medvirke til en sikrere estimering av avlsverdien.

Et resymé av disse betraktninger er illustrert i Figur 2.



Figur 2.

Mulige fordeler ved bruk av eggtransplantering i storfeavl (etter Skjervold 1974).

De største mulighetene ved superovulering/transplantasjon i storfeavl ligger sannsynligvis i økning av tvillinghyppigheten, og spesielt gjelder dette kjøttfeavl der formerings- evnen til hunndyra i vesentlig grad innvirker på produksjons- kostnadene. Metoden kan også, spesielt innenfor kjøttfeavl, bli viktig når det gjelder en effektiv utnyttelse av hetero- siskomponentene.

Det er imidlertid vanskeligere å se noen betydelige fordeler ved denne teknikk innenfor svin- og småfeavl, - dette bl.a. fordi formeringsevnen blant hunndyra er så mye større enn hos storfe.

Transplantering kan derimot meget vel bli aktuell innenfor hesteavlen. Vi har her visse økonomiske likhetstrekk til avlsdyreksporten av eksotiske kjøttferaser.

Nå er det ikke usannsynlig at superovulering/fostertransplantering i kombinasjon med skreddersydde avlsopplegg meget snart kan komme til anvendelse i praktisk storfeavl. Denne problematikken er drøftet i neste kapittel.

J. Spesielle avlsopplegg basert på eggtransplantering

Utviklingen innenfor transplanteringsteknikken har nå kommet så langt at en begynner å tenke seg spesielle avlsopplegg basert på denne formeringsmetoden.

Vi skal i denne sammenheng kort referere et forslag til et slikt avlsopplegg fremsatt av Nicholas og Smith (1983) (Dette opplegget er kalt MOET-systemet, en forkortelse av Multiple Ovulation and Embryo Transfer).

Nicholas og Smith har på grunnlag av modellberegninger jevnført effektiviteten av et tradisjonelt avlsopplegg (avkomsgranskningen i kombinasjon med en omfattende kukontroll) med et MOET-system begrenset til en enkelt besetning på ca. 250 mjølkekyr.

De rekner med at en i rasjonelle seminavlsopplegg maksimalt kan oppnå en avlsmessig framgang for mjølkeavdrått på år på 2% pr. år.* De minner likevel om at en i svært mange populasjoner har en avlsframgang på ca. 0,5% pr. år. Van Vleck (1981) sier i denne sammenheng:

* Fordi seleksjonen også omfatter andre egenskaper enn mjølkeavdrått kan en i praksis ikke forvente stort mer enn 1% avlsframgang pr. år (Syrstad 1974).

"Proper application of AI could increase genetic progress for milk yield to a 4 times what has occurred".

"Selection for sires of sons and sires of cows has not been nearly as intense as recommended according to theory".

Dette avlsopplegg (MOET) er karakterisert ved:

1. Sterk reduksjon av generasjonsintervallet jevnført med vanlige avlsopplegg.

Reproduksjon av hunndyr baseres på kviger selektert etter avstammning og slektninger i sideledd.

Kvigene superovuleres ved 12 mndrs. alder og insemineres med "eliteokser". Avkommet etter eggtransplanteringen blir født når den genetiske mor er 1,8 år (generasjonsintervall mødre-døtre = 1,8 år).

Seleksjon av oksemødre baseres på 1.laktasjon, på avstamning samt på slektninger i sideledd. Superovuleringen skjer altså ved en alder på 1 år + én drektighet + 1 laktasjon, dvs. ved ca. 35 mndrs. alder. Mødrene er altså 3,7 år når sønnene fødes (L=3,7 år).

2. MOET-systemet må på grunn av vesentlig kortere generasjonsintervall tolerere mindre sikkerhet når det gjelder vurderingen av avlsverdien.

Seleksjon av oksemødre baseres altså på bare ett avdråttår + avstamning samt slektninger i sideledd. Ennå større reduksjon i sikkerhet på avlsdyrvurderingen får vi hos mødre til hunndyr der vi ikke har noen egenavdrått hos mødrene.

Denne minskning i sikkerhet er ifølge Smith (1982) kompensert gjennom reduksjon av generasjonsintervallet.

3. Seleksjon av oksene er basert på avstamning og ett avdråttår til mødrene, samt på avkastningen første år til fullsøstre (fra samme superovulering) og fra halv-søstre (andre superovuleringer).

4. MOET-systemet er konsentert til én stor besetning. I kalkulasjonen er det forutsatt 224 kyr. Fordi det aktive dyretallet er så lite er det overkommelig å foreta detaljerte registreringer som også kan inkludere fórutnyttelse.
5. MOET-systemet er "selvforsynt" med registreringer slik at en ikke er avhengig av en omfattende kukontroll. En har således avstått fra å bruke det viktigste av alle hjelpemidler i seminavlen, nemlig avkomsgranskingen.
- Selv om en her er avhengig av en omfattende bioteknikk (superovulasjon, eggoverføring osv.), blir disse utgiftene små jevnført med det en sparer på kukontroll.

Nicolas og Smith forutsetter at en starter med en besetning av kviger etter eliteparinger (elitekyr x eliteokser). Om nødvendig bør en importere elitedyr fra andre populasjoner.

I hvert av de første 4 årene selekteres henholdsvis 15, 15, 10 og 10 dyr for superovulasjon. Disse blir inseminert med sæd fra de 5-10 beste avkomsgranska okser innenfor USA, Canada, New Zealand og Storbritannia.

Ved gjentatte superovuleringer rekner de med i middel ca. 9 kvigekalver pr. mordyr og år.

Ved en slik foredlingsstasjon får vi en aldersstruktur slik det er vist i tabell 3.

For kyr, der en bare har en superovulasjon er det reknet med 4 effektive kukalver pr. giver (mordyr). Disse kyr forutsettes inseminert med de ungoxer innenfor avlsheter som er forventet å ha den høgste avlsverdi (vesentlig på grunnlag av avstamning og søskentest).

For å unngå vanskene ved seleksjon på grunn av overlapping av generasjonene, deler en opp superovuleringen i 4 kvartaler, slik at seleksjonen av kyr for superovulering er de 8 beste av 32 isteden for de 32 beste av 128. ✓

Denne plan forutsetter at det settes på en ungekse pr. "kull" (superovulering) og at ungekse blir beholdt inntil en har fått dypfrosset tilstrekkelig med sæd etter dem.

Innenfor kvartal-grupper selekteres en okse fra beste kull (1 av 16) sammen med de 16 førstekalvskyr som har den beste indeks.

De 16 selekterte førstekalvskyr er inseminert med sæden fra den selekterte okse eller fra en av toppoksene i de to foregående kvartal-grupper. Fordi en opererer i tidsintervall på 3 mndr. blir altså ikke førstekalvskyrne paret om igjen før en kjenner laktasjonavdråttens deres (det blir altså et svært langt kalvingsintervall).

Smith (1982) kalkulerer med en genetisk framgang for mjølkeavdrått på 2,26% pr. år i et slikt opplegg, dette jevnført med en framgang på 2,0% ved et effektivt opplegg som bygger på kukontroll og avkomsgransking.

Det er forutsatt at en slik foredlingsstasjon, skal rekruttere oksematerialet ved seminastasjonene. Fordi en har så stor avlsframgang og fordi en ikke tar sikte på avkomsgransking, vil en skifte ut seminoksene etter en kort tid, og erstatte de med "yngre og bedre".

Dette opplegget innebærer en økning av innavlskoeffisienten på 0,3% pr. år, eller omtrent 3 ganger det en har i et ordinært avlsopplegg. Det er i beregninger av avlsframgangen korrigert for dette, men likevel vil det trolig en gang iblant bli nødvendig å nytte en avkomsgranska eliteokse.

Tabell 3.

Antall hunndyr i de ulike aldersklasser i en MOET populasjon (Etter Smith 1982).

Ar	Alder i år					Kontrakt- paringen ved MOET
	0-1 Kalver	1-2 Drektige	2-3 1.lakt.	3-4 2.lakt.	4-5 3.lakt.	
1						15
2	128					15
3	128	128				10
4	88+50*	128	128			10
5	88+50*	128	128	MOET 32**		
6	128+100*	128	128	MOET 32**	32	
7	128+100*	128	128	MOET 32**	32	

* Avkom etter vanlig reproduksjon fra kyr som ikke ble selektert for superovulasjon.

** De beste 32 kyr selekteres for superovulasjon i de senere generasjoner

MOET-systemet ser spesielt interessant ut under forhold der en har dårlig utbygd kukontroll, slik at en har problemer med å gjennomføre avkomsgranskinger. På den annen side kan det synes tvilsomt om en allerede har så gode tekniske resultater ved superovulasjon, at en kan satse et avlsopplegg fullt og helt på dette.

Nå innebærer MOET en sentralisering av storfeavlenn i en hittil ukjent grad. Et avlsopplegg som innebærer at alt salg av avlsokser blir overlatt til en livdyrprodusent, vil utvilsomt bli vanskelig å markedsføre.

Denne sentralisering blir imidlertid tillagt positiv vekt av Nicolas og Smith, idet de konkluderer med: "Finally and perhaps the most important in achieving the responses possible, the breeding and selection would be under control of a single agency, so that selection differentials on defined breeding criteria could be realized in practise."

Ellers er selvsagt et så sentralisert foredlingsopplegg beheftet med risiko på grunn av sykdom, som følge av uhell, eller på grunn av feilaktige disponeringer.

Den vinningen som skulle ligge i nedbyggingen av kukontrollen er vel også tvilsom. Her i landet f.eks. har tilslutningen til kukontrollen fortsatt å stige lenge etter at en kom opp på det nivå som var nødvendig for samvirkeavl. Som påvist av Elvhaug (1982) er de fordeler bonden har av kukontrollen såvidt store at selv om en ikke tar med de avlsmessige fordeler, vil en likevel ha dekning for kontrollutgiftene.

En avgjørende svakhet ved MOET-systemet er at en ved å sløyfe avkomsgranskingene får problemer med å få tatt omsyn til egenskaper med spesielt låg arvbarhet (sjukdoms-egenskaper, enkelte komponenter ved fruktbarheten osv.) MOET-systemet kan likevel viser seg å være aktuelt for private firmaer som ønsker å gå inn i storfeavl.

Når en, på tross av disse innvendinger, har gått såvidt mye inn på dette MOET-opplegget, er det fordi dette forslaget kan vise seg å bli forløperen til de avlsopplegg som blir aktuelle ved det tidspunkt at splitting av embryo (kloning) eventuelt introduseres i praktisk husdyravl. Denne problematikken vil bli drøftet nærmere i Kapittel II.

Litteratur

- Andersson, 1979. Journal of Dairy science.
- Bartlett, G.L. and Kreider, J.W. 1978. Cancer Immunol. Immunother. 3, 213.
- Betteridge, K.J. 1977. Monograph 16. Canada Department of Agr., Ottawa.
- Brem, G. 1979. Ph.D. Dissertation, Ludwig-Maxmillians-Universität, Munich.
- Cunningham, E.P. 1976. Egg Transfer in Cattle, Rolvson Luxemburg.
- Elvhaug, G. 1982. Buskap og Avdrått nr. 3.
- Gordon, I, and Boland, M.B. 1978. World Rev. Animal Prod. 14.
- Hansel, W. and Beal, W.E. 1979. In "Animal Reproduction, BARC Symposium 3" pp. 91-110.
- Heape, W. 1890. Roy. Soc. London 48
- Holtan, D.W., Douglas, R.H. and Ginther, O.J. 1977. J. Anim. Sci. 44, 431-437.
- Leibo, S.P. 1980. J. Membr. Biol. 53, 179-188.
- Leibo, S.P. and Mazur, P. 1978. In "Methods in Mammalian Reproduction". pp. 179-201. Academic Press, New York.
- Lyon, M., Glenister, P. and Wittingham, D.G. 1981. Frozen Storage of laboratory Animal Embryo. Gustav Fisher Verlag, Stuttgart.
- McDaniel and Cassell 1981. J. Dairy Sci. 64.
- Nicolas and Smith, Ch. 1983. J. Dairy Sci. (under trykking).
- Pettersen and Hansen, 1092. Livestock Prod. Sci. 4.
- Robertson, A. 1957. Optimum group size in progeny testing and family selection. Biometrics 13.
- Seidel, G.E. jr. and Seidel, S.M. 1981 a. Science (Washington D.C.) 211, 351-358.
- Skjervold, H. 1974. Egg transplantation Symposium, Hållsta, Sverige No. 76.
- Smith, Ch. 1982. A proposal for use of a MOET-system for dairy cattle breeding in Britain (foredrag under EAAP-kongressen, Leningrad 1982).

Syrstad, O. 1974. Avlsframgang for mjølkeavdrått innen NRF.
Melding nr. 53I, nr. 14.

Van Vleck, L.D. 1976. J. Dairy Sci. 59.

Venge, O. 1950. Acta Zoologica, 31.

Whittingham, D.G., Leibo, S.P. and Mazur, P. 1972. Science
(Washington, D.C.) 178, 411-414.

Wright, J.M. 1981. Theriogenology 15, 43-56.

Zeilmaker og Verhamme, 1979. Cytobiology 16.

Steenen J.M. 1983. Veterinary Record, Ireland.



II. KLONING

"Sexual reproduction is a game of chance"
(G.E.Seidle 1980).

"Nevertheless, sexual reproduction has nearly always been
the winner in evolution"
(Maynard Smith 1978).

Gametene inneholder som kjent bare en tilfeldig halvdel av de alleler vi finner hos henholdsvis mor og far. Dette resulterer i et tilnærmet uendelig antall genkombinasjoner. Den kjente reproduskjonsfysiologen Seidle har derfor dekning for sin påstand om at kjønnslig formering er et "sjansespill".

Denne mangfold av genetiske kombinasjoner er på samme tid en "assurance" for at det blant avkommet er genotyper som har muligheter for å overleve.

Avslæren er som kjent i alt vesentlig opptatt av mulighetene for å kunne redusere frekvensen av ugunstige genkombinasjoner blant avkommet. For dette formål er det utviklet avanserte seleksjonsmetoder som jevnt og sikkert endrer genfrekvensen i ønsket retning. Vi kjenner imidlertid ikke metoder der vi i kombinasjon med kjønnet formering er istand til å eliminere den genetiske variasjon blant avkommet.

Kloning av pattedyr. Kjønnet formering er åpenbart viktig når det gjelder å oppnå en tilpassing til miljøforholdene, men bidrar også til økt fitness og dermed evolusjon.

Med dette som bakgrunn kan det virke noe eiendommelig med den store interesse vi i de senere år har fått når det gjelder å utvikle metoder for kloning av pattedyr (husdyr).

Ordet klon har vi fått fra gresk språk. Med en klon forstår en et ungt skudd eller en kvist. Dette ordet har fått ulike meninger, bl.a. ikke-kjønnet formering, noe som resulterer i genetisk sett identiske individer.

Når en i snever betydning snakker om kloning av pattedyr, mener en transplantering av cellekjerner fra somatiske celler til en oocyt eller et embryo som består av bare en celle. Ikke-kjønnert formering eller kloning i videre betydning skjer naturlig hos pattedyr når embryo deler seg og gir opphav til eneggede tvillinger og kanskje endog eneggede trillinger.

Det er flere metoder for kloning i den videste betydning av begrepet, - nemlig at en oppnår genetisk sett identiske individer. Vi skal i det etterfølgende drøfte noen av disse formeringsmetoder.

A. PARTHENOGENESE (jomfrufødsel)

Med parthenogenese forstår vi formering uten at avkommet mottar noen gener fra spermier.

Dette er en kjent formeringsmetode hos lågerestående arter. Det er ellers påvist hos en rekke hvirveldyr, men dog ikke hos pattedyr.

Parthenogenese er kjent hos kalkun, men vi må til krypdyrene eller fiskene før denne formeringsform blir mer vanlig.

I samband med utviklingen av eggcella er det på flere stadier hvor utviklingen i retning av normal haploid kjønnselle kan forstyrres, slik at vi ender opp med en diploid sekundært oocyt. (Se fig. 7).

Planmessig framstilling av parthenogenese ved en systematisk undertrykkelse av reduksjonsdelinga (mitosis) ville kreve en grundig kunnskap til mekanismen bak selve reduksjonsdelinga. Undertrykking av reduksjonsdelinga og samtidig aktivering av oocytten slik at den utvikles selv om den ikke smelter sammen med sperm, ville kunne bli en ideell metode for kloning.

Den aktivering som skjer i samband med befruktningen gjør at oocytterne hos de fleste hvirveldyr er på vei bort fra den kviletilstand (metabolisk) som gametene har befunnet seg i. På dette tidspunkt er det 2. pollegeme skjøvet bort, og fosterutviklingen starter (Fig. 8). Slik utvikling kan starte selv uten tilstedeværelse av sperm, men det sperm som medvirker til befruktningen er vanligvis det som setter igang prosessen. En metode for å oppnå parthenogenese er å nytte spermier som gjennom bestråling har fått ødelagt sin arvemasse. Denne metode for gynogenetisk fremstilling av haploider har vært nytte^t i avlsforsøk med laksefisk (Refstie og medarbeidere 1977). ✓

Slik gynogenese kunne også tenkes nyttet hos pattedyr, men da fortrinnsvis ved in vitro befruktning, men hittil er det ikke oppnådd positive resultater ved denne metoden.

Hos mus har en oppnådd befruktning ved bruk av bestrålte spermier, men det har resultert i abnorme fostre. Hvis en derimot bestråler spermene sterkere har de ikke vært istand til å aktivere eggcella slik at celledelingen starter.

Hittil er det ingen som ved hjelp av bestråling av spermene har lyktes med å fremstille parthenogenese hos pattedyr, men forskerne mener fortsatt at dette burde være mulig.

Det har vært forsøkt en rekke kjemiske midler for fremkalling av parthenogenese hos pattedyr, men stort sett har de alle slått feil. At pattedyrene er de eneste hvor det ikke lykkes å frembringe partheogenese, indikerer at det av evolusjonsmessige årsaker kan være utviklet en barriere som hindrer parthenogenese. Det er i denne sammenheng blitt antatt at spermene i tillegg til aktiveringen av egget og medvirkning til arvemassen også har en tredje oppgave, nemlig å medvirke til et normalt diploid individ. ✓

Denne hypotesen har vært forsøkt testet ved å ta bort spermier etter at de har trengt inn i og aktivert eggcella, men heller ikke dette leder til parthenogenese.

B. IDENTISKE (ENEGGEDE) TVILLINGER

Eneggede tvillinger, trillinger osv., er eksempler på at kloning forekommer også hos pattedyr. Identiske tvillinger oppstår ved at en befrukta eggcelle deler seg i to celler som hver for seg utvikles til et individ. Det er en slik deling av embryo på 2.- eller 4.-cellestadiet som nå gjøres ved teknisk inngrep og altså er en form for kloning.

Ved å studere kjønnsproporsjonen blant tvillinger er det mulig å få et estimat av frekvensen av eneggede tvillinger. Hvis vi ikke har eneggede tvillinger og kjønnsproporsjonen er 0,5, skulle frekvensen av likekjønnede tvillinger (L) være lik frekvensen av ulikekjønnede tvillinger (U). På grunn av tilfeldigheter og på grunn av fosterdød vil en i praksis kunne ha avvik fra dette 1:1-forholdet uten at det skyldes forekomst av eneggede tvillinger.

Hvis N er det totale antall tvillingpar, kan en estimere frekvensen av eneggede tvillinger \underline{m} ut fra formelen: ✓

$$m = (L-U)100/N$$

Denne formelen forutsetter at kjønnsproporsjonen er 0,5, men feilen på estimatet av \underline{m} er ubetydelig så lenge kjønnsproporsjonen ligger innenfor intervallet 0,485 til 0,515.*)

Bulmer (1970) har på samme måte utviklet formelen for estimering av frekvensen av monozygotiske og frekvensen av dizygotiske trillinger. Resultatet fra en slik studie over kjønnsproporsjonen, samt frekvens av monozygotiske tvillinger og trillinger hos sau er gjengitt i tabell.4.

*) Hos mennesker er ca. 5% av de likekjønna tvillingparene enegget, det tilsvarende tall er hos storfe ca. 7%.

Tabell 4. Kjønnsporsjon samt frekvensen av monozygotiske tvillinger og trillinger (Skjervold 1979).

Burd	Antall	Kjønnsporsjon
Enkeltlam 1974-77	88658	49,23±0,16
Tvillinger "	158508	48,97±0,09
Trillinger "	15097	48,71±0,23

Av de likekjønna tvillingparene er 0,91% monozygotiske
 " " trillingparene er 0,55% "

De første forsøk på å dele embryoer med sikte på kloning ble gjort av Seidel 1952. Han delte (knuste) 2-celle-embryo hos kanin og overførte de til hunner og fikk normal fosterutvikling og levende-fødte unger.

Senere er det utviklet en teknikk med mikrokirurgi for deling av 2-celle-embryo (Moustafa og Hahn 1978).

Delingen skjer ved hjelp av to mikromanipulatorer (Leitz), som er koblet til et spesielt mikroskop. Ved hjelp av dette instrument kan en ved mikropipetter skille cellene fra hverandre.

Slike adskilte celler plasseres i en "surogat-zona pellucida", nemlig i et agarmedium. Etterpå deponeres disse cellene i børen for noen dager. I løpet av denne tida begynner de å vokse samtidig som de skiller seg med overtrekket av agar. På dette stadium greier embryoene seg uten zona og de kan transplanteres til det hunndyret der fosterutviklingen kan skje.

Siden 1980 er det ved hjelp av denne teknikk foretatt et stort antall slike manipuleringer innenfor både storfe, sau og hest. Separeringen av celler kan også gjøres på 4- og 8- "cellestadiet". Dette er i realiteten kloning i vid forstand. Slik teknikk kan ha betydning for fremstilling av genetisk like dyr for forsøksformål.

Det er også antydnet at slik form for ukjønnnet formering kunne få praktisk betydning i noen husdyrarter. Med slik metodikk

kunne en således tenke seg å legge inn ett av fosteranleggene, mens de andre dypfryses. Bare i de tilfeller hvor det første individet viser en tilfredsstillende fenotype, er det så aktuelt å utvikle de identiske genotyper som har vært fryse-lagret. ✓

Denne forskningen kan få betydning for den videre utvikling innenfor bioteknikken, men den umiddelbare praktiske (avlsmes-sige) nytte synes avhengig av om en kan splitte igjen og igjen etter som enkeltcellene har utviklet seg til 4- eller 8-cellestadiet.

Dette er en såvidt arbeidsintensiv metode at den neppe i nær framtid kan bli økonomisk regningssvarende innenfor selve husdyrforedlingen. Den genetiske gevinst ved en slik metode synes relativt liten jevnført med kostnadene.

Derimot er det ikke usannsynlig at det vil kunne lønne seg med en slik produksjon av monozygotiske tvillinger, trillinger eller firlinger for bruk i fôringsforsøk.

C. FREMSTILLING AV FULLSTENDIGE HOMOZYGOTER VED HJELP AV KLONING.

I kreft-terapien er det i de senere år nyttet en cellegift Cytochalasin B som har den egenskap at den hindrer celledeling, mens delingen av cellekjernen skjer som normalt (se s.35). Dette stoffet vil således kunne resultere i kromosomfordobling (tetraploid).

Snow (1973) publiserte et arbeide der han behandlet 2-celle-embryo med Cytochalasin B, og fant i noen tilfeller celler med to kjerner. Etter første celledling ble så Cytochalasin B vasket bort og celledelingen fortsatte med dobbelt sett av kromosomer, slik at en fikk tetraploide fostre.

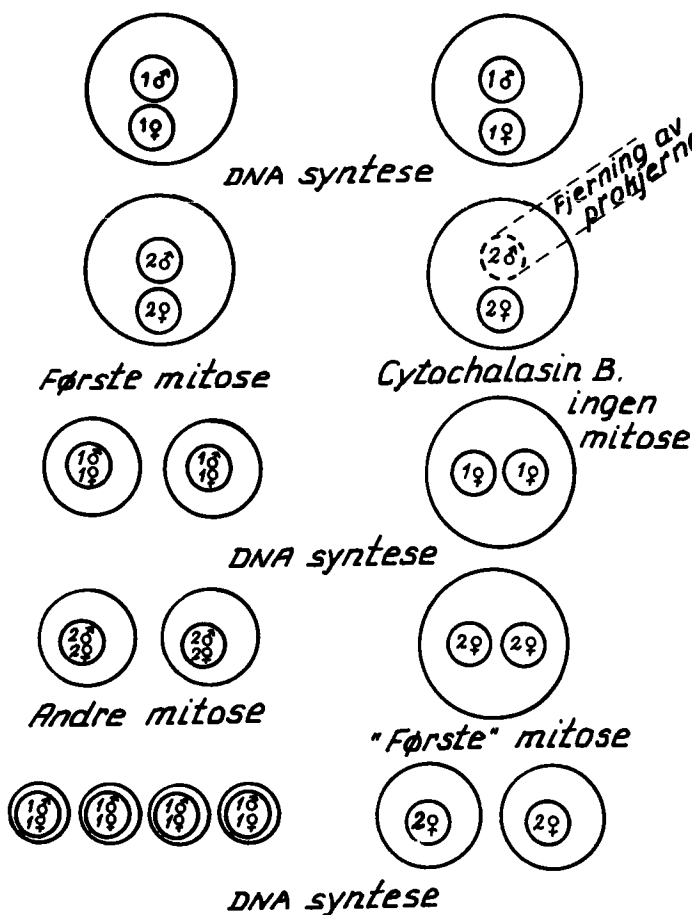
Disse resultater med bruk av Cytochalasin B ledet til forsøk i retning av å produsere diploide med utgangspunkt i haploide, -altså med utgangspunkt i egg og sperm. Hvis dette lot seg

gjennomføre, ville vi få individer som var fullstendig homozygote. Slike individer ville være bare hunnkjønn fordi homozygote YY-genotyper er letale. ✓

Hvis vi kan kalle et enkelt hunndyr for en linje, ville en hos mus kunne produsere en fullstendig homozygot linje i løpet av 3 uker, mens det tar mange år å få til dette gjennom systematisk innavl.

Alle eggene til en slik homozygot ville selvsagt være identisk. Hvis en derfor gjentar denne behandlingen av eggene med etterfølgende transplantering av de kromosomfordobla eggene, skulle en på denne måten kunne få en pattedyr-klon. Denne teknikken er illustrert i Fig. 3.

Potensialet for en slik metodikk på arter med lange generasjonsintervall er meget interessant.



Figur 3
Produksjon av homozygote diploide embryo. Venstre side illustrerer hva som skjer normalt ved utvikling av et foster. Den store sirkel illustrerer (egg)-cella, mens den lille sirkel illustrerer kjernen. Innen de små sirkler er merket hvilket kjønn DNA-inneholdet stammer fra. Høyre side viser de ulike trinn i retning av utviklingen av et homozygot diploid embryo. Som en ser, fjerner en en av pronuclei (pro-kjernene) ved hjelp av mikrokirurgi før den første normale celledeling (mitose). Så settes det til Cytochalasin B som resulterer i kjernerdeling, men ikke i celledeling. Etterpå fjernes dette stoffet og vanlig celledeling resulterer nå i diploide celler, men alt DNA stammer fra mora. (Etter Brackett og medarb. 1981).

Teknikken ved fremstilling av homozygoter.

Den kirurgiteknikk som nyttes ved slik fremstilling av homozygoter er ikke vesens forskjellig fra den som nyttes i kloning, - altså ved transplantering av cellekjerener. (Se s. 112 b).

Det nyttes to mikromanupulatorer som holder pipettene som kan beveges innenfor petriskåla der egget er plassert. En av pipettene nyttes for å holde egget på plass når en med den andre pipetten går gjennom zona pellucida for f.eks. å suge ut den ene prokjernen. Det er understreket at det er viktig å nytte svært tynne pipetter, - og det rådet synes logisk. Det er ellers nevnt at det er vanskeligere å oppdage og å fjerne prokjerner fra egg hos storfe og hos svin. Dette fordi det er en slags plomfefarge hos cytoplasma.

De egg som en nytter for slike eksperimenter er oppsamlet noen få timer etter befruktningen, på det tidspunkt er de to kjerner mest synlig.

Før en starter inngrepet, fjernes de omkringliggende celler ved hjelp av en svak kjemisk oppløsning. Membranen til prokjernene er elastisk og ganske sterk, slik at de kan suges ut av cellemembranen uten å sprekke. ✓

Behandlingen med Cytochalasin B varer noen timer og etterpå starter den celledeling som resulterer i diploid embryo. In vitro kan disse utvikles fram imot morulastadiet, men da må de transplanteres.

Det er allerede tusener av eggceller fra mus som har vært behandlet på denne måten, men bare et lite antall har resultert i avkom. Inntil midten av 1981 var det bare Hoppe og Illmensee (1977) som hadde dokumentert positive resultater ved slik teknikk. Disse forskerne hadde fått 7 museunger som resultat av slik kloning. Det var her nyttet hanner med en dominant fargetegning, slik at en helt sikkert kunne identifisere de ungene som ikke hadde noen far!

To av de 7 ungene stammet fra den prokjernen som kom fra sperm. Halvparten av spermene er jo bærere av X-kromosomer, og når det skjer en kromosomfordobling, får vi et hunnlig avkom som i dette tilfelle har far men ikke noen mor. ✓

De andre 5 avkom nedstammet fra den prokjernen som tilhørte egget. Dette viser at begge prokjernene kan fordobles og gi opphav til diploid avkom. Disse dyrene har senere formert seg på normal måte.

Teoretiske begrensninger

Det forhold at en ikke har hatt større tilslag i form av levende unger kan ha sin årsak i den fullstendige homozygoti vi har hos slikt avkom. Det faktum at en i alle fall har lykkes, viser imidlertid at vi her har en metode for fremstilling av absolutt identiske avkom.

I de forsøk som er referert ble det nyttet dyr fra innavlede muselinjer. En må anta at problemene med letale i samband med fullstendig homozygoti vil være betydelig større hos husdyr der en ikke har sterkt innavlede linjer.

Hvis imidlertid slik metodikk ble forholdsvis rimelig, ville vi her ha en unik metode når det gjelder studier i økt grad av homozygoti. Etter som en her opererer med bare det ene kjønn, er det selvsagt ikke mulig å vedlikeholde en slik homozygot linje uten å gå veien om bioteknikk.

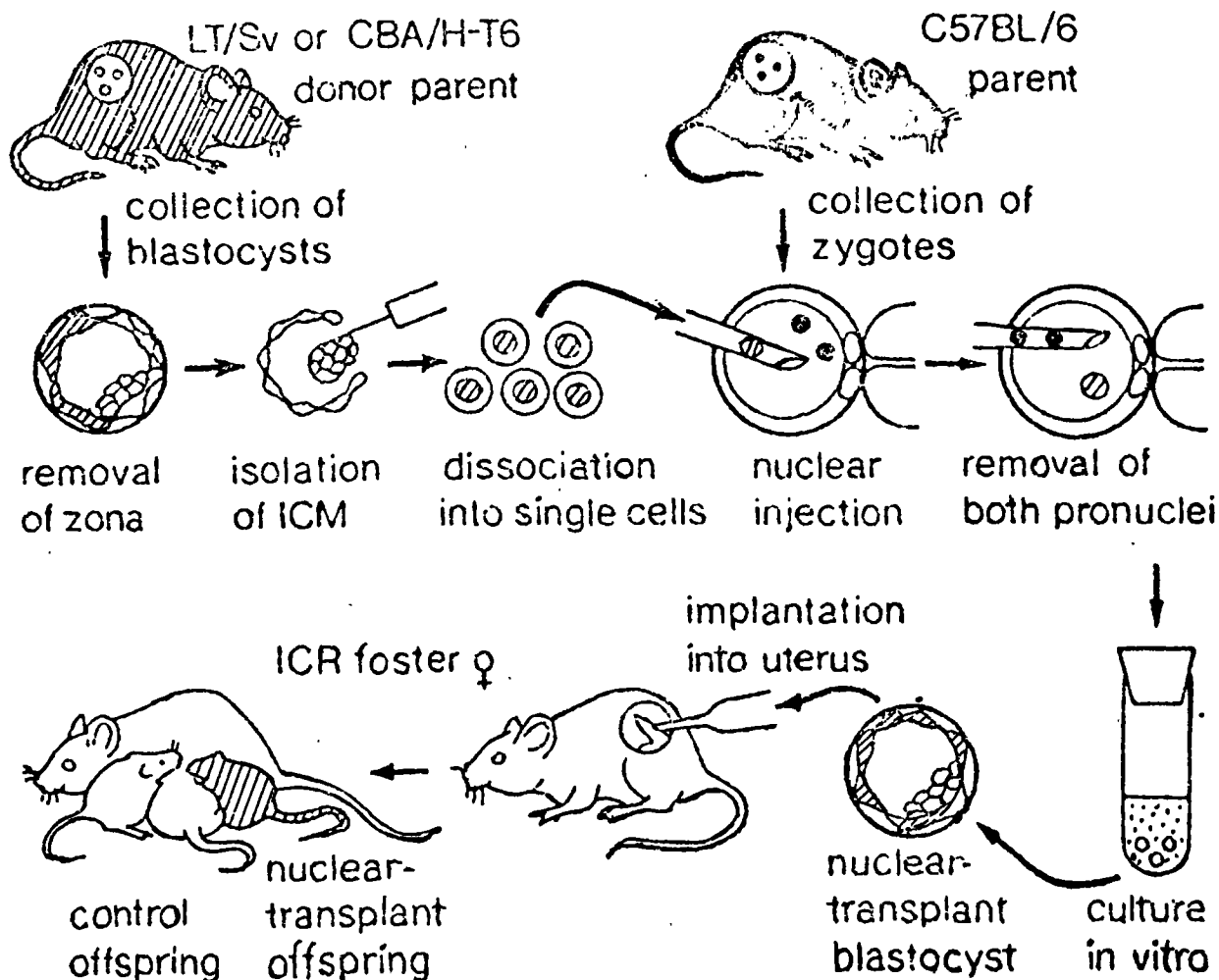
D. KLONING VED OVERFØRING (TRANSPLANTERING) AV CELLEKJERNER

Kloning ville representere det virkelige store gjennombruddet avlsmessig sett, om vi kunne transplantere somatiske cellekjerne fra selekterte dyr til zygoter der en samtidig fjerner prokjernene. Det er denne form for bioteknikk den amerikanske journalisten D. Rorvik fantaserer om i sin bok "In his Image, - the cloning of a man". Det er dette aspekt ved kloning som har ført til de etiske innvendinger mot kloning.

Nå er imidlertid saken den at en ikke oppnår vekst av celler som har fått transplantert somatiske cellekjerne. Arsaken til dette er at en hos differensierte celler bare har en del av genene i aktiv fase, mens størsteparten av genene (en antar ca. 90%) er "slått av".

Uten at en kunne bli istand til å retardere den differensieringsprosess som har skjedd, har en heller ikke til disposisjon de genetiske koder som er ansvarlig for vekst og utvikling av et nytt individ. Det finnes grundige utredninger som konkluderer med at det ikke synes sannsynlig at en kan bli istand til å oppnå vekst av celler hvis deres cellekjerne erstattes med cellekjerne fra differensierte, - somatiske celler. (Talmage 1979, Sakano et al. 1980).

Det lengste en hittil har kommet i denne sammenheng er de resultater som er oppnådde av Illmensee og Hoppe (1981). Disse forskerene gjorde følgende: (Se fig. 4).



Figur 4.

Illustrasjon av kloning ved transplantering av cellekjerne fra en blastocyst til et befrukta egg der en samtidig har fjernet de to prokjerner. Etter Illmensee og Hoppe (1981). Se videre tekst side 41 og 43.

1. Ved hjelp av mikrokirurgi samlet de opp celler fra blastocyster hos mus.
2. Ved en spesiell behandling fikk de cellene til å skille lag slik at cellekjernene opptrådte enkeltvis.
3. En slik cellekerne ble ved mikrokirurgi plassert i en befrukta eggcelle fra en annen mus, samtidig fjernet en begge de to prokjerner (den som stammer fra egget og den som stammer fra spermier).
4. Slike eggceller med nye cellekjerne ble dyrket i næring-substrat.

5. Når celledelingene hadde kommet så langt at embryo var kommet til blastocyt-stadiet ble disse embryo transplantert til en tredje mus som bar fram ungene.

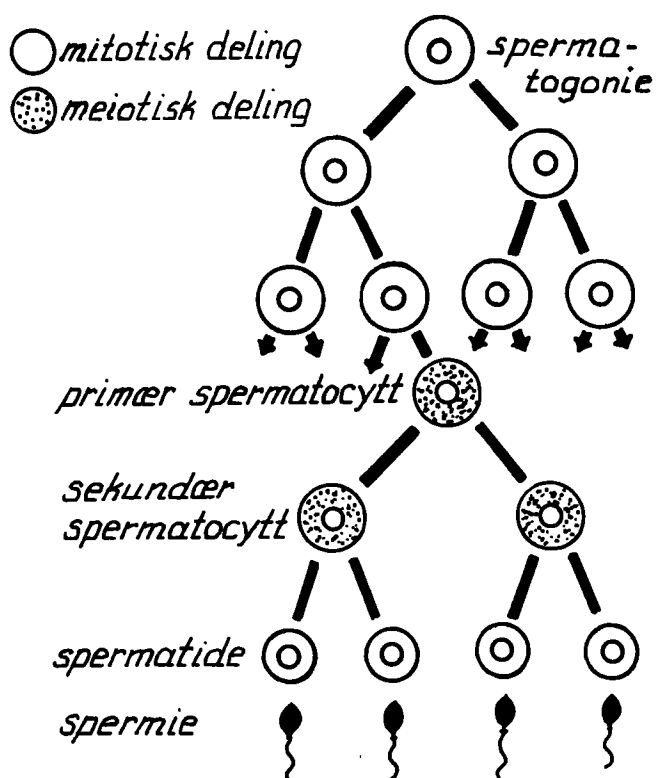
Illmensee og Hoppe fikk ved hjelp av denne metodikk 3 levendefødte unger. En har senere ved omfattende analyse av kroppsproteinene vært istand til å bevise at disse 3 dyra genetisk sett er lik embryoene til mus nr. 1, det er altså bevist at det har skjedd en kloning.

Dette er den første vitenskapelige beretning om kloning av pattedyr ved hjelp av transplantering av cellekjerne.

Forskerne er selvsagt opptatt av mulighetene for å kunne basere kloningen på cellekjerne fra individer som har kommet så langt i sin utvikling at en har kunnet vurdere deres fenotype (genotype) for økonomisk viktige egenskaper.

Det kan muligens finnes en utvei ved å ta cellekjernen fra spermatogonier. Dette er diploide celler (Fig. 5) som er morceller for spermene og som muligens ikke er differensierte på samme måte som vanlige somatiske celler. DiBernardio og Hoffman har gjort forsøk med å overføre slike cellekjerne hos frosk. De fikk imidlertid ikke noen utvikling av de celler som hadde fått transplantert cellekjerne.

Det finnes ennå ingen forsøk der det har lyktes med transplantering av cellekjernene fra spermatogonia, men en kan kanskje ikke helt utelukke mulighetene for at slik kloning lar seg gjennomføre i framtiden.



Figur 5.

Umodne sædceller (spermatogonier) i testikkelen deler seg ved mitose og blir til primære spermatocytter. Disse deler seg ved meiose og blir dermed sekundære spermatocytter. Ved en meiose deler hver spermatocyst seg i to spermatider som endelig modnes til spermier (etter Amundsen 1977).

E. AVLSOPPLEGG I TILFELLE DET I PRAKSIS BLIR MULIG MED SPLITTING AV EMBRYO (KLONING).

Selv om vi som tidligere nevnt kan se bort fra mulighetene for å kunne klonе somatiske celler, kan kloning basert på splittning av embryo likevel bli av stor avlsmessig betydning.

Utviklingen er nå kommet så langt at vi kan tenke oss at celler fra splitta embryo, etter at de i vekstsubstrat har startet celledeling, igjen og igjen blir splitta. Vi vil da med utgangspunkt i ett eneste embryo kunne få en klon som består av et stor dyretall, altså en stor gruppe genetisk sett identiske dyr.

Hvis vi tenker oss at en splitter embryo på 4-cellestadiet, og rekner med at 3 av 4 celler starter deling i vekstmediet, og rekner (romslig) med en uke mellom hver splittning, vil vi etter 10 uker kunne ha en klon på over 59 tusen fostre for dypfrysing eller transplantering.

Nå vil en før en starter oppformeringen av embryo måtte foreta kjønnsbestemmelse. Dette kan ifølge Bretteridge og medarbeidere (1981) skje ved en alder av 15 dager.

For storfekjøttproduksjonen kan det meget vel bli aktuelt å lage hanndyr-kloner. Meget nærliggende ville det da være å krysse med sikte på en maksimal utnyttelse også av heterosis-effekten og splitte slike fostre.

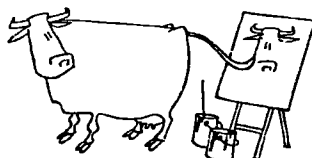
Ved bruk av slik kloning kan en se tre ulike trinn når det gjelder muligheter for genetisk framskritt.

1. Det første trinnet, - det første framskrittet, har en gjennom utvalget av foreldre til det embryo en splitter. En vil her få en avlsframgang presis den vi oppnår når vi selekterer dyr for eliteparinger. Rekner vi med den seleksjon vi har bak eliteparingene her i landet, skulle disse embryo ha en genotype for mjølkeavdrått som ligger ca. 8% over populasjonsmidlet (Syrstad 1974). Med en avlsframgang på 1,3% pr. år betyr det at disse embryo genetisk sett ligger ca. 6 år foran populasjonsmidlet (Fig.6)
2. Den andre fase av avlsframgangen kommer gjennom seleksjon blant de kloner vi startet med. Når det gjelder valg av testingspolitikk for kloner møter vi et velkjent problem innenfor populasjonsgenetikken. Det gjelder å finne fram til det optimale testings/seleksjonsopplegg.

De variable vi står ovenfor er:

- Testingskapasitet. Det totale antall dyr som kan testes.
- Antall kloner
- Arvbarhet. NB! Arvbarhet i videste forstand. (H^2)

Smith (1982) har beregnet at ved en testingskapasitet på 10.000 dyr og med $H^2=0,3$ vil en ved et optimalt seleksjonsopplegg komme til å selektere kloner som ligger 1,68 fenotypiske standardavvik over middeltallet for de 830 kloner som testingen omfattet.* (se neste side) Dette tilsvarer det en ved et rasjonelt seminopplegg kan greie på 15-18 år (Figur 6).



Kopiering

3. Den tredje fase i dette genetiske utviklingsarbeide består i sammenparing av selekterte kloner. I denne sammenheng er det nærliggende å tenke seg et MOET-system slik vi har beskrevet side 25.

Vi antar at så snart en har testet klonene, velger en ut et begrenset antall av dem. Disse blir (i år 4) paret med sikte på å gi basispopulasjonen for videre avlsmessig framgang (både additivt og ikke-additivt!).

Etter som vi ikke kan pare sammen "ku-kloner" må en nytte en av følgende to alternativ:

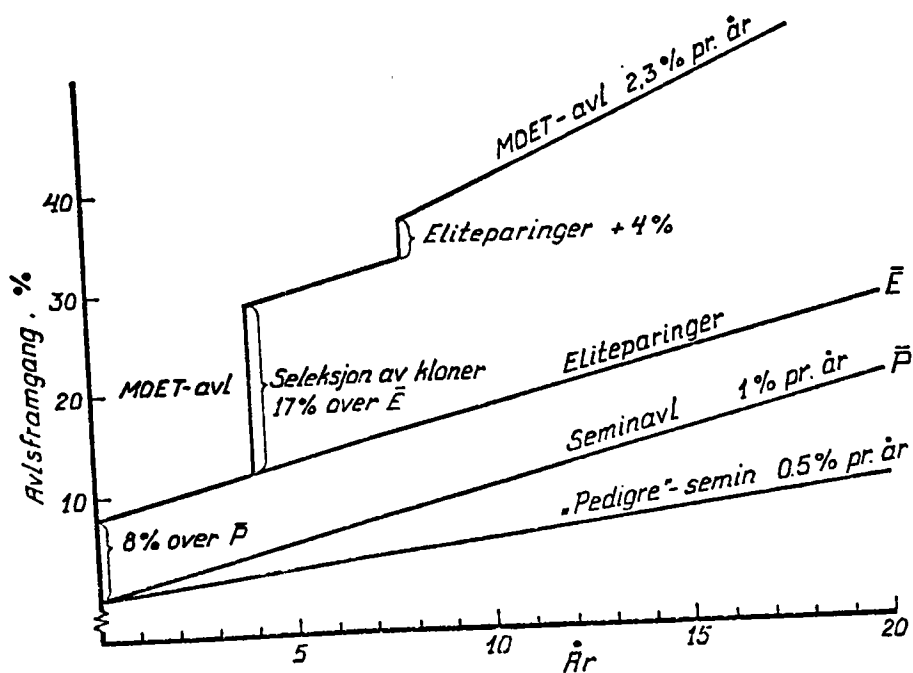
- a) Pare hunndyr fra de utvalgte kloner med de absolutt beste av de avkomsgranska okser som finnes.
- b) Å utvikle hanndyr-kloner gjennom indirekte seleksjon for viktige maternale karakterer (f.eks. mjølkeavdåttsevne).

Ved "år 8" skulle vi slik det er vist i Fig. 6 være i full gang med MOET-opplegget. Hvis dette opplegget virkelig gir en avlsmessig framgang på 2,3% pr. år, skulle fostertransplantering i kombinasjon med kloning, kunne gi muligheter for en sterk effektivisering av avlsarbeidet. ✓

* Vi kan i dette tilfelle bruke formelen til Robertson (1957) utviklet for avkomsgransking. Estimert avlsframgang angitt i genetiske standardavvik (ΔG_g) blir:

$$\Delta G_g = iH^2 \sqrt{\frac{n}{1+(n-1)H^2}}$$

der i = standardisert seleksjonsdifferanse
 n = det optimale antall testdyr pr. klon.



Figur.6.

Skisse av mulig avlsframgang i tilfelle vi kan gjøre bruk av både embryotransplantering og splitting av fostre (kloning). Skissen er basert delvis på tall fra Nicholas og Smith (1983).

En kan summere opp de mulige fordeler og mangler ved kloning slik:

Fordeler

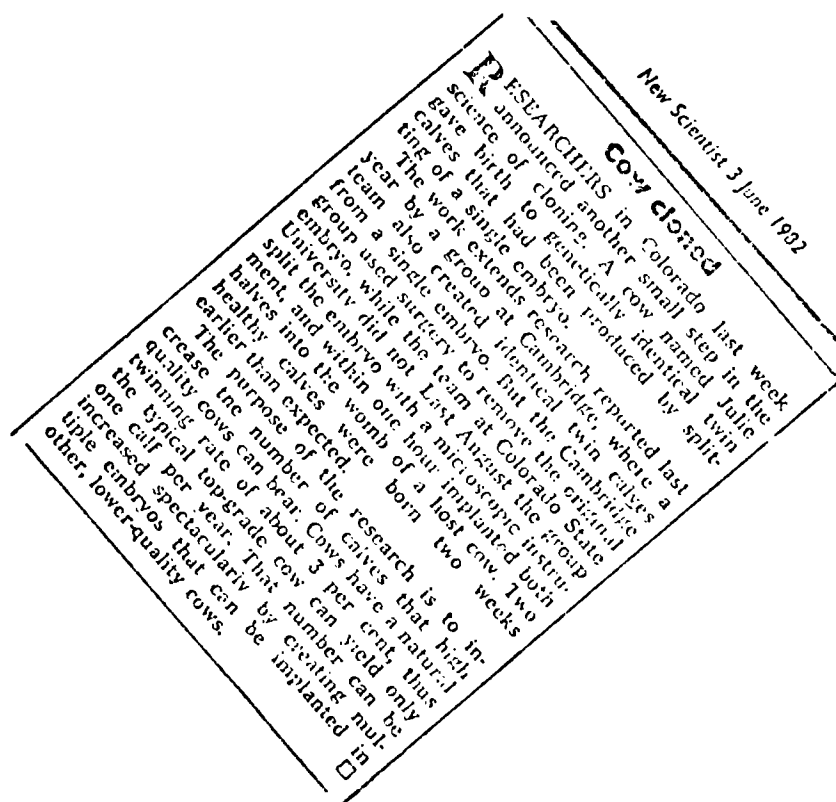
1. Kloning gir muligheter til å eliminere genetisk variasjon.
2. Kloning er en rask metode for produksjon av innavlslinjer
3. Det kan teoretisk sett bli mulig å dele opp embryo, slik at en får 4-8 kopier. Ved å fryse de fleste inntil en kjenner fenotypen til noen av dem, kan en så konsentrere produksjonen om de beste dyr.

4. Hvis splitta embryo etter at cellene har vært i vekstsubstrat og startet celledeling, igjen og igjen lar seg splitte, blir det mulig å oppformere store kloner og basere avlsopplegg på dette.
5. Kloning gir muligheter til å estimere innavlsdepresjon hos komplette homozygoter.
6. Kloning gir muligheter for forutbestemmelse av kjønnet.

Mangler

1. Meget lavt tilslag.
2. Metodene er vanskelige rent teknisk og sannsynligvis meget kostbare.
3. Enkelte av metodene resulterer bare i hunnkjønn.
4. Umulig (foreløpig) å nytte kjerner fra differensierte celler.

Så lenge en ikke kan trasplantere kjerner fra differensierte somatiske celler, vil en ikke ha noe skikkelig begrep om fenotypeverdien, eventuelt genotypen til donor (det dyr cellen stammer fra). En mangler således det viktigste argument for eventuelt i framtida å ta i bruk en slik formeringsmetode i husdyravlen. ✓



LITTERATUR

- Amundsen, E. 1977. *Mennesket, Kroppen og Livet*. Tiden Norsk Forlag.
- Barckett, B.G., Seidel, G.E. og Seidel, S.M. 1981. *New Technologies in Animal Breeding*, Academic Press 1981.
- Betteridge, K.J., Hare, W.C.D. and Singh, E. 1981. *New Technologies in Animal Breeding*, Academic Press, N.Y.
- Bulmer, T.M. 1970. *The Biology of Twinning in Man*. Clarendon Press, Oxford.
- Ginzburg, L.R. 1979, *Theor, Popn, Biol.* 15, 264-267.
- Hoppe, P.C. and Illmensee, K. 1977. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74, 5657-5661.
- Illmensee, K. and Hoppe, P.C. 1981. *Cell* 23, 9-18.
- Maynard Smith, J. 1978. "The Evolution of Sex". Cambridge Univ. Press. London and New York.
- Modlinski, J.A. 1978. *Nature (London)* 273, 466-467.
- Moustafa, L.A. and Hahn, J. 1978. *Dtsh. Tieraerztl. Wochenschr.* 85, 242-244.
- Nicolas og Smith, 1983. *J. Dairy Sci.* (under trykking).
- Refstie, T., Vassvik, V. og Gjedrem, T. 1977. Induction of polyploidy in Salmon by Cytochalasin B. *Aquaculture* 10.
- Robertson, A. 1957. Optimum group size in progeny testing and family selection. *Biometrics*.
- Sakano, H., Maki, R., Kurosawa, Y. Roeder, W. and Tonegawa, S. 1980. *Nature (London)* 286, 676-683.
- Seidel, G.E. jr. 1980. *Proc. 9th Int. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insemin. Madrid*, 2. 363-370.
- Snow, M.L.H. 1973. *Nature (London)* 244, 513-515.
- Talmage, D.W. 1979. *Am.Sci.* 67, 173-177.

III. BEFRUKTNING OG OVULERING IN VITRO

Utviklingen av fostertransplantasjon spesielt innenfor storfe har resultert i økt forskningsaktivitet når det gjelder in vitro-befruktning (befruktning utenfor mordyret).

Det er i de senere år innenfor laboratoriedyr (kanin, mus, rotter og hamster) vunnet mye erfaring med befruktning utenfor hunddyret. Det foreligger også beretninger om in vitro befruktning hos storfe, svin og sau, men slike eksperiment er som kjent også igang innenfor humanmedisinen.

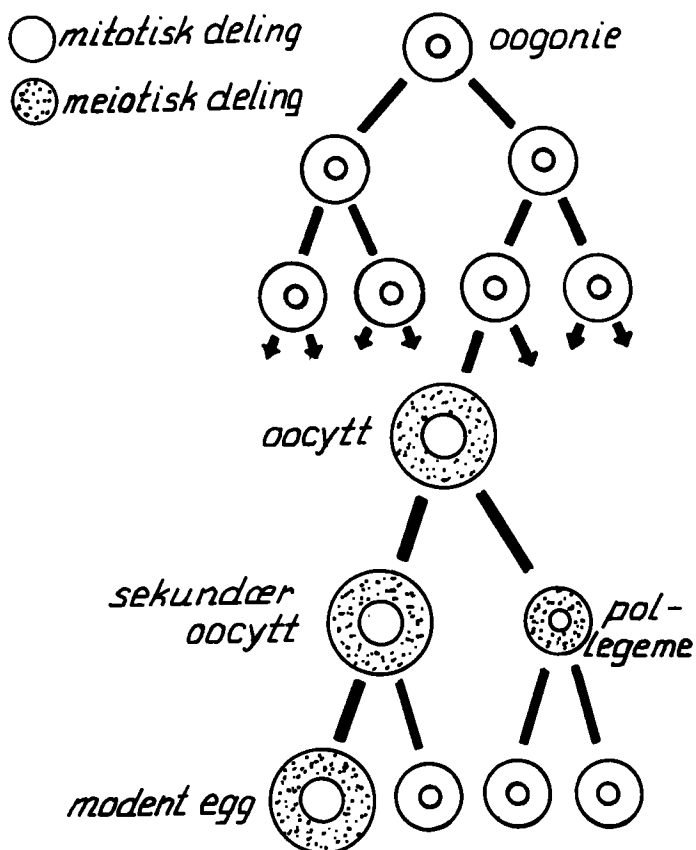
Det foreligger beretninger om vellykkede forsøk med in vitro befruktning i kombinasjon med fosteroverføring hos kanin, mus, rotte, storfe og hos mennesker. Ifølge Brackett (1981) er det imidlertid bare hos laboratoriedyr en hittil har greidd å oppnå en tilfredsstillende befruktningsprosent ved befruktingen utenfor hunddyret.

Den største hindring i samband med utviklingen av in vitro befruktning ligger i manglende kunnskap om den modningsprosess som skjer i spermene før selve befrukningen kan skje. Det gjenstår også mye forskning for å finne fram til de rette vekstmedium for de ubefrukta eggene.

Det foreligger en rekke litteratursammenstillinger over forskningsaktiviteten når det gjelder in vitro befruktning. En viser i denne sammenheng til: Wittingham 1979, Yanagimachi 1981, Meitzel 1978, Brackett 1980, 1981, samt Bavister, 1981.

A. Behandling av eggcella

Undersøkelsen viser at en oppnår de beste resultatene når en får samlet opp ovum (altså egg eller oocyt) straks før det tidspunkt at normal befruktning skulle skje. På dette tidspunkt er egget i den andre metafase av meiosis (reduksjonsdeling), og egget er da snart fullt utviklet. Fig. 7.



Figur 7.

For oversiktens skyld tar vi med et kjent fenomen. Umodne kjønnsceller (oogonier) deler seg ved mitose og blir til oocytter. Før eggløsningen deler en oocytt seg ved meiose og blir til en sekundær oocytt med halvt kromosomtall og et pol-legeme. Ved befruktningen fører videre delingen til utvikling av et modent egg og 3 rudimentære pol-legemer.

Dette utviklingsstadium er karakterisert ved at follikkulære celler omgir eggcella.

Forsøk har vist at det er viktig å registrere hormonprofilen når en søker å finne riktig tidspunkt for befruktningen. Spesielt viktig er det å kunne estimere kurven for det lutein-stimulerende hormon (LH).

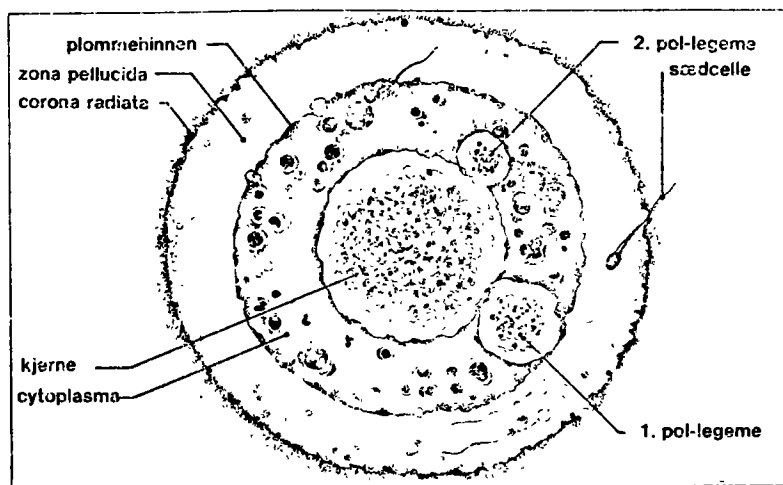
Det ubefrukta egget er svært ømtåelig for endringer i temperatur og for øvrige miljøfluktasjoner. Forsøkene med in vitro befruktning tar derfor utgangspunkt i å etterligne det miljø den hunnlige gamet har i tiden straks før naturlig befruktning.

Det synes som det optimale miljø for utvikling av egget er svært likt det optimale miljø for utvikling in vitro av befrukta egg (se kapittel I).

B. Modning av spermie

Jevnført med egget som er modent for befruktning straks etter ovulasjonen, må spermie før befruktningen gjennomgå en viktig modningsprosess. Denne modning finner normalt sted etter at spermie er deponert i de hunnlige kjønnsorganer.

Modningen av spermie resulterer i en endring av spermienes membran, slik at det kan utskilles enzymer som påvirker eggcellens skall (Zona pellucida), slik at et sperm blir istand til å penetrere egget.



Figur 8.

Et modent egg består av kjerne og cytoplasma omgitt av plomrehinnen. Neste lag kalles Zona pellucida og ytterst ligger et løst cellelag (corona). På det tidspunkt sædcellene trenger gjennom disse lagene og når fram til eggets kjerne, skjer den annen meiotiske deling. Vi har derfor både 1. og 2. pol-legeme i cytoplasma. (Etter Amundsen 1977).

Utviklingen av det miljø befruktningen skjer under in vitro, er ialt vesentlig skjedd gjennom prøve, - og feilmotoden. En har således gradvis fått kunnskap om hvordan en skal fjerne eller endre det overtrekk (coating) av proteiner som stammer fra sædplasma, - noe som er nødvendig for utvikling av spermienes befruktningsevne (Brackett og Oliphant 1975).

C. Overlevingsevnen til in vitro befrukta egg.

Selv om sædcellen har greidd å trenge gjennom Zona pellucida, er det ingen garanti for at vedkommende zygote vil starte en normal utvikling. ✓

Det er mye som tyder på at en ved befruktning utenfor hunnen ikke får den seleksjon av funksjonsdyktige sperm som en trolig har ved naturlig befruktning (Brackhett 1981).

Ellers er det en kjennsgjærning at vi hos pattedyrene har en betydelig grad av fosterdød. Tapsprosenten ligger hos de fleste arter mellom 20 og 40, men hos mennesker er frekvensen av fosterdød endog høgre.

Det meste av fosterdøden skyldes antagelig kromosomfeil (sammenstilling over dette spørsmål er gitt av Short 1979 og av Biggers 1981). Ellers er det påvist at vi ved in vitro befruktning hos hamster får en forholdsvis stor proporsjon av polispermyi, - at flere sperm trenger inn i eggcella. Slik polispermy er derfor sannsynligvis en av årsakene til at en oppnår dårligere resultat ved befruktning in vitro.

Det er ellers vist i forsøk med mus at det er genetiske variasjonsårsaker både når det gjelder spermienes og eggcellas evne til befruktning. Brackett (1981) nevner at en gjennom seleksjon i muselinjer over en 4 års periode har blitt istand til å øke tilslaget ved befruktning in vitro.

Resultater. Proporsjonen (prosenten) av egg som er blitt befrukta og senere startet en normal celledeling er brukt som mål for de resultater som er oppnåpdd ved in vitro befruktning.

Noe nevneverdig tallmateriale har en bare fra kanin og mus. I forsøk med kanin er resultatene forholdsvis dårlige, 18%, mens en hos mus i en rekke forsøk har vært oppe i 45-65% (for litteraturoversikt, se Brackett 1981).

Misdannelser. Det har vært spørsmål om in vitro befruktning kan resultere i økt frekvens av misdannelser. Brackett (1981) viser i denne sammenheng til at det hittil er referert over 5000 drektigheter der en har hatt in vitro befruktning. Resultatene fra disse eksperimenter indikerer i alle fall ingen slik økning i frekvensen av misdannelser.

In vitro test av befruktningsevnen til spermier. Yanogimacki og medarbeidere (1976) har ved bruk av hamster-egg som er behandlet på en spesiell måte, utviklet en metode for å teste befruktningsevnen til spermene.

D. In vitro befruktning i praksis

Forskningen omkring in vitro befruktning har bidratt til økt forståelse av spørsmål i tilknytning til reproduksjonen, men denne teknikk ser ikke ut til umiddelbart å få noen stor praktisk betydning innenfor husdyrbruket.

In vitro befruktning i kombinasjon med superovulasjon kan på lengre sikt muligens bli aktuell ved fostertransplantasjon, men hittil synes det ikke som in vitro kan konkurrere med in vivo verken når det gjelder selve befruktningen eller når det gjelder utviklingen av embryoene før transplantering.

Det er vist i forsøk at egg som har vært oppbevart dypfrosset lar seg befrukte in vitro. In vitro befruktning kunne således tenkes kombinert med langtidslagring av egg (genbank). Nå lar det seg som kjent gjøre å oppbevare dypfrosne embryo, og nettopp det er kanskje vel så effektivt i samband med langtidsoppbevaring av genetiske ressurser.



E. In vitro ovulering.

Det er også igang forskning med sikte på å kunne gjennomføre eggøsning in vitro.

Slik forskning er motivert ved å kunne øke kunnskapen om den endokrine regulering^e av vekst og utvikling av follikkel og egg. ✓

Eggstokken inneholder som kjent opptil noen hundrede tusen egganlegg, mens bare noen få av disse utvikles til modne egg. Innenfor reproduksjonsfysiologien fantaseres det derfor omkring muligheter for modning av et mye større antall egg enn selv det en oppnår gjennom superovulering.

En amerikansk forskergruppe (Kobayashi, Santulli, Wright og Wallach 1981) har nettopp lyktes med in vitro ovulering hos kanin.

Deres forsøksopplegg er skissert i Fig. 6 b. og kan i korthet beskrives slik:

- * Ovariene til kanin av den kvite New Zealand-rasen ble operert ut og plassert i et vekstmedium.
- * Til dette medium ble det tilsatt chorion gonadotropine hormoner som regulerer vekst og utvikling av eggene.
- * 12 timer etter hormontilsettingen var det 75,5% av folliklene som hadde nådd normal størrelse. Eksperimentet omfattet tilsammen 14 ovarier.
- * Disse in vitro ovulerte eggene ble så lagt inn på hunner av homozygot svart-bellet hollandsk kanin. Disse hunnene var 12 timer før "insemineringen" med ubefrukta egg paret med Kvit New Zealand hanner (recessiv)

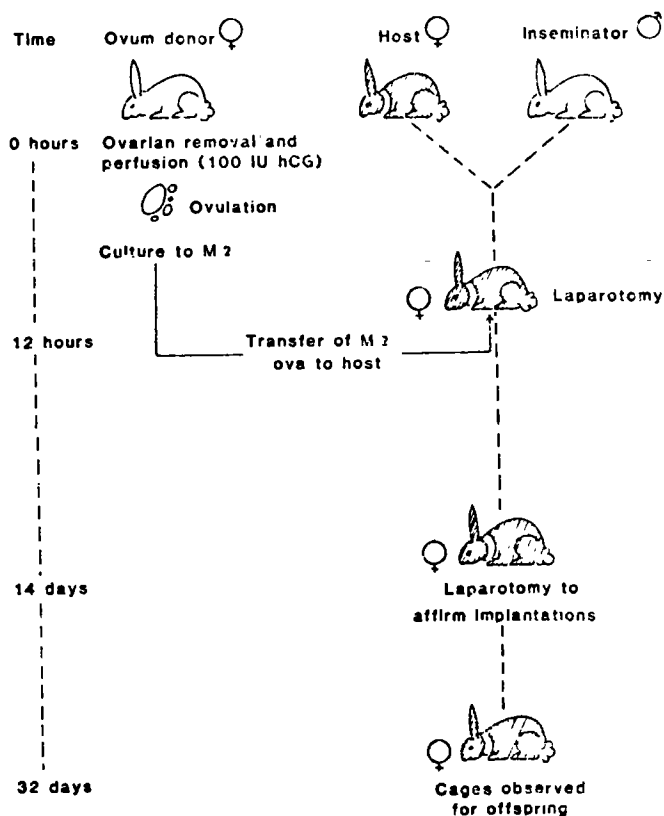
Hos kanin initieres som kjent ovulasjonen av selve paringen, og det er et beslektet gonadotropin-hormon som dirigerer denne utviklingen.

- * 14 dager etter innleggingen av eggene ble det ved laparotomi foretatt en drektighetsundersøkelse (antall foster og deres plassering ble registrert).

* 32 dager etter innleggingen ble det ført nøye kontroll med fødslene.

Fra disse 14 ovarier ble det ovulert 56 egg som ble innlagt på tilsammen 6 para svarte hunner som vist i Figur 6 b. Disse 6 hunnene nedkom med 36 unger og av disse var det 12 kvite. de hadde altså oppnådd en overlevingsprosent på 21 (12 av 56).

Dette første vellykkede eksperiment med in vitro ovulering gir selvsagt ingen holdepunkter for antagelser om at in vitro ovulering (noen gang) kan bli brukt i praksis.



Figur 6b.

Forsøksopplegg ved in vitro ovulering hos kanin. Egg av Kvit New Zealand kanin ovulert in vitro ble lagt inn på hunner av svart beltet Hollandsk kanin som 12 timer tidligere var paret med recessiv kvit hanne. (Etter Kobayashi og medarb. 1981).

LITTERATUR

- Bavister, B.D. 1981. In Fertilization and Embryonic Development In vitro Plenum Press. US Goot Printing, Washington D.C.
- Briggers, J.D.1981. NEJ Med. 304 336-342.
- Brackett, B.G. og Oliphant, G. 1975. Biol. Reprod. 12.
- Brackett, B.G. 1979. Br. Med. Bull. 35 105-111.
- Brackett, B.G. 1980. In Gynecologi Endocrinology, Harper & Row, Maryland.
- Brackett, B.G.1981. In Fertilization and Embryonic Development. In vitro Plenum Press. US. Goot Printing, Washington DC.
- Kobayashi, Y., Santulli, R., Wright, K.H. og Wallach, E.E. 1981. Fertilizability of Ova Ovulated in vitro. Science, col. 213.
- Meitzel, S. 1978. Dev. Mamm. 3, 1-64.
- Short, R.V. 1979. Ciba Foundation Symposium, Excerpta Medica, Amsterdam.
- Whittingham, D.G. 1979, J. Reprod. Fert. 49, 89-94.
- Yanagimachi, R. 1981. In Fertilization and Embryonic Development. In vitro Plenum Press. N.Y.

Ikke kloning,-
doping



IV. KJØNNSPROPORSJON - KJØNNSBESTEMMELSE

En endring av kjønnsproporsjonen i ønsket retning ville, om det ble mulig, få enormt stor betydning innen husdyrbruket. Det er derfor naturlig at dette spørsmålet er vist stor interesse innenfor forskningen. ✓

Innledning

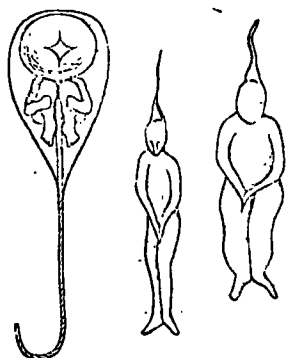
Mennesket har sannsynligvis til alle tider spekulert over hvilke faktorer som ligger til grunn for bestemmelsen av kjønn.

Så lenge en ikke hadde kjennskap til selve befruktningsprosessen, måtte det selvsagt være plass for en rekke hypoteser. I 1677 oppdaget Leeuwenhoek og Hamm at sædvæsken inneholdt bevegelige legemer, mens eggcellen ble oppdaget av Baer først i 1828.

Disse oppdagelser resulterte ikke umiddelbart i noen forståelse av selve kjønnsbestemmelsen. I siste halvdel av forrige århundre forelå det imidlertid en rekke statistiske undersøkelser over forholdstallet for de to kjønn. De fleste undersøkelser viste at det ble født omtrent like mange hann- som hunnkjønn og at forholdstallet derfor var tilnærmet lik 1:1. Det var derfor nærliggende å anta at kjønn var en egenskap på linje med andre, og at det kunne være et enkelt arveanlegg som bestemte hvilket kjønn det skulle bli. Mendel har selv vært inne på denne teori i et brev til Nägeli.

I 1891 fant Hertig at det i enkelte sædceller var et kromosom mer enn i andre sædceller. Det samme ble påvist av McClung i 1902, og han kom til den slutning at når halvparten av sædcellene hadde et ekstra kromosom måtte det bero på at hannene hadde et kromosom mer enn hunnene. Denne antagelse viste seg senere å være feil.

Det var den amerikanske cytologen E.B. Wilson som i 1905 klarla selve kjønnsbestemmelsen. Han arbeidet med en tege-art og fant at hannene hadde 13 kromosomer og hunnene 14. Hannene hadde et stort kromosom som manglet makker og som han kalte for X-kromosomet, mens hunnene hadde 2 slike X-kromosomer. Senere ble det funnet at hannene hadde et ørlite kromosom som er kalt Y-kromosomet og som egentlig er makkeren til X-kromosomet.



I mikroskopet mente forskerne at de i hvert sperm så et individ (preformasjonslæren). Etter Hartsøcker 1694. Observatørene har merket seg en blyghet selv hos disse små.

Tilfeldigheter

Det finnes et utall av teorier om hvordan en kan endre kjønnsproporsjonen, - forholdstallet mellom de to kjønn. I det 17. årh. beskrev Drelincourt 276 "falske teorier" for endring av kjønnsproporsjonen og Gedder og Thomson som befattet seg med samme tema i 1901 fant at antallet teorier var fordoblet siden Drelincourt's bok kom ut.

Mange av disse feilslåtte teorier bygger på at slikt som månens stilling, vindretning ved unnfangelse osv. skal ha avgjørende betydning for hvilket kjønn det blir.

De fleste av de hypoteser som er satt fram om mulighetene for å kunne endre kjønnsproporsjonen grunner seg på avvik som i realiteten skyldes rene tilfeldigheter.

En hvilken som helst teori om forutsigelse av kjønn vil være rett i ca. 50% av tilfellene uansett hvor absurd den er. Dette kan illustreres ved følgende annonse:

"Kalvens kjønn forutbestemmes

Mot en avgift på kr. 10, - pr. ku påtar vi oss å forusi kalvens kjønn allerede ved insemineringen. I de tilfeller hvor forutsigelsen slår feil betaler vi tilbake kr. 15,00. Informasjon om kyrnes navn samt avgiften kr. 10,00 pr. ku sendes Institutt for husdyravl, Boks 24, 1432 Ås-NLH."

Dette ser i første omgang ut til å være seriøst. Fikk vi imidlertid stor tilslutning kunne det bli penger av dette.

På grunn av dette tilnærma 50:50-forholdet, vil en likevel en gang i blant i forsøk og undersøkelser få utslag som indikerer et "signifikant" avvik i forventa kjønnsproporsjon. Setter vi grensa til signifikans til 5%, vil vi i en av 20 undersøkelser kunne forvente "signifikant" utslag selv om hele utslaget skyldes tilfeldigheter. I årenes løp er det derfor som ventet funnet eksempler på avik i kjønnsproporsjonen som tilsynelatende skyldes bestemte påvirkninger.

A. Forutbestemmelse av kjønnet

En kan i prinsippet tenke seg fire ulike metoder for å kunne påvirke kjønnsproporsjonen i en bestemt retning, det er ved:

- "separering" av sæden
- transplantering av cellekjerner
- parthenogenese i kombinasjon med fjerning av prokjerner
- fusjon mellom oocytter.

I det etter følgende skal vi se litt nærmere på disse metodene.

a. Separering av sperma på grunnlag av kjønnskromosom

En separering (adskillelse) av spermene i to grupper, - de som inneholder X-kromosom og de som inneholder Y-kromosom kan teoretisk sett tenkes gjort på grunnlag av en eventuell forskjell når det gjelder:

1. Overflateladning hos de to spermietyper (X og Y)
2. Mobilitet
3. Immunforhold
4. Resistens
5. Spesifik/vekt

I forsøk med sikte på å endre kjønnsproporsjonen har det vært nødvendig å gjennomføre et stort antall paringer/insemineringer. Nå er middelfeilen på slike estimater såvidt store at hvis ikke endringer av kjønnsproporsjonen er betydelig, trengs det et stort dyretall for at endringen av proporsjonen vil være signifikant *.

* Hvis vi definere kjønnsproporsjonen som prosent hanner i populasjonen kan vi beregne middelfeilen (m) på kjønnsproporsjonen slik: $m = \sqrt{p(100-p)/n}$ der p er kjønnsproporsjonen og n er antallet dyr (avkom). Som en ser må avvikene være ganske store om en på et dyremateriale på 1000 dyr skal ha et signifikant avvik.

1. Overflateladning

Helt siden midten av 30-årene er det gjort forsøk med å adskille X og Y-spermiene på grunnlag av eventuell forskjell i elektrisk ladning.

Hafs og Boyd (1971) gjennomførte en omfattende undersøkelse hvor de ved hjelp av elektroforese forsøkte å skille X og Y-sperm hos storfe og kanin. Sammenstillingen av deres forsøk viste ikke noe sikkert avvik fra forholdet 1:1.

I Vest-Tyskland er det i et materiale på 10 tusen kalvinger gjort en test på en metode som J.Lang, USA har patentert. Metoden gikk ut på at en i elektroforetiske søyler (kolonner) fikk en separering i de spermier med positiv ladning (Y-kromosomene) og de med X-kromosom (negativ ladning). Forsøket som er beskrevet av Hahn og medarbeidere (1975) resulterte ikke i noe avvik fra 1:1-forholdet.

Omtrent på samme tid ble det i Øst-Tyskland patentert en metode som garanterte 65% hannkjønn (Knaack og Nehring 1973). Patentrettigheter ble solgt til Nederland og Danmark, men ikke i noen av disse land kunne de senere påvise noen endring av kjønnsproporsjonen.

2. Separasjon på grunn av ulik mobilitet.

Det foreligger undersøkelser som viser at Y-spermiene beveger seg framover med en større fart enn X-kromosomene.

Ericsson og medarbeider (1973) har forsøkt å utnytte denne forskjell i bevegelighet til å separere spermiene. De laget en fortynningsvæske av serumalbumin med stor viskositet og hevdet at de i den øverste del av dette laget fikk opptil 80% Y-spermier. Inseminasjon med sæd fra den resterende del av sæduttaket skulle således kunne gi økning av antallet hunnlige avkom.

Ved gjentak av dette eksperimentet i Vest-Tyskland av Schilling og Thormaehlen (1975) fant de ingen systematisk avvik i kjønnsproporsjonen. I den delen av substratet der viskositeten var stor, var det mest Y-spermier og disse var på grunn av mediets viskositet gått til grunne. Det ser likevel ikke ut til at denne ulike grad av mortalitet gir grunnlag for noen brukbar separasjon av X- og Y-sperm.

3. Separering på grunnlag av immunologiske ulikheter

Det er ikke usannsynlig at det kan være immunologiske ulikheter mellom de to typer av sperm, men ifølge Schilling (1971) er det ingen slike separeringsforsøk som har ledet til positive resultater.

4. Resistensforskjell mellom de to typer av sperm

Det har lenge vært antatt av ^t X-spermiene, fordi de har en større DNA-masse, kan være mer resistente ovenfor ugunstige miljøbetingelser og således kan ha lengre levetid. ✓

Det har i denne sammenheng vært gjort "stress-forsøk" ved å tilsette fortynningsvæsken organiske syrer, men de forsøk som er gjort innen humanmedisinen har ikke gitt noe belegg for at X-spermiene skulle ha lenger levetid under spesielt ugunstige miljøforhold.

Schilling og Petac (1972) har gjennomført forsøk med "kjemisk stress" til kanin- og svinesæd. I de første forsøkene fikk de tydelige utslag i retning av økt proporsjon av hunndyr ved bruk av sæd som hadde vært stresspåvirket, men senere forsøk, i større omfang med oksesæd har ikke gitt signifikante utslag på kjønnsproporsjonen.

5. Separering på grunnlag av ulik spesifikk vekt.

Det har lenge vært antatt av X-spermiene på grunn av det store X-kromosomet har større vekt enn Y-spermiene (se fotnote s.76).

Det har med dette som utgangspunkt vært nedlagt et betydelig arbeide i å kunne skille de to grupper av sperm ved sentrifugering eller ved sedimentering.

Det er særlig en forskergruppe under ledelse av E.Schilling ved Mariensee Forskingsstasjon, Vest-Tyskland, som har gjort mye forsøk med sentrifugering.

Ved bruk av avansert utstyr samtidig som en standardiserer temperatur, konsentrasjon osv. har Schilling og Thormaehlen (1976) greidd å komme opp i fraksjoner på hele 65-70% X-spermier.

Det er imidlertid den hake med dette at denne sperm-fraksjonen utgjør mindre enn 5% av hele sædvolumet, og det blir således en svært liten del av sæden som kan nyttes i praksis.

Forskerne tror at alder og utviklingsstadium til sædcellene er medvirkende årsak til at fraksjoneringen ikke blir tydeligere. Det synes således heller ikke sannsynlig at en kan løse dette problemet ved hjelp av sentrifugering.

Forsøk med sedimentering.

Ved sedimentering skulle en i prinsippet kunne oppnå en lignende differensiering etter vekt av spermene som det en oppnår gjennom sentrifugering.

Øystein Joakimsen ved Institutt for husdyravl gjennomførte i årene 1973-74 en rekke eksperimenter med sedimentering av oksesæd (En oversikt over resultatene er gitt i melding fra Husdyrforsøksmøtet 4.-5.februar 1975.)

Joakimsen utviklet først en fortynningsvæske med en spesifikk vekt og viskositet som skulle muliggjøre en separasjon av de to typer av sperm.

En forventet at X-spermene skulle sedimentere først og resultatet av sedimenteringen ble kontrollert ved avtapping av

3 ulike fraksjoner fra bunnskiktet. Videre ble det med pipette tatt ut en 4.fraksjon straks under overflata. Sød fra hver av disse fraksjonene, samt en kontroll ble nyttet for inseminasjon. Dette ga de resultater som er vist i tabell 5.

Tabell 5.

Kjønnsproporsjon ved inseminasjon av sæd sedimentert i ulike skikt. (Joakimsen 1975).

Fraksjon	Antall insemin.	Registrert kalvings-%	Kjønnsprop. (% oksekalver)
1	990	48,5	52,1
2	1038	42,8	47,4
3	1014	45,3	56,3
4	1017	41,0	52,8
Kontroll	1073	47,1	55,7

En skulle altså ha forventet en økning av kjønnsproporsjonen fra fraksjon 1 til fraksjon 4. En fant imidlertid ingen slik klar effekt.

I de senere år er det kommet nye hjelpemidler for å kunne måle mengden av DNA, - nemlig flowcytometer. Dette instrumentet gir muligheter til å skille mellom X og Y-sperm på grunnlag av DNA-innholdet.

Det er gjort pilotforsøk med dette på frosk, men metoden kan i alle fall foreløpig ikke nyttes på levende celler.

Litteraturoversikter når det gjelder å kunne påvirke kjønnsproporsjonen er gjort av Beatty (1974), Hare og Betteridge (1978) og Short (1979).

De forholdsvis beskjedne resultater som denne omfattende forskning ha ført til kan lede til en konklusjon lik den som Short (1979) kom til, nemlig:

"Many workers have claimed to have separated X- from Y-bearing spermatozoa by a variety of techniques ranging from the ingenious to the incredible, and each year that passes seems to bring a new claimant. The fact nobody has been able to conform any of these claimant suggests that for the moment this separation must be ranked amongst Nature's impossibilities".

6. Andre metoder for forutbestemmelse av kjønnet

Under kapittel II (Kloning) har vi vært inne på metoder som samtidig med at en oppnår ukjønnert formering, også forutbestemmer kjønnet.

Det gjelder:

- Fjerning av prokjerne fra befrukta egg med etterfølgende behandling med Cytochalasin B, slik at en får diploide celler (Parthenogenese).
- Transplantering av cellekjerener, - produksjon av "fenokopier".
- Fusjon mellom to oocytter. Dette vil selvsagt resultere i bare hunnkjønn. (Soupart og medarb. 1978).

Felles for disse metoder er at de er såvidt arbeidskrevende og krever såvidt mye instrumenter at de foreløpig i alle fall ikke er av noen praktisk interesse.

B. Prenatal bestemmelse av kjønnet.

Det er en ganske omfattende forskning igang når det gjelder prenatal kjønnsbestemmelse. Denne forskning har så mange berøringspunkter med andre sider av bioteknikken at vi kort skal skissere de metoder som kan komme på tale.

1. Kjønnskromatinmetoden

Inntil kjernemembranen ligger det et mørkfarget legeme av en størrelse omkring 1 my som lar seg fiksere under cellens

interfase, dette legeme kalles kjønnskromatin. Dette er også kalt for Barr's legeme og finnes i celler hos hunndyr, (dette legeme representerer det heterokromatiske, - inaktive X-kromosom).

Det var ved identifikasjon av kjønnskromatin at Gardner og Edwards (1968) ble istand til for første gang å bestemme kjønnnet samtidig med selve transplanteringen. Senere er det på grunnlag av fostervannsprøver blitt mulig å bestemme kjønnnet ved å fikserer kjønnskromatin i cellene. Det er også blitt mulig å bestemme kjønnnet ved å identifisere selve Y-kromosomet i celler fra fostervannsprøver.

Hos storfe, sau og hest er det meget vanskelig å kunne identifisere kjønnskromatinet, dette fordi kromatinet har en granulert struktur, men samtidig greier en ikke å identifisere Y-kromosomene fordi det hos disse arter ikke viser fluoresens.

2. Kjønnbestemmelse på grunnlag av kromosomanalyse.

Slik analyse er gjort på grunnlag av celler som er i metafase. Hvis vi finner celler som er i mitose er prepareringen enkel, hvis vi imidlertid ikke finner celler i mitose, må vi dyrke celler som så analyseres på riktig tidspunkt. ✓

Denne analyse er imidlertid såvidt arbeidssom at selv øvde personer ikke greier å identifisere mer enn 6-7 kasus pr. dag.

Bretteridge og medarbeidere (1981) har stilt sammen resultatene fra 5 ulike laboratorier og disse viser:

Av tilsammen 353 embryo på dag 12-15 fra storfe har en greidd riktig kjønnbestemmelse på 68%, men bare 33% av ialt 220 kjønnbestemte embryo har etter transplantering resultert i fullbårne kalver.

Hos storfe kan en foreta kjønnsbestemmelser på grunnlag av fostervannsprøver 70-90 dager ut i drektighetsperioden.

3. Kjønnsbestemmelse på grunnlag av H-Y antigener.

Hos hannkjønnet finnes det H-Y-antigener på overflata av cellene, men ikke hos hunnkjønnet. (Dette "hanndyr-antigenet" er et histocompatibilty antigen).*

4. Ved bruk av hormonbestemmelse.

Det er utviklet metoder slik at en ut fra fostervannsprøver kan analysere forekomsten av kjønns hormoner, og da spesielt de som stammer fra testiklene.

Fosterets testikler kommer i funksjon etter ca. 30 dagers drektighet hos svin, 30 dager hos sau og 45 dager hos storfe.

DISKUSJON

Det er en selvfølge at en separasjon av spermene i X- og Y-sperm ville representere store fremskritt innen husdyrbruket. Etter som slik separasjon ikke lar seg praktisere, må en foreløpig konsentrere seg om metoder av vesentlig mindre praktisk rekkevidde.

Når det gjelder de metoder for prenatal kjønnsbestemmelse som er utviklet, er det selvsagt de som kan gjøres på embryo i samband med fostertransplantasjon som er av størst interesse.

Mens forskerne mener at de metoder som baseres på fostervannsprøver er så langt utvikla at en neppe kan vente store forbedringer, forutser forskerne betydelige muligheter for framskritt når det gjelder diagnostikk av embryo.

* Identifiseringen av H-Y-antigen baseres på hvorvidt cellene absorberer H-Y.-antiserum fra mus.

En anser det mulig å forbedre teknikken ved uttak av celleprøver og spesielt er en optimistisk når det gjelder å kunne bestemme kjønnet på embryo med så lite som 4-8 celler.

Som tidligere nevnt ser det ut til at en snart kan dele opp embryo på 4-8 celler og da vil det være viktig å kunne foreta kjønnsbestemmelse på en av disse før en transplanterer noen embryo.

I samband med eksport av dypfrosne fostre vil det kunne bety mye om en hadde kjennskap til kjønnet.

For videre studium av dette tema, se Betteridge og medarbeidere 1981.

C. Miljømessig påvirkning av kjønnsproporsjonen.

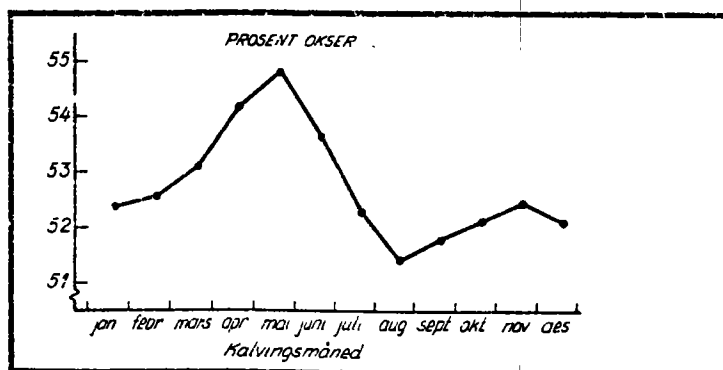
Det foreligger et meget stort antall undersøkelser over kjønnsproporsjonen innenfor ulike husdyrpopulasjoner.

Etter som det her er spørsmål om en enten/eller karakter, vil estimatene som nevnt s.59, være beheftet med en forholdsvis store tilfeldig feil. Men selv om vi bare jevnfører slike undersøkelser som er basert på et meget stort tallmateriale, finner vi en viss forskjell i kjønnsproporsjonen fra en populasjon til en annen.

Arsaken til en eventuell signifikant forskjell i kjønnsproporsjonen mellom populasjoner må kunne henføres til miljø og/eller arv. Men det foreligger merkelig nok svært lite litteratur over årsaksforholdet når det gjelder forskjell i kjønnsproporsjon.

Joakimsen (1975) gjorde i samband med sine sedimenteringsforsk (se side.64) en sammenstilling over årstidsvariasjonen i kjønnsproporsjonen. Dette er såvidt en kan se den første undersøkelse der en studerer mulige systematiske miljøårsaker

når det gjelder kjønnsproporsjonen. Som det går fram av Fig.9 er det i dette materialet mye høyere proporsjon av oksekalver blant vårbærene jevnført med hva tilfellet er hos høstbærene kyr.



Figur 9.

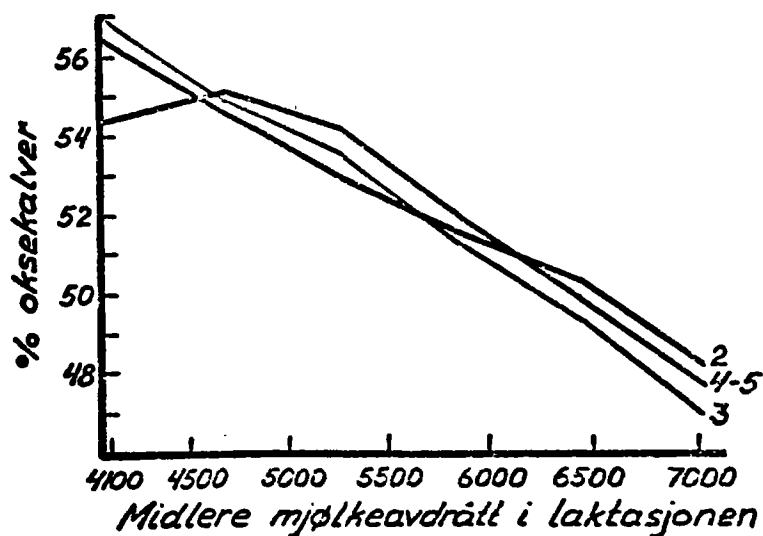
Arstidsvariasjon i kjønnsproporsjon. Gjennomsnitt for 5 år. (Etter Joakimsen 1975).

Mulige årsaker til variasjoner i kjønnsproporsjonen hos storfe ble undersøkt av Skjervold og James (1978) på et materiale som besto av ca. 1,9 millioner kalvinger innenfor NRF. I dette materialet var den midlere kjønnsproporsjon $52,24 \pm 0,072$.

Denne undersøkelsen viste at det er signifikant sammenheng mellom kjønnsproporsjon (KP) og følgende miljøårsaker.

- Kalvingsnummer. Minsking av KP ved økende kalvingsnummer.
- Kuas mjølkeavdrått i foregående laktasjonsperiode. Økning av avdråttene resulterer i en betydelig minsking av KP (Fig. 10).
- Kalvingsintervall. Minst KP ved korte kalvingsintervall.
- Størrelsen av buskapsen. KP stiger med stigende buskapsstørrelse.

Tabell 6 viser den relative innvirkning av ulike variasjonsårsaker på kjønnsproporsjonen hos storfe. Antallet insemineringer er i noen grad et uttrykk for frekvensen av fosterdødelighet, og kan således ha sammenheng med kjønnsproporsjonen (se senere side.71-72).



Figur 10.

Sammenheng mellom kjønnsproporsjon og kyrnes mjølkeavdrått i den laktasjon som går forut for kalvingen. Tallene på de tre kurvene angir hvilken laktasjon det gjelder. (Etter Skjervold og James 1975).

Tabell 6. Prosentvis andel av variasjonen i kjønnsproporsjon som kan tilskrives de ulike variasjonsårsaker. (Etter Skjervold og James 1978)

Variasjonsårsak	Kalvingsnummer			
	1	2	3	4
Buskapens middelavdrått	0	10.0	15.2	18.9
Arstid for kalving	42.1	1.7	1.1	5.7
Buskapens størrelse	47.4	3.3	9.8	0
Lengde på kalvingsintervall	-	15.0	8.7	18.9
Midlere dagsavdrått	-	60.0	62.0	51.9
Antall inseminasjoner	-	5.0	2.1	0
Kjønn i foregående kalving	-	1.7	1.1	4.7
Alder ved første kalving	10.5	3.3	0	0

Prenatal/postnatal kjønnsproporsjon

En rekke undersøkelser slår fast at den prenatale kjønnsproporsjon er vesentlig høyere enn den postnatale.

Storfe. Det er foretatt 3 store undersøkelser over prenatal kjønnsproporsjon hos storfe. Disse er basert på undersøkelser av fostrene til slaktekyr. Den første undersøkelse ble gjort i Chichago (Jewell 1921), den andre ble utført i Wisconsin (Chapman og medarbeidere 1938), og den tredje ble foretatt ved et slakteri i München (Baier og Rüsse 1965).

Disse undersøkelsene viste at det blant de yngste fostre som kunne kjønnsbestemmes var det mellom 63 og 66% hannkjønn. Det ser ut til at kjønnsproporsjonen gradvis faller fram mot fødsel. Dette må skyldes at det blant abortene er en sterk overvekt av hannkjønn. (Brands og medarb. 1965).

Svin. Hos svin er det funnet at en blant de yngste fostrene har en kjønnsproporsjon på fra 60 (Creu 1925) til 56.8 (Parks 1925). Også hos svin er det vist at det blant abortene er en overvekt av hannkjønn (Tietze 1948).

Et lignende forhold har vi også hos mennesker. I en amerikansk undersøkelse som omfatter vel 14 mill. fødsler i årene 1941-45, var den midlere kjønnsproporsjon 51,36, mens en for aborter hadde en kjønnsproporsjon på 55,38 (Human Biology 1948).

Det er mye som tyder på at kjønnsproporsjonen i befruktningsøyeblikket er vesentlig høyere enn ved fødsel. Forskyvninger av kjønnsproporsjonen skjer ved at fosterdød i vesentlig grad går ut over hannkjønnet.

Den innvirkning enkelte miljøfaktorer synes å ha på kjønnsproporsjonen (figur 10) kan tyde på at fostre av hannkjønn er mer ømtåelig ovenfor stress enn hva tilfellet er for det annet kjønn. Vi har imidlertid gjennom miljøpåvirkninger svært begrensa muligheter for en merkbar endring av kjønnsproporsjonen.

Det foreligger undersøkelser som viser en viss forskjell i kjønnsproporsjonen hos avkommet etter ulike seminokser, men utslaget er såvidt lite at en heller ikke gjennom seleksjon har nevneverdige muligheter til å påvirke kjønnsproporsjonen.

D. Økonomisk betydning av en eventuell forutbestemmelse av kjønn

Selv om forutbestemmelse av kjønn fremdeles synes å ligge langt inn i framtida, er det flere forskere som har prøvd å kvantifisere en mulig økonomisk vinning ved en slik teknikk.

Foote og Miller (1971) drøftet dette for ulikt tilslag ved kjønnsbestemmelse og for ulike dyrearter.

Van Vleck og Everett (1976) estimerte tilleggsverdier ved kjønnsbestemt inseminering til 22\$ pr. drektighet, da betraktet en dette over en periode på 20 år.

Van Vleck kapitaliserte verdien i økt seleksjonsintensitet ved rekruttering av kubestanden, men han tok ikke med eventuell gevinst ved at de kyr som det ikke skal settes på etter, nå er til disposisjon for kjøttforsyning. Ved en eventuell slik bruksdyrkryssing kunne en inseminere med sæd, slik at en fikk det kjønn som egnet seg best i kjøttproduksjon. Det ville således i mange tilfeller være mer å vinne på "kjønnsseparering" av sæden enn det Van Vleck antydde.

Nå er imidlertid dette i høg grad et akademisk spørsmål, og vil vedbli å være det inntil de en gang i framtida greier å løse dette permanente problemet.

LITTERATUR

- Baier, W., von Rüsse, I. 1965. Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschr. 78, 1.3.
- Beatty, R.A. 1974. Biblphy Reprod. 23
- Boyd, H. 1965. Vet. Bull. 35, No.5.
- Brands, A.F.A., Banerjee-Schotsman, Irma, Van Dieten, S.W.J., Van Loen, A. 1965. Tijdschr.Diergeneesk. deel 90, afl. 13.
- Bulman, G.M. 1970. The Biology of Twinning in Man. Clarendon Press. Oxford.
- Chapman, A.B., Casida, L.E., Cote, A. 1938. Amer. Soc. Anim, Prod.
- Crey, F.A.E. 1925. Roy. Soc. Edino. Proc. 46.
- Ericsson, R.L. et al. 1973. Nature 246: 421-424.
- Foote, R.H. and Miller, P. 1971. ASAS Symposium, 1-9.
- Hafs, H.D. and L.J. Boyd, 1971. Sex ratio at birth-prospects for control. Symposium Pennsylvania State University.
- Hahn, R., L. Lang et al. 1975. Deutsche Tierärztl. Wschr. 82. 5-10.
- Hare, W.C.D., Mitchell , D. et al. 1976. Theriogenology 5, 243-254.
- Hare, W.C.D. and Betteridge, K.J. 1978. Theriogenology 9, 27-43.
- Jewell, F.M. 1921. Biol. Bull. 41, 259-271.
- Joakimsen, Ø. 1975. Buskap og Avdrått 27, 48-49.
- Knaack, J. and Nehring, H, 1973. Tierzucht 27, 156-159.
- Parkes, A.S. 1925. J. Agric. Sci.
- Schilling, E. 1971. In: Sex Ratio at birth-prospects for control. Symposium Pennsylvania State University.
- Schilling, E. and Thormaehlen, 1975. Zuchthygiene 10, 188-190.
- Schilling, E. and Petac D. 1972. VII- Intern. Congr. for Animal Reproduction, München.

- Short, R.V. 1979. Brit. Med. Bull. 35, 121-127.
- Skjervold, H. og James, J. 1978. Z.Tierz. Züchtsbiol .95.
- Soupart, R., Anderson, M.L. and Repp, J.E. 1978. Theriogenology, 9.
- Tietze, C. 1948. Hum. Biol. 20.
- Willadsen, S.M. 1979. Nature (London) 277, 298-300.
- Willadsen, S.M., Pashen, R.L. and Allen, W.R. 1980. Proc. Soc. Study Fertil., Oxford 1980.

V. LITT OM DET MOLEKYLÆRE GRUNNLAG

De enormt raske framskritt som de senere år er gjort innenfor molekylær genetikkk får også etterhvert betydning for forståelsen av populasjonsgenetikken. Det gjelder i første rekke:

- størrelsesorden når det gjelder antall arveanlegg.
- mekanismen bak additiv arv, et fundamentalt begrep innen avlslæren.
- mulige biokjemiske årsaker til mutasjoner.
- selve mekanismen bak kromosomdelingen (DNA-replikasjoner).

Disse oppdagelser har også lagt grunnlaget for genteknikken, - det gjelder i første rekke:

- kjennskapet til den genetiske kode
- kjennskapet til mekanismen bak proteinsyntesen
- mulighetene for identifisering av spesielle gener
- metoder for isolering av bestemte gensegmenter osv.

1. Det stofflige grunnlag for arven

I etterkrigsårene er det gitt et fullstendig bevis for at det er deoksyribonukleinsyre (DNA) og ikke eggekvitemolekyler som utgjør det stofflige grunnlag for arveanleggene.

Undersøkelser viser at mengden av DNA pr. kromosom er meget konstant innenfor en art, mens mengden av eggekvite varierer mye mellom celler.* (Se fotnote s. 76).

Vi skal ikke her gå i detaljer om oppbyggingen av DNA-molekylet og andre sentrale sider ved den molekylære genetikkk. Vi skal bare ta med det som strengt tatt er nødvendig for å få et visst innblikk i virkningsmekanismen bak de elementer innenfor avlslæren/genteknikken som er referert foran.

Det som fram til 1953 var kjent om strukturen av DNA-molekylet ble det året stilt sammen i den senere så kjente Watson-Crick-modellen. Disse oppdagelser (som i 1962 ble belønnet med Nobel-prisen) har senere vist seg å være korrekte. Som vist i Fig. 11 er DNA-molekylet en dobbeltspiral, - en slags vindeltrapp der vangene består av to komponenter, nemlig:

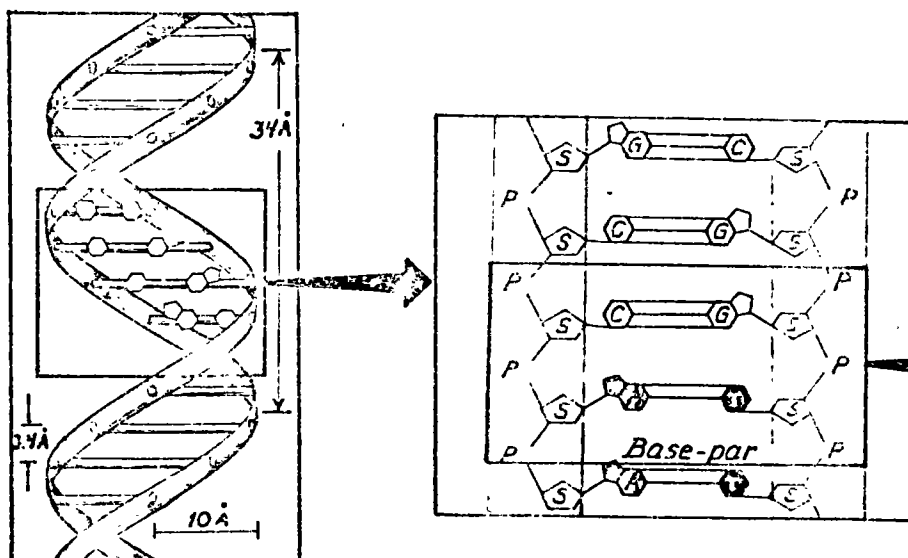
- sukker og
- fosfat

Sukker-fosfatkomponenten er alltid den samme. Disse to trådene ("vangene") er holdt sammen av fire ulike baser som utgjør "trinnene" i vindeltrappen, nemlig:

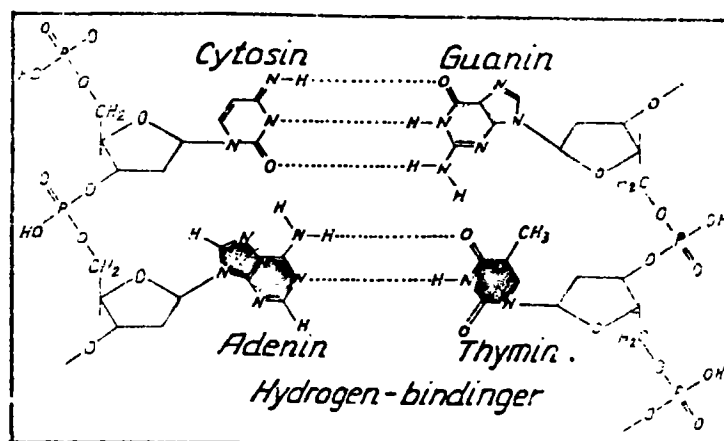
- cytosin
- guanin
- thymin
- adenin

To og to av disse baser utgjør alltid ett trinn i vindeltrappa, og det er alltid slik at cytosin og guanin danner et par (ett trinn), mens thymin og adenin danner det andre paret. Fig.11 og 12.

* Den sterke sammenheng det er mellom mengden av DNA og kromosomene gjør det mulig å beregne celletallet når en kjenner mengden av DNA. Den totale mengde DNA i en diploid celle er hos menn $88,10 \times 10^{-12}$, mens det hos kvinner med 2 x-kromosomer er $88,74 \times 10^{-12}$ gram.



Del av DNA-molekyl.
(10 trinn pr. omdreining =
34 Ångstrøm *)

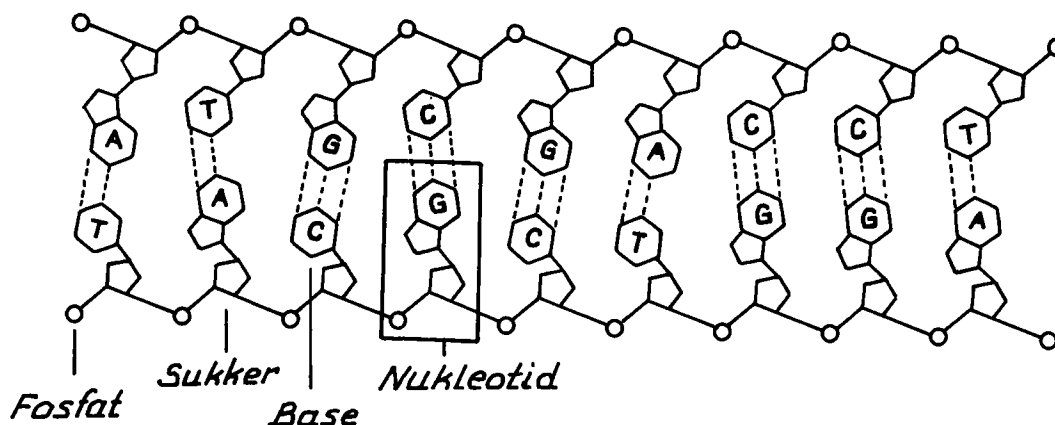


Kjemisk struktur av en liten bit av et kromosom.

* 1 Ångstrøm - Er 10 milliondel av en mm.

2
Figur 12. Strukturen av DNA-molekylet der en i to trinn blir forstørret opp etter dobbeltsporet. I den sterke forstørrelsen (nærmest) ser vi de 4 basene som utgjør leinene.

Selv om DNA-molekylet i realiteten består av tre ulike komponenter, sukker, fosfat og baser, er disse alltid koblet sammen til ett element som kalles nukleotid. Etter som det er fire muligheter når det gjelder baser i dette element, er DNA-molekylet i praksis satt sammen av et stort antall av disse fire ulike elementer. (Fig. 12.)



2
Figur 12.

Et stykke av et DNA-molekyl. Vi ser at "trinnene" består av en "lengre" og en "kortere" base. Som en konsekvens av dette utgjør C og G basene alltid ett par, mens det andre paret består av A og T basene (etter Brown 1975).

Adenin og Thymin (se fig 2)

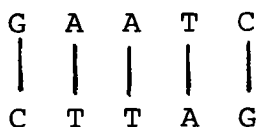
En vet nå med sikkerhet at det er rekkefølgen av de ulike baser som egentlig representerer den gentiske kode.

I et DNA-molekyl kan det være et stort antall nukleotider. Som eksempel kan nevnes at det hos en av de minste virus ϕ X174 i alt er funnet 5375 nukleotider^{trin} (se Fig.17, s.88 b). I en colibakterie er det ca. 4 millioner nukleotidpar, - mens det tilsammen i alle kromsomer i en menneskecelle er 5,6 milliarder nukleotidpar. DNA-trådene utgjør i en slik celle en samlet lengde på 212 cm.

En vet idag at arveanleggene består av et stort antall nukleotidpar, antallet kan variere fra et titall og opp til flere hundre. Det er som nevnt alltid to bestemte baser som utgjør et par (C+G og T+A - se Fig.12). Konsekvensen av dette er at om en kjenner baserekkefølgen på den ene DNA-tråden, er base-
rekkefølgen på den andre DNA-tråden gitt. ✓

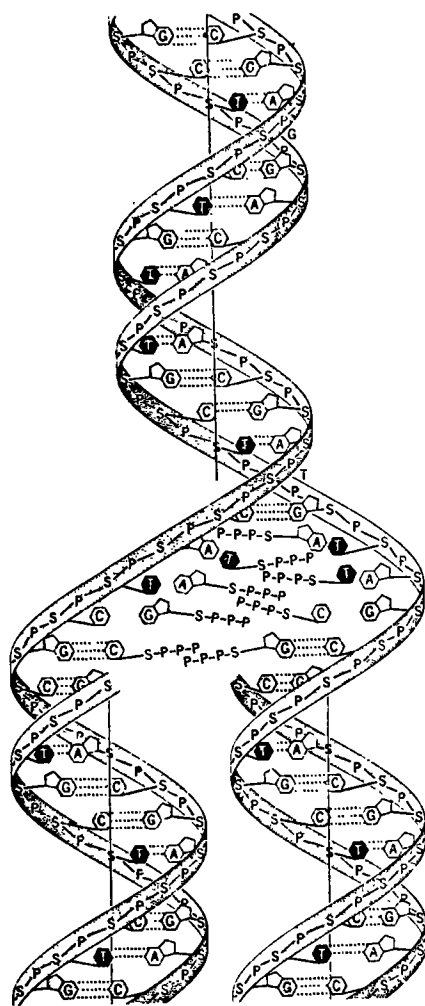
*Denne oppdagelsen gav senere forbindelse til at en av de mest
viktige oppdagelser (reguleringen) for en gitts genetiske koding av
molekula*

Har vi rekkefølgen GAATC osv. på den ene tråden, vil den andre tråden ha rekkefølgen CTTAG osv. Den dobbelte tråden har altså basene:



En konsekvens av den regelbundne paring mellom adenin og thymin og mellom cytosin og guanin er at mengden av adenin og thymin alltid er den samme, samt at mengden av cytosin og guanin også alltid er den samme.

2. DNA-replikasjonen



Vi er kjent med at det i samband med celledelingen skjer en deling av kromosomtrådene på langs slik at hver dattercelle får en fullstendig kopi av morcellens arveanlegg. Denne kopieringsmekanisme som leder til identisk like dobbelttråder kalles for DNA-replikasjonen. DNA-replikasjonen starter med at enzymet DNA-polymerase sørger for at dobbeltspiralen tvinnes opp og forbindelsen mellom basene løsner slik at de to DNA-trådene begynner å skille lag fra en ende. Se Fig. 13.

Fig.13.

Replikasjon av DNA (etter Gardner og Snustad 1981).

I cellekjernen finnes det frie nukleotider og ved hjelp av enzymer begynner de å feste seg til de to trådene. Etter som det bare er en bestemt plass hver av de 4 ulike typer nukleotider kan festes, bygges det ved hjelp av de frie nukleotider opp to nye dobbelttråder som er en eksakt kopi av den opprinnelige DNA-tråden.

Hver av de to nye DNA-molekyler inneholder altså en helt gammel og en helt ny tråd. Dette kalles for en halv-konservativ kopiering (replikasjon). Det nye arvestoffet vil altså inneholde en halvpart som er gammel og en halvpart som er ny. Dette har en kunnet bevise ved hjelp av isotopteknikk. Hos kolibakterier er det vist at DNA-syntesen foregår med en hastighet på ca. 90 tusen nukleotider pr. minutt.

Watson-Crick-modellen som delvis bygger på fullstendig bevis og delvis er hypotetisk, har vakt svært stor interesse innen biologien. Dette fordi modellen gir en sannsynlig forklaring på geneses og kromosomenes evne til eksakt å reprodusere seg selv. Følgen av dette er at mitosen hos alle organismer leder til dobbeltceller med presis samme genetiske konstitusjon som morcella. Denne fundamentale prosess er selvsagt mer komplisert enn det som er omtalt her.

3. Den genetiske kode.

Sammenhengen mellom DNA og proteiner

I de senere år er det gjort store framskritt i retning av å klarlegge det genetiske alfabet i kromosomene som leder til produksjon av de bestemte proteiner som er nødvendig for opprettholdelse av livsfunksjonene.

En skal her bare gi kort sammendrag av det som er nødvendig for å få et begrep om hva som foregår.

Alle stoffomsetninger i de levende celler foregår som kjent ved hjelp av proteiner. Når et protein hjelper til med en stoffomsetning kalles det for et enzym.

Alle opplysninger om de arvelige egenskaper hos en celle er lagret i DNA-molekylet og arvestoffets primære oppgave er å bestemme hvordan et protein skal være sammensatt.

Proteinet er som kjent bygget opp av aminosyrer. Syregruppen i en aminosyre kan bindes til aminogrupeer i en annen, slik at de to aminosyrene blir knyttet sammen til et større molekyl som kalles et peptid. Koblingen mellom to aminosyrer kalles en peptidbinding.

Ved hjelp av peptidbindinger er det mulig å sette sammen lange kjeder av aminosyrer omtrent som en kobler sammen jernbanevogner til lange tog som kalles polypeptider. Et polypeptid er i realiteten et protein, noen proteiner kan imidlertid bestå av flere polypeptidkjeder.

Med 20 ulike aminosyrer som byggestener kan det lages en uendelighet av kombinasjoner. Om vi f.eks. begrenser antallet aminosyremolekyler i et protein til 140 og sier at hvert av de 20 aminosyrer skal være representert 7 ganger, kommer en til at denne kombinasjon kan arrangeres på 135×10^{165} ulike måter. (Dette tallet er antatt å være større enn det sannsynlige antall atomer i universet).

Antallet aminosyremolekyler i en polypeptidkjede er fra 100 og opp til mer enn 300.

Ved å ordne bokstaver i en bestemt rekkefølge kan vi ved skrift overføre informasjon. Nå er det i DNA-molekylet bare 4 ulike baser og med bare 4 bokstaver kan en ikke få sagt mye ($4!=24$).

Skal det lagres omfattende informasjoner, må en derfor ta større deler av DNA-molekylet til hjelp. Som tidligere nevnt er det sannsynligvis opptil noen hundre basekombinasjoner som tilsammen utgjør den informasjonsmengde vi benevner med et gen.

Den genetiske kode representerer egentlig ikke selve beskjeden om hvordan proteinene skal bygges opp, koden i DNA blir først oversatt fra et 4-bokstavers språk til et språk som inneholder 20 bokstaver.

Såvidt en vet, kan cellene bare oversette i en retning fra DNA til protein, men ikke den andre veien. For å make denne oversettelsen, bruker cellene ulike typer av "hjelpemolekyler" og mekanismer.

Den beskjeden som er lagret i DNA er først "kopiert" over til et lignende molekyl som DNA og dette molekylet kalles budbringer-RNA (Messenger RNA).*

RNA-molekylet har også 4 basekombinasjoner, men her savner en basen thymin som er erstattet av en annen base som kalles urasil. I alle tilfeller der thymin (T) opptrer i DNA finner vi på tilsvarende plass urasil (U) i RNA-molekyl.

Crick så tidlig at den genetiske kode kunne bli løst direkte hvis en kunne bestemme aminosyresekvensen i proteinet og samtidig kunne finne den basesekvens på den del av DNA-molekylet der koden er plassert. I løpet av 60-årene ble det på dette området gjort store fremskritt. Dette skyldes bl.a. at amerikanerne Nirenberg og Khorana lyktes i å bygge opp RNA syntetisk, slik at det med RNA av kjent sammensetning ble mulig å fremstille enkle molekyler (Nobelpris 1968).

På grunnlag av disse undersøkelser fant en at DNA-koden blir "lest" ved at en betrakter 3 og 3 baser samtidig (The triplet code).

* Messenger-RNA. Dette er "kopi" av et avsnitt av den genbærende del av DNA. Dette messenger-RNA assosieres med en eller flere ribosomer. Forekomsten av messenger-RNA ble først påvist av Jacob og Monod i bakterier, 1961 (Nobelpris 1965), men er senere funnet i høgere organismer.

De 4 baser kan om en betrakter 3 og 3 av dem, leses på tilsammen 64 ulike måter. Nirenberg og Khorona var i sine arbeider i stand til å analysere resultatet av hver enkelt av alle disse 64 ulike koder.

Den slutning de kunne trekke av disse arbeider var i første rekke:

- DNA kontrollerer med sikkerhet aminosyresekvensen i de ulike proteiner og denne kontroll formidles gjennom RNA. (Dette var første gang en påviste korrelasjon mellom nukleotidsekvensen i DNA og aminosyresekvensen i polypeptider).
- Disse undersøkelser har gitt definitivt bevis for at den genetiske kode er en trippelkode.
- Det har lyktes å vise hvilken informasjon hver av de 64 ulike trippelkoder gir.

Detaljene vedrørende denne definering er gjengitt i Figur 14.

Som det går fram av denne figuren, kan ulike koder gi samme aminosyrese. Sekvensen for aminosyren Alanin er altså gitt ved 4 ulike koder GCU, GCC, GCA og GCG. Disse reservekodene har sannsynligvis betydning ved å minske frekvensen av feillesning (mutasjoner). Det er ellers et par-tre ordrer av disse 64 som først i de senere år er klarlagt. Det gjelder UAA, UAG og UGA, en vet nå at disse angir begynnelsen, henholdsvis slutten, av de basesequenser som angir vedkommende gen.

Vi ser ellers at det i vesentlig grad er de to første bokstaver i koden som bestemmer hvilken aminosyre som skal kobles til peptidkjeden..

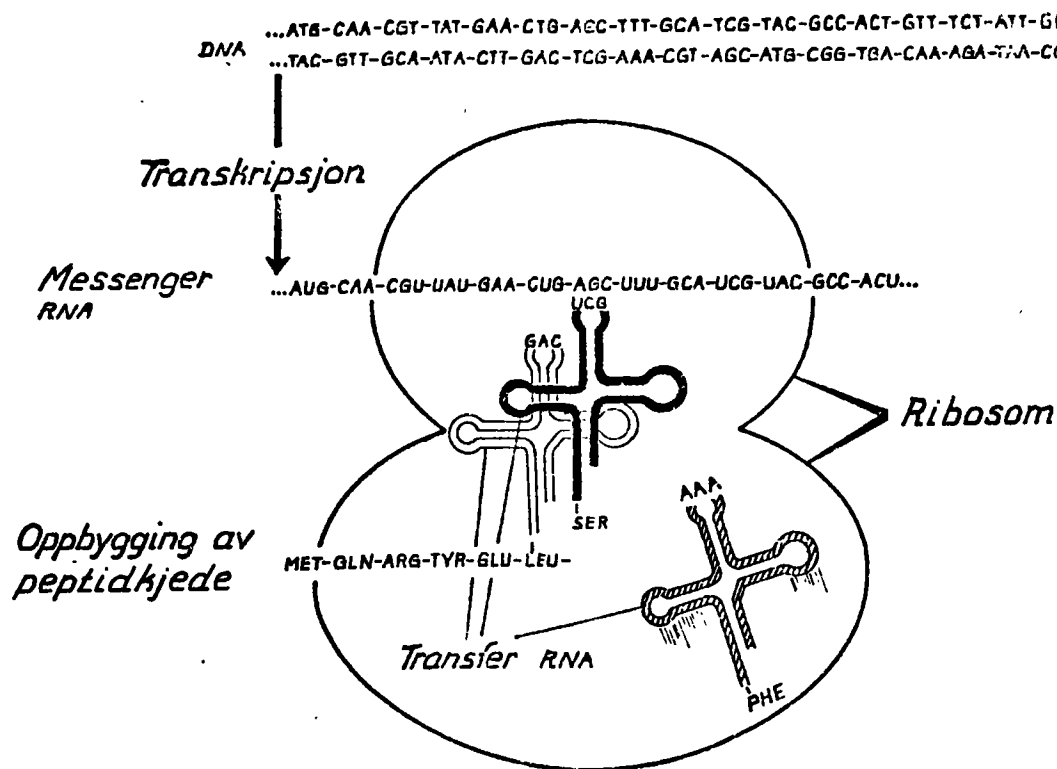
		SECOND LETTER					
		U	C	A	G		
FIRST LETTER	U	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } UCC } Ser UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } UAA stopp/ start UAG stopp/ start	UGU } Cys UGC } UGA stopp/ start UGG Tryp	U C A G	
	C	CUU } CUC } Leu CUA } CUG }	CCU } CCC } Pro CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } GluN CAG }	CGU } CGC } Arg CGA } CGG }	U C A G	
	A	AUU } AUC } Ileu AUA } AUG Met †	ACU } ACC } Thr ACA } ACG }	AAU } AspN AAC } AAA } Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }	U C A G	
	G	GUU } GUC } Val GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGU } GGC } Gly GGA } GGG }	U C A G	

Figur 14.

Den genetiske kode består av 64 ulike kombinasjoner av sett på 3 og 3 nukleotider som bestemmer aminosyresekvensen i polypeptider/proteiner. Som en ser er det i de fleste tilfeller flere koder som leder til samme resultat (aminosyresekvens). Dette forhold med "reservekoder" har sannsynligvis stor betydning for begrensning av virkningen av "lesefeil", dvs. mutasjoner.

4. Verksted for proteinsyntesen.

Før vi avslutter denne oversikten skal vi gi en sterkt forenklet framstilling av selve proteinsyntesen. Denne omtalen er forenkelt til det skjema som er vist i Fig. 15.



Skjematisk illustrasjon av proteinsyntesen. Genetisk informasjon er transkriptert (overført) fra DNA-molekylet til en enkel tråd i budbærer-RNA (mRNA). RNA-tråden bringes i kontakt med ribosomer. Aminosyremolekylet transplanteres til ribosomet av transfer-RNA (tRNA). Disse tRNA-legemer har en negativ kode som svarer til de tre kodetegn vi finner i et kodon på mRNA-tråden. Det aminosyremolekyl som er festet til vedkommende tRNA-legeme heftes nå til enden av den polypeptidkjede som er i ferd med i bygges opp.

Som en ser starter syntesen med AUG som koder for methionin, det ble vist av Fr.Sanger at alle peptidkjeder starter med denne aminosyre. Når en således vet start-codon for et gen, kan en bare sjekke baserekkefølgen til en finner et codon som ikke koder noen aminosyre, og det kodon er følgelig stopp-orderen (UAA). (Etter Hapwood 1981).

Kodene på DNA er overført til "blåpapiret" RNA og som vi ser har kode A i DNA resultert i kode U i RNA.

RNA representerer nå arbeidstegningen til selve proteinsyntesen. Selve syntesen skjer ved at budbringer-RNA bringes i kontakt med ribosomer, - hjelpemolekyler som tjener som verksted for syntesen.

Det neste som skjer er at ulike transfer-RNA*, som ut fra sin kode er koblet til sine spesifikke aminosyrer, søker til det sted på budbringer-RNA der kodetegnet passer sammen. På tegningen er det vist at transfer-RNA nettopp har plassert aminosyren (leucin) i sekvensen, mens et annet transfer-RNA med aminosyren (serin) holder på å kobles til sekvensen på den plass på ribosomet som motsvarer koden. MERK! Transfer-RNA med kode AUU passer bare på en plass på budbringer-RNA der en finner koden UAA.

5. Biokjemiske årsaker til mutasjoner.

Det er nå ifølge Crick vist at mutasjoner vanligvis er av følgende to typer:

- de som skyldes basesubstitusjoner (*Punktmutasjoner*)
- de som skyldes "faseforskyvning"

I det første tilfellet er en base byttet ut med en annen, men det totale antall baser er uendret.

I tilfeller med faseforskyvning er en eller flere baser addert til DNA eller tatt bort fra denne "blåkopi". Fig.16.

En kjenner nå spesielt fra undersøkelser av humant hemoglobulin en rekke mutasjoner som skyldes basesubstitusjon. Overraskende er det at med unntak av ett tilfelle skyldes alle mutasjonene endring av en enkelt base i DNA (altså basesubstitusjon).

Den første av slike mutasjoner i hemoglobulin var en endring av aminosyrerekkefølgen, slik at en på en plass hadde fått aminosyren valin istedenfor glutaminsyre. Ser vi på kartet over den genetiske kode, Fig.14, finner en at denne mutasjonen kan skyldes at en har fått endret koden GAA eller GAG til GUG.

* Transfer-RNA overfører spesifikke aminosyrer til bestemte plasser på budbringer-RNA.

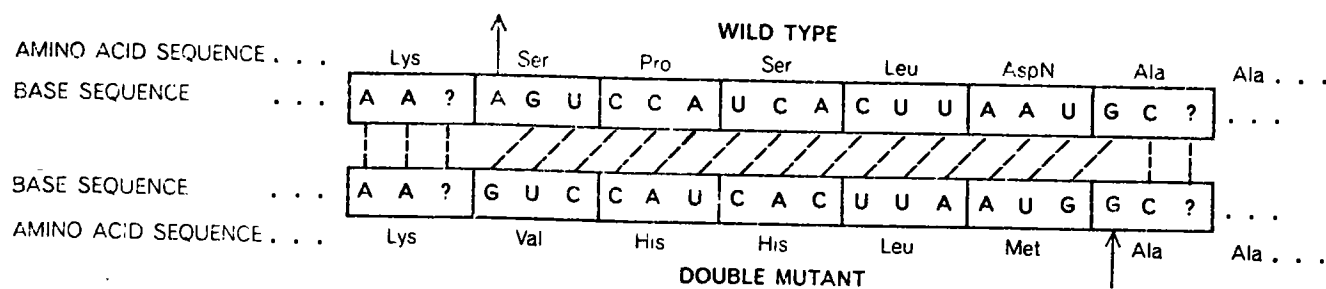
I begge tilfeller er det spørsmål om endring av bare en enkelt av de mange hundre baser som er nødvendig for koding av en av de to kjeder som hemoglobulinet er bygd opp av.

Det eneste unntaket hvor det altså er substitusjon av mer enn en base dreier seg om en endring av to baser.

Ut fra Fig.14 kan en rekne seg fram til at det bare er i ca. 40% av de tilfeller hvor en har endring av aminosyrerekkefølgen at dette kan realiseres ved endring av bare en base. Det er imidlertid nesten bare slike tilfeller som er observert i forsøkene.

Fordi flere sett av tre og tre koder resulterer i samme aminosyre, er det vanskelig ut fra endring i aminosyresekvensen eksakt å si hvilken basesubstitusjon det er tale om i hvert enkelt tilfelle.

Den biokjemiske genetikk har likevel gitt oss en logisk forklaring på mulige årsaker for genmutasjoner. Ellers er en nå kommet så langt i å fremstille syntetiske gener at en snakker om dirigerte mutasjoner. Se kapittel VII.



Figur 16. Mutasjon på grunn av faseforskyvning. Et eksempel på en basesekvens hos et virus (T4). Normalt produserer denne sekvens et protein av typen lysozym. Hos mutanten er det en faseforskyvning slik at A-basen ikke er første symbol i det sett av 3 symboler som leses samtidig (et kodon), 15 baser senere blir det lest riktig igjen. Som en ser har denne faseforskyvningen resultert i en helt annen aminosyresekvens hos mutanter enn hos utgangstypen (Crieck 1966).

6. Bestemmelse av baserekkefølgen - antall gener.

Ved isotopteknikk og elektrophorese i kombinasjon med restriksjonsenzymmer er det blitt mulig å kartlegge base-rekkefølgen på DNA-molekylet (Kronberg 1968). Resultatet av et slikt møysommelig kartleggingsarbeide er vist i Fig.17, som viser den genetiske kode hos viruset ØK 174. Lengden av dette DNA er 0.0018 mm og tilsammen 5375 baser er plassert langs denne tråden.

Figur 17. (se neste side)

Den genetiske kode for en ekstremt liten virus ØX 174. Bokstavene angir rekkefølgen for de fire basene cytosin, guanin, adenin og thymin, som danner broer mellom de to spiralene som utgjør DNA-molekylet. Den genetiske kode er bestemt av rekkefølgen av disse 4 basene, og hos ØX 174-viruset er det tilsammen 5375 nukleotider hver med en bestemt base.

Nukleotidene er hos dette virus gruppert i 9 kjente gener som hver enkelt koder aminosyresekvensen for de 9 ulike proteiner en finner hos denne virus. Det mørke feltet i figuren representerer basesekvensene for genet J, det "korteste" genet hos ØX 174-viruset.

Et tilsvarende kart over basesekvensene hos en bakterie ville kreve ca. 2000 sider, mens det ville kreve 1 million sider for å skrive den genetiske kode hos et pattedyr. Denne desifring av den genetiske kode ble utført av Fr. Sanger og medarbeidere ved British Medical Research Council Laboratory of Molecular Biology, Cambridge (Grobstein 1977).*

Et stykke av DNA eller RNA-molekylet som inneholder informasjon om et polypeptid er det en i molekylargenetikken kaller et cistron, men som er det samme som et gen, - et arveanlegg.

Hos de minste virus er det så lite som 9 gener som hver koder aminosyresekvensen i en spesiell polypeptidkjede (et protein). Hos bakterier inneholder DNA-trådene ca. 3 tusen gener som hver enkelt inneholder koden for aminosyresekvensen til et protein. Hos høgrestående organismer mener en at antallet arveanlegg er i størrelsesorden 10 eller 100 ganger det en finner hos bakterier. I cellene hos høgrestående organismer mener en at det er 10 tusener av ulike enzymer.

* I Scientific American, Desember 1977 har John C. Fiddes beskrevet de metoder som er utviklet for en rask identifikasjon av basesekvensene. Se også Gingeras og Roberts i Science 1980, s. 116.

All stoffomsetning i cellene utføres som kjent av sitt bestemte enzym. Enzymene består av ett eller flere peptider som er foldet på en bestemt måte, og denne foldingen er med og gir molekylet dets spesielle funksjon. Det stoffet enzymet arbeider med kalles substratet. Enzymets virksomhet er knyttet til et bestemt sted, det aktive sted i molekylet der substratet ved god tilpassing skaper muligheter for svake bindinger og derigjennom fremmer den spesifikke prosess (katalyserer de kjemiske prosesser i cellene).

Amerikanerne Beadle og Tatum viste i begynnelsen av 50-årene at genets primære funksjon var å kontrollere oppbyggingen av enzymene. Til hvert gen svarer det et enzym, mente Beadle og Tatum.

Det er vist at selve strukturen (foldingene) av enzymene innvirker på deres funksjoner. Det er bl.a. vist av Stein og Moore (1961) at den svovelholdige aminosyren cystin danner broer mellom ulike deler av peptidkjedene (enzymet). En endring av aminosyresekvensen i polypeptidkjeden vil følgelig kunne endre enzymvirksomheten.

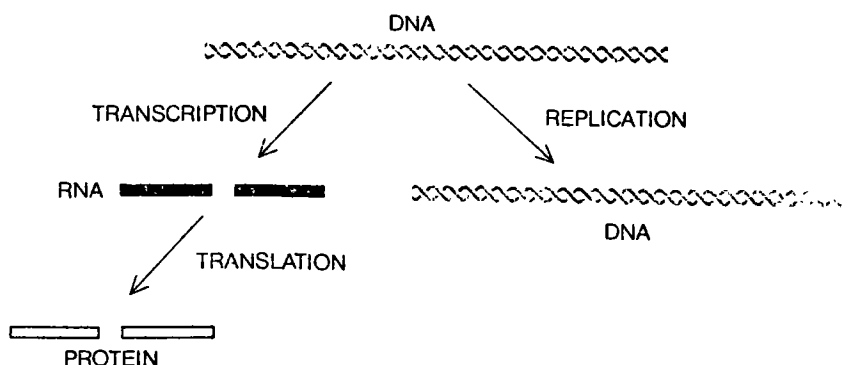
Ved at den genetiske kode styrer aminosyresekvensen ved oppbygging av polypeptidkjeder styrer altså genet oppbyggingen av både proteinene og de spesielle enzymer som har ansvaret for stoffomsetningen i cellene.

7. Informasjonsveier - "Det sentrale Dogme" innen molekylærbiologien.

Francis Crick, - en av oppdagerne av strukturen i DNA-molekylet, formulerte tesen om at genetisk informasjon innenfor en organisme bare kan overføres fra:

- 1) DNA til DNA (ved replikasjon)
- 2) DNA til RNA (ved transkripsjon)
- 3) RNA til protein (ved translering)

Informasjon kan derimot ikke gå fra protein til protein eller fra protein til RNA eller fra protein til DNA. Fig. 18. Disse slutninger har senere fått betegnelsen "Det sentrale dogme".



Figur 18.

Illustrasjon av genetiske informasjonsveier innen organisme (etter Temin 1972).

I de senere år er det imidlertid vist (Temin 1972) at det hos virus virkelig er en informasjonsvei fra RNA til DNA. (Denne oppdagelsen kan få betydning i samband med bekjempelse av virustyper som gir sykelige svultser).

Forskerne er imidlertid enige om at det er lite sannsynlig at det er informasjonsveier fra protein til protein eller fra protein til DNA.

8. Regulering av genfunksjonene

På samme måte som vi finner stor variasjon mellom arter finner vi, som vi vet, stor forskjell mellom celler fra ulike vevstyper.

Etter det vi vet, inneholder de ulike typer av somatiske celler et fullstendig sett av individets gener. Hvordan kan så cellene oppvise en slik stor fenotypisk variasjon? ✓

Dette spørsmålet har en ennå ikke noe skikkelig svar på, det som imidlertid er klart er at ikke alle de gener som er representert i cellekjernen er i funksjon på samme tid. En vet imidlertid at det hos differensierte celler hos høgestående dyr bare er en liten del, - mindre enn 10% av genene som er i funksjon.

Enkelte gener, slik som de som er ansvarlig for syntesen av ribosomalt protein, de som er ansvarlige for tRNA (transfer RNA) osv. må nødvendigvis være i funksjon i praktisk talt alle celler. Mange andre gener er derimot i funksjon i en kort periode, og bare i et spesielt utviklingstrinn. Dette sier oss at funksjonen til geneene må være regulert. Vi antar således at genenes virkning kontinuerlig blir "slått på" og "slått av" i de enkelte celler.

Omfattende undersøkelser tyder på at genenes funksjon er regulert gjennom nivået av transkripsjon, - altså omfanget av overføring av genetisk informasjon fra DNA til budbringer RNA. (se Fig. 23). Denne erkjennelse sier imidlertid ikke at det ikke også på andre måter skjer en regulering av genaktiviteten.

Det er imidlertid enighet om at den reguleringsmekanisme med størst effekt på fenotypen, er den som styrer omfanget av transkripsjonen og dermed utviklinga av mRNA (budbringer RNA).

SAMMENFATNING

Med denne, i høg grad selektive, summariske oversikt over enkelte oppdagelser innenfor den molekylære genetikk, håper en at det i noen grad er blitt lettere å forstå enkelte av de biologiske mekanismer som populasjonsgenetikken bygger på. Dette kan summeres opp i følgende punkter:

- DNA-molekylet gir plass for et enormt stort antall arveanlegg.

De økonomisk viktige egenskaper innen husdyravlen er svært ofte kvantitative. En antar at slike egenskaper beror på mange arveanlegg, og populasjonsgenetikken er derfor i stor grad beskjeftiget med en endring (forbedring) av karakterer som antas å bero på et stort antall gener.

De oppdagelser som er gjort innen molekylærbiologien viser at DNA-molekylet hos høgrestående arter virkelig har plass for et meget stort antall arveanlegg.

Disse studier kan imidlertid ikke eksakt fortelle oss hvor mange arveanlegg det er spørsmål om, men det molekylære grunnlag er likevel tilstede for et enormt stort antall arveanlegg.

- Det biokjemiske grunnlag for gen-mutasjoner.

Den sannsynligvis mest vanlige mutasjon er det vi kaller en gen-mutasjon. Omfattende studier av blant annet humant hemoglobin, men også studier av virus og bakterier, viser at langt de fleste mutasjoner skyldes ombytting av en enkelt base på DNA.

En slik ombytting vil automatisk lede til en endring av aminosyresekvensen og dermed resultere i en endret egenskap ved det aktuelle polypeptid (enzym/protein). Disse oppdagelser har i høg grad bidratt til å "avmystifisere" problematikken omkring genmutasjoner.

- Dominanseffekt, - additiv geneffekt.

I arvelæren har vi lært at arveanleggene opptrer parvise og at vi har dominante og recessive gener.

Vi har videre lært at heterozygoten (Aa) kan ha en verdi som ligger midt mellom de to homozygotene (aa og AA), - altså

intermediær nedarving, men heterozygoten kan i mange tilfeller ha samme verdi som den dominante homozygot AA, - altså fullstendig dominans.

Innen populasjonsgenetikken snakker vi i tillegg om ikke-additiv arv, hvilket i realiteten betyr at heterozygoten Aa kan være plassert hvor som helst på verdiskalaen mellom ytterpunktene aa-AA.

I de to DNA-molekyler som utgjør et kromosompar må det, for at vi i det hele tatt skal registrere et arveanlegg i et gitt locus, være ulike ordrer, altså en forskjell i basesekvensen. Etter det vi vet fra studier av genmutasjoner er det for å oppnå forskjell mellom alleler tilstrekkelig at en base er byttet ut med en av de andre tre mulige baser. ✓

Hvis vi har en slik forskjell vil de to DNA-molekylene gi opphav til ulike ordrer når det gjelder aminosyresekvensen. Avhengig av genotypen for det aktuelle locus vil vi ha følgende muligheter.

- Individet har genotypen AA.
Det produseres polypeptidkjeder med lik aminosyresekvens, vi kan kalle denne for A.
- Individet har genotypen aa.
Det aktuelle gen resulterer i at det produseres et polypeptid der aminosyresekvensen er den samme for begge alleler, men forskjellig fra A. Vi kan kalle denne aminosyresekvensen for a.
- Individet er heterozygot, genotypen Aa.
Med utgangspunkt i den genetiske kode som er plassert i det aktuelle locus finnes det her to ulike ordrer. Allel A resulterer i polypeptid med aminosyresekvens A, mens allel a leder til et polypeptid med aminosyresekvens a.

Med dette som utgangspunkt kan en tenke seg:

- a) - at effekten av den ene kode leder til et resultat som overskygger virkningen av den andre aminosyresekvens. En slik effekt ville vi kunne kalle domnanseffekt.

- b) - at virkningen av de to typer av polypeptider leder til en mellomting mellom de to ytterpunktene aa og AA. Vi kan således forestille oss additiv geneffekt.
- c) - at syntesen av to ulike polypeptider, - en med aminosyrefrekvens a og den andre med sekvens A, gir en virkning som kan ligge hvor som helst innenfor intervallet aa og AA, - med andre ord en ikke-additiv geneffekt.
- d) - at effekten av den genetiske kode i det aktuelle locus kan være avhengig av de aminosyresekvenser som blir resultatet av de koder som er plassert i et annet locus, f.eks. locus B. Vi har med andre ord en samspilleffekt mellom loci, - altså epistasi.
- e) - at en ved endring av basesekvensen i det andre allel kan få flere forskjellige koder som leder til en lang rekke ulike aminosyresekvenser. En kan således lett tenke seg det molekylære grunnlag for multiple alleler.

LITTERATUR

- Britten, R.J. and Kohne, D.E. 1970. Repeated Segments of DNA. Scientific American.
- Crick, F.H.C. 1962. The genetic Code. Scientific American.
- Crick, F.H.C. 1966. The genetic Code. III. Scientific American.
- Gardner, E.J. and Snustad, D.P., 1980. Principles of Genetics. John Wiley & Sons, N.Y.
- Gingeras, T.R. and Roberts, R.J. 1980. DNA sequence Data Analysis, Science, Vol. 209.
- Grobstein, C. 1977. The Recombinant-DNA-debate. Scientific American.
- Hapwood, D.A. 1981. The Genetic Programming of Industrial Microorganisms. Scientific American.
- Jacob, F. and Monod, J. 1961. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of protein. J. Mol. Biol. 3.
- Kimura, M. 1979. The Neutral Theory of Molecular Evolution, Scientific American.
- Kronberg, A. 1968. The synthesis of DNA, Scientific American.
- Temin, H.M. 1972. RNA-Directed DNA Synthesis, American Scientist.

VI. MULTIPLE KOPIER (GJENTATTE SEGMENTER) AV DNA

Det er innen molekylargenetikken i de senere år gjort epokegjørende oppdagelser. Disse oppdagelser har tilsammen skapt grunnlaget for genteknikken, - altså programmert transplantering av gener.

For forståelsen av denne teknikk kan det synes ønskelig med et lite innblikk i hvordan genene egentlig er "pakket" innenfor DNA-molekylet. Denne enkle oversikten gir oss en idé om at det er betydelige deler av DNA-molekylet som ikke er gener i vanlig forstand, men videre lærer vi at det er basesekvenser som har som oppgave å regulere funksjonene av de enkelte gener (Fig. 23).

Oppdagelsene når det gjelder DNA-strukturen indikerer at vi som grunnlag for de enkelte gener har presise, men også unike basesekvenser. Det var derfor en stor overraskelse da en i 1964 oppdaget at mye av DNA i celler hos mus besto av multiple kopier av de samme basesekvenser.

Slike multiple kopier er senere blitt påvist hos en rekke høgrestående dyrearter. Disse kopier varierer i mengde fra 20% og opp til så mye som 80% av DNA-innholdet.

Presisjonen av selve gjentakene kan variere noe, slik at en ofte snakker om multigene familier av gjentatte DNA-sekvenser heller enn identiske sekvenser. Antallet av baser i slike multiple kopier kan variere fra så lite som 50 baser og opp til så lange sekvenser som 2 millioner stk.

Vanligvis blir ikke multiple sekvenser transkribert, men det faktum at i det minste noen få av disse gjentatte sekvenser er transskribert til RNA, indikerer at disse kopier muligens har en funksjon i cellene. Det er imidlertid fremdeles ukjent hvilken rolle disse kopier spiller, - muligens har disse multiple sekvenser en regulerende cellefunksjon. (Det forhold at kopiene vanligvis ikke transkriperes får konsekvenser ved transplantering av gener, se senere under punkt 3 i dette kapittel).

Det er nå kjent at en har 3 ulike grupper av slike overskytende DNA, nemlig:

- a. Introns, - mindre regioner av DNA uten genetisk kode, plassert mellom gener.
- b. Satelitt-DNA, enkle gjentatte DNA-sekvenser uten noen kode-funksjon.
- c. Multigen-familier, multiple gjentak av like eller identiske gener.

1. Hvordan estimere omfanget av multiple kopier?

I et vanlig DNA-molekyl er enhver base parett med den komplementære base (adenin - thymin og guanin - cytosin) og denne dobbeltspiralen er forholdsvis stabil.

De bånd en har mellom de to spiralene kan imidlertid lett brytes ved opphetting slik at de to spiralkoder kan bli helt skilt fra hverandre. Denne dissosiasjon kan en ganske enkelt få ved å koke DNA-innholdet i noen minutter.

Hvis en overlater en slik disosiert DNA til seg selv i noen minutter, vil vi, hvis forholdene ligger tilrette for det, få en forening av enkelttråder slik at vi igjen får komplette dobbelt-tråder.

Forutsetningene for å få til en slik reassosiasjon er:

- saltkonsentrasjonen må være forholdsvis høy
- temperaturen må være ca. 25°C under dissosiasjonstemperaturen.
- en må ha tilstrekkelig tid til at de komplementære baser kan forenes.

Graden av reassosiasjon viser seg å være et avgjørende kriterium i de eksperimenter der en vil analysere omfanget av gjentatte DNA-kopier.

Omfanget av reassosiasjon kan måles på flere måter. Da Britten og Kohne i 1964 påviste forekomsten av multiple kopier brukte de et filter for å skille fra hverandre de doble og de

enkle spindeltrådene. Filteret besto av krystalinsk kalsiumfosfat. Som en ser av Fig.19 passerer de enkelte DNA-trådene gjennom et slikt filter, mens dobbelt-trådene holdes tilbake.

Grunnleggende undersøkelser har vist at omfanget av reassosiasjon øker med økende antall multiple kopier og at tempoet i reassosiasjonsprosessen øker med økende antall av multiple DNA-kopier.

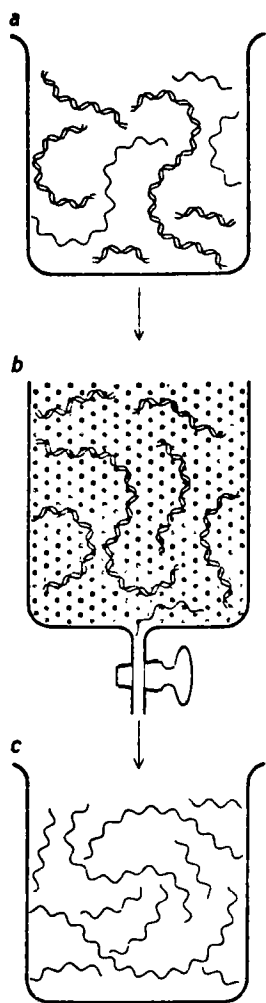


Fig.19.

Måling av omfanget av reassosiasjon av DNA-tråder.

Øverst. Ved opphetning er det en del tråder som dissosieres (skiller lag). Alle doble tråder holdes tilbake i krystallfilteret (midterste figur), mens enkelttrådene slippes igjennom. (Etter Britten og Kohne 1970).

Når DNA-trådene stammer fra forskjellige, men beslekta individer, vil ikke basene være perfekte komplementære. Den beste måten for å kunne estimere forskjell mellom tilsvarende DNA-sekvenser er ved å lage hybridmolekyler, assosiasjon mellom enkelttrådene fra to individer for så å måle stabiliteten av slike hybrid-dobbeltspiraler.

Forekomsten av bare noen få baser som ikke hører sammen reduserer stabiliteten og resulterer i at dissosiasjon skjer ved en lavere grad av oppvarming.*

Undersøkelser har vist at cellene til hvirveldyr inneholder mye mer DNA enn hva tilfellet er for bakterier. Det var ventet at dette ville lede til at assosiasjonen av DNA-tråder tok mye lenger tid enn det en har hos bakterier.

Forskerne ble imidlertid overrasket når de så hvor raskt assosiasjonen skjedde hos DNA isolat fra celler hos mus. Den (eneste) mulige årsak til dette ble antatt å være multiple kopier. Det ble senere påvist at 10% av DNA-mengden hos mus består av omkr. en million kopier av en sekvens som inneholder ca. 300 basepar.

Som allerede nevnt antok en at reassosiasjonen, på grunn av den store DNA-mengde pr. celle, måtte ta mye lengre tid hos pattedyr enn f.eks. hos bakterier.

La oss se litt nærmere på dette spørsmålet:

Hvis alle basesekvenser i DNA hos et pattedyr var forskjellige, ville under reassosiasjonen hver enkelt basesekvens bli "fortynnet" med alle de andre sekvenser. Denne fortynning skulle en anta ville resultere i en minsking i farten av selve reassosiasjonen, og denne minskingen skulle være proporsjonal med selve genomstørrelsen for de enkelte dyrearter (Fig.20).

Dette viste seg å stemme, vel å merke, hvis en korrigerer for omfanget av multiple kopier.

* Undersøkelser har vist at ved en økning av feil-matching på 1,5% reduseres dissosiasjonstemperaturen med 1°C.

2. DNA-molekylet hos storfe

Storfeet er den av de høgrestående dyr som er mest undersøkt når det gjelder DNA-molekylet.

Selve forløpet av reassisiasjonen er et helt annet hos storfe enn f.eks. hos bakterier (coli). Som det går fram av Fig. 21 starter reassosiasjons-prosessen mye raskere hos storfe-DNA, mens det i selve midtfasen skjer lite. Ved slutten av prosessen er det igjen en sterk intensitet i reassosiasjonen. ✓

Det er blitt fastslått at det i den senere del av denne kurve skjer en assosiasjon av de basesekvenser det finnes bare ett eksemplar av.

I den første del av kurven reassosieres DNA ca. 100.000 ganger så fort som i slutfasen, hvilket indikerer at for hvert segment som reassosierer i den innledende fase må det være ca. 100.000 flere segmenter i vedkommende genom som er like nok til å kunne danne komplementære par på selve DNA-tråden.

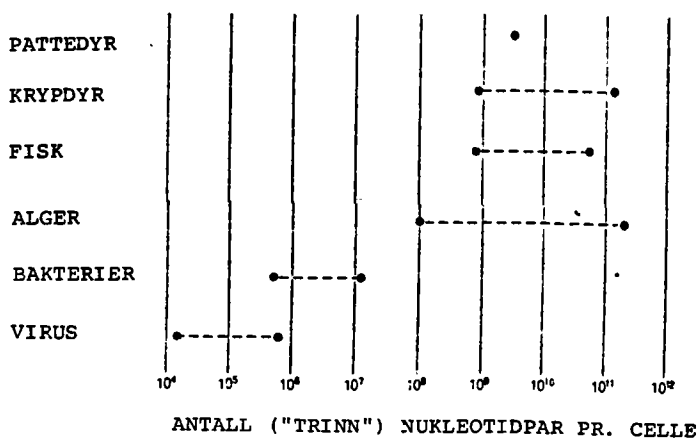


Fig. 20
Genomstørrelsen, - altså mengden av DNA pr. celle øker etter hvert som en beveger seg fra de primitive til de høgrestående dyr. Variasjonen i antall nuklotide-par pr. haploid celle er angitt for ulike arter. Hos pattedyr viser genomstørrelsen liten variasjon, antallet nukleotidpar "trinn" ligger på noen milliarder stk.

Mer inngående studier av storfe-DNA viser at det er to store familier av slike multiple kopier. Den ene gruppen består av ca. 1 million kopier, men utgjør likevel bare ca. 3 prosent av DNA-mengden. Den andre familien av kopier utgjør derimot hele

40% av det totale storfe-DNA. Den består av ca. 66.000 kopier, men ikke alle disse kopier er like. Fordi disse forholdsvis forskjellige kopier utgjør en så stor del av DNA-innholdet, er følgelig antallet basepar i hver kopi meget stort.

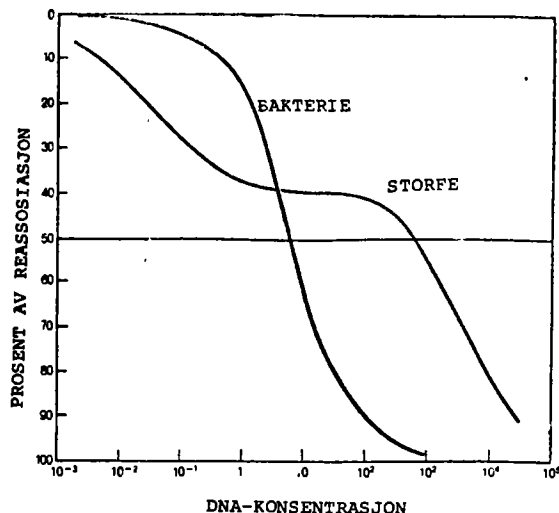


Fig.21

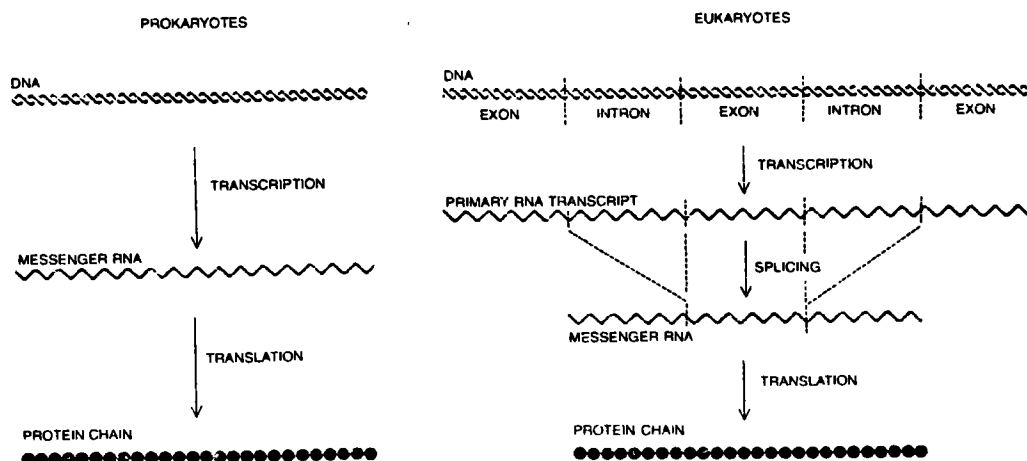
Tidsforløpet ved reassosiasjon av DNA hos henholdsvis coli og storfe. X-aksen angir DNA-konsentrasjonen.

3. Hvilken rolle spiller så disse multiple kopier?

Før en diskuterer noe nærmere dette uløste problem skal vi se litt nærmere på omfanget av slike kopier hos andre arter, og diskuterer hva en eventuelt evolusjonsmessig kan slutte ut fra disse undersøkelser.

I de senere år er det foretatt slike DNA-studier av et meget stort antall plante- og dyrearter. Signifikante mengder av multiple DNA-kopier er funnet hos mennesker og hos andre pattedyr, hos fugler, krypdyr, fisker, insekter, protozoer, men også hos planter innenfor utviklingsområdet alger til kveite.

Hos bakterier og sopp er det derimot påvist forholdsvis lite av slike multiple kopier, og nettopp denne forskjellen i DNA-molekylet hos mikrober og høgrestående dyr har som vi senere skal se innvirkning på valg av metoder for kunstig overføring av arveanlegg.



Figur 22.

Mikrober som har svært lite av introns har en lengde på mRNA-kjeden som er omtrent av samme størrelse som DNA-molekylet. Hos høgrestående dyr blir mRNA-kjeden forholdsvis kortere fordi de multiple kopier ikke transkriperes.

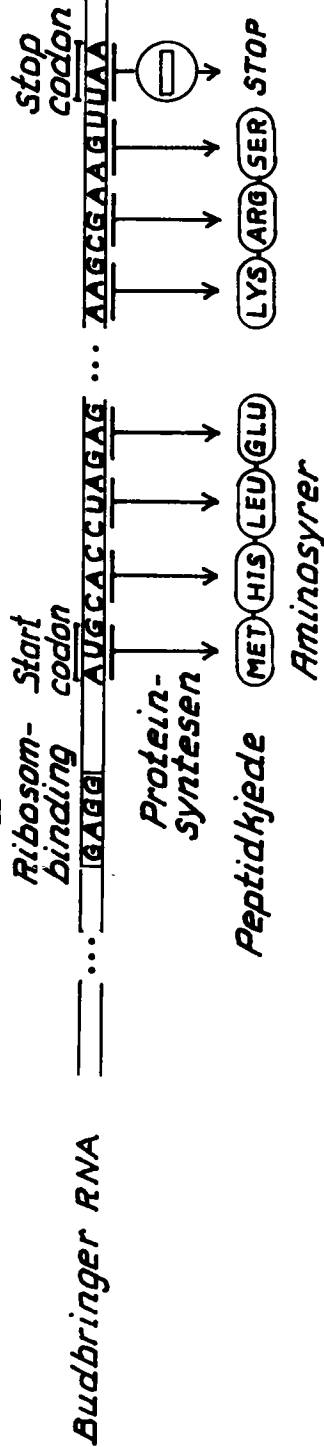
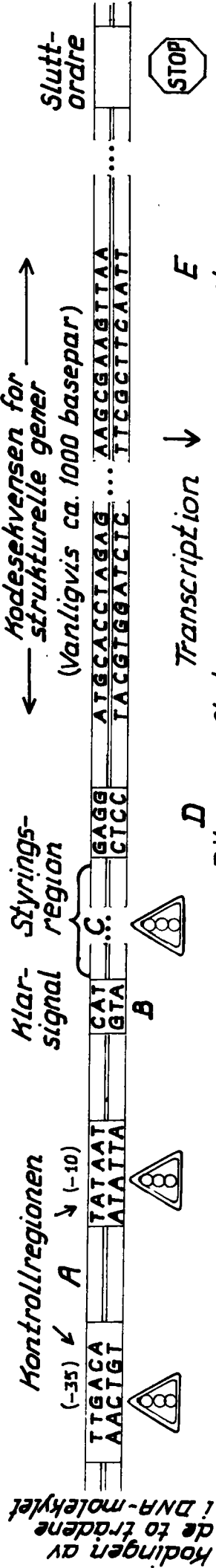
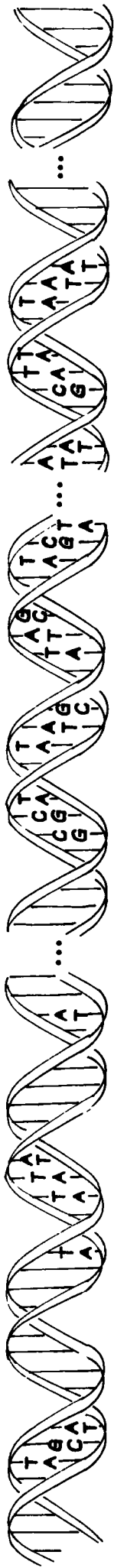
Som det går fram av fig. 22 transkriperes vanligvis ikke slike basesekvenser som ikke koder aminosyrer (f.eks. introns).

Som følge av dette blir lengden av budbringer-RNA-kjeden kortere enn selve DNA-molekylet. Nå har en videre som vist i Fig. 23 det forhold at det er nødvendig med to "kontrollorganer" for å regulere transkripsjonen. En av disse kalles promotorer, - det er korte DNA-sekvenser som starter selve transkripsjonen, mens det andre kontrollorganet er en sekvens som stopper transkripsjonen når er kommet så langt i basesekvensen at genet er slutt.

Hvis en transplanterer DNA fra pattedyr til mikrober, kan det på grunn av multiple sekvenser bli vanskelig å oppnå normal transkripsjon, - dette antagelig fordi en ikke i umiddelbar nærhet av genet finner sekvensen som starter og som stopper transkripsjonen.

Etter at dette ble kjent, har en i mange tilfeller unngått dette problemet ved isteden for å transplantere DNA overfører mRNA til mikrobene.

DNA - molekylet



Figur 23.

Et eksempel på reguleringen av genenes virkemåte.

Det er minst to basesekvenser (A) (kontrollregionene) som regulerer selve transkripsjonen fra DNA til mRNA. Disse regioner er i dette eksemplet plassert henholdsvis 35 og 10 basepar foran første "kontrollpost" (B). Den andre av disse to kontrollposter med kodene TATA er påvist hos 60 forskjellige dyrearter og kalles gjerne "TATA-Box".

For gener som innvirker på konsentrasjonen av bestemte metabolitter i vedkommende celledetype, er det en ekstra kontroll C og det er plassert straks før basesekvensen (D), som regulerer bindingen til mRNA.

Proteinsyntesen starter alltid med aminosyren methionin, altså codon AUG og stopper ved første codon som ikke koder aminosyre TAA på DNA-molekylet, dvs. UAA på mRNA-tråden (delvis etter Hapwood 1981).

Figur 24 viser en jevnføring mellom ulike arter når det gjelder type og omfang av multiple DNA-kopier. Disse spektra av DNA-kopier viser liten likhet over arter. Storfeet har som vi ser få eller ingen familier av kopier med fra 10 og opp til 10 tusen kopier, mens f.eks. snegle ikke har noen kopi-familier som består av så mye som 10 tusen kopier. Britten og Kohne (1970) antar at det bare er hos pattedyrene en finner så mye som 100 tusen til 1 million kopier i en familie.

Hos DNA fra mus er det funnet "familier" på ca. 100 kopier og slike grupper av kopier er funnet på mange av kromosomene. Det særegne ved disse kopier er en svært kort sekvens som er gjentatt mange ganger.

Omfattende undersøkelser indikerer at slike kopier er fordelt over store deler av DNA-molekylet. Hvis en deler opp DNA i 20 tusen basepar "trinn", vil en i nesten alle slike fragmenter finne kopier.

Hos storfe har en forholdsvis godt kjennskap til plasseringen av slike kopier. Her er det vist at en på DNA-segmenter av en lengde på 4 tusen basepar finner kopier i 75% av segmentene.

Alle gener som er representert i et genom antas å være representert i alle individets celler selv om ikke alle genene har noen funksjon i vedkommende vevstype. Det er med andre ord selve differensieringen som avgjør om de respektive gener skal komme til uttrykk eller ikke.

Funksjonen til mange av genene er som kjent å kode proteinsyntesen og vi kjenner nå mekanismen for koding av aminosyresekvensen.

Det første trinn i denne prosessen er som kjent transkripsjonen av DNA-basesekvensen til "budbringer" - RNA. Når så RNA griper inn i proteinsyntesen, vil basesekvensen gi informasjon om aminosyre-rekkefølgen. C

Vår interesse i denne sammenheng er konsentrert om syntesen av RNA ut fra kodene til DNA, - altså geneffekten.

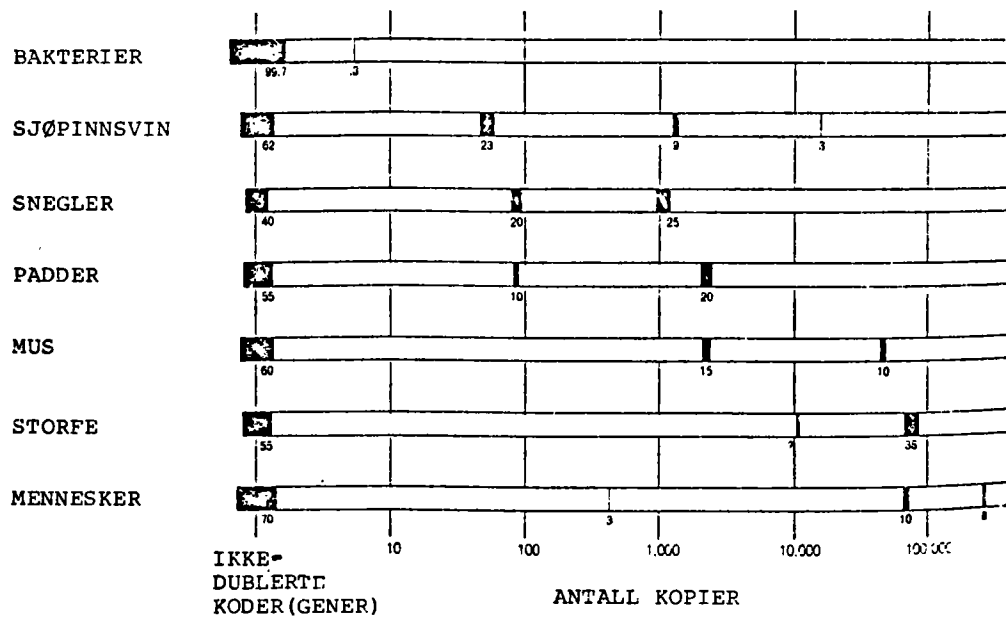


Fig. 24

Illustrasjon av omfanget av multiple og av ikke-multiple sekvenser (kopier) i DNA-molekylet hos ulike arter. Hos bakterier f.eks. er det bare 0,3% av DNA-volumet som består av multiple kopier. Hos storfe er det hele 45% av DNA-mengden som består av multiple kopier. De multiple kopier består av to familier, i den minste av disse familier er det ca. 10 tusen kopier.

Nå kan vi si at et gen kommer til uttrykk såfremt det skjer en syntese av RNA på grunnlag av den basesekvens vi finner i DNA. Det er derfor en god test på genetisk aktivitet å søke etter mengden av RNA som er komplementær til DNA.

Slike undersøkelser ville være vanskelig om de konsentreres om ikke-multiple sekvenser, mens problemet er forholdsvis enkelt når det gjelder multiple sekvenser som lettere lar seg identifisere.

Ved hjelp av spesiell isotopmetodikk er det nå blitt mulig å estimere omfanget av RNA produsert fra slike multiple sekvenser. Undersøkelsene viser at de virkelig transkriberer RNA og

det beviser at disse sekvensene må ha en eller annen misjon selv om de ikke deltar i kodingen av aminosyresekvensen.

Hvis vi hadde hatt 2,3 eller noen få kopier av spesielle sekvenser, kunne det ha indikert en slags form for "assurance" for den kode det gjelder. Etter som det her imidlertid er snakk om tusenvis av kopier, synes ikke "assurance-argumentet" å ha noe for seg. ✓

Molekylærgenetikerne heller derimot til den oppfatning at slike kopier har oppstått ved en spesiell form for mutasjoner og at denne RNA-mengden ikke uten videre har noen genetisk funksjon.

Typen og omfanget av multiple kopier brukes nå i evolusjonsstudier på linje med de studier som er basert på likhet i aminosyresekvens mellom arter.

Det er særlig evolusjonen av hemoglobin som i de senere år er tatt i bruk for datering av spesiell utvikling. ✓

Hos hvirveldyrene finner vi hemoglobinmolekyler med 4 kjeder, - to identiske α -kjeder og to identiske β -kjeder.

Hos pattedyr er det funnet at det skjer en utbytting pr. 7 millioner år i α -kjeden som består av 141 aminosyrer. Dette tilsvarer en substitusjon i løpet av en milliard år pr. aminosyre-plass.

Både α - og β -kjedene har i prinsippet samme struktur, de er av omtrent samme lengde og har omtrent samme frekvens av substitusjon av aminosyrer over tid.

De kjedene oppsto for ca. 450 millioner år siden og differensiering skyldes mutasjoner som har ledet til slik endring av aminosyresekvensen.

Alfa-kjeden hos mennesker og hos karpefisk skiller seg fra hverandre i omtrent halvparten av aminosyresekvensene, dette sannsynligvis fordi det er akkumulert mutasjoner over ca. 4900 millioner år.

En lignende evolusjon av hemoglobulinkjedene finner vi hos andre dyrearter, og disse kunnskaper kan nyttes til å sette opp en oversikt over slektskap mellom ulike dyrearter. Et slikt stamtre er illustrert i Fig. 25. Dette er laget av Kimura 1979.

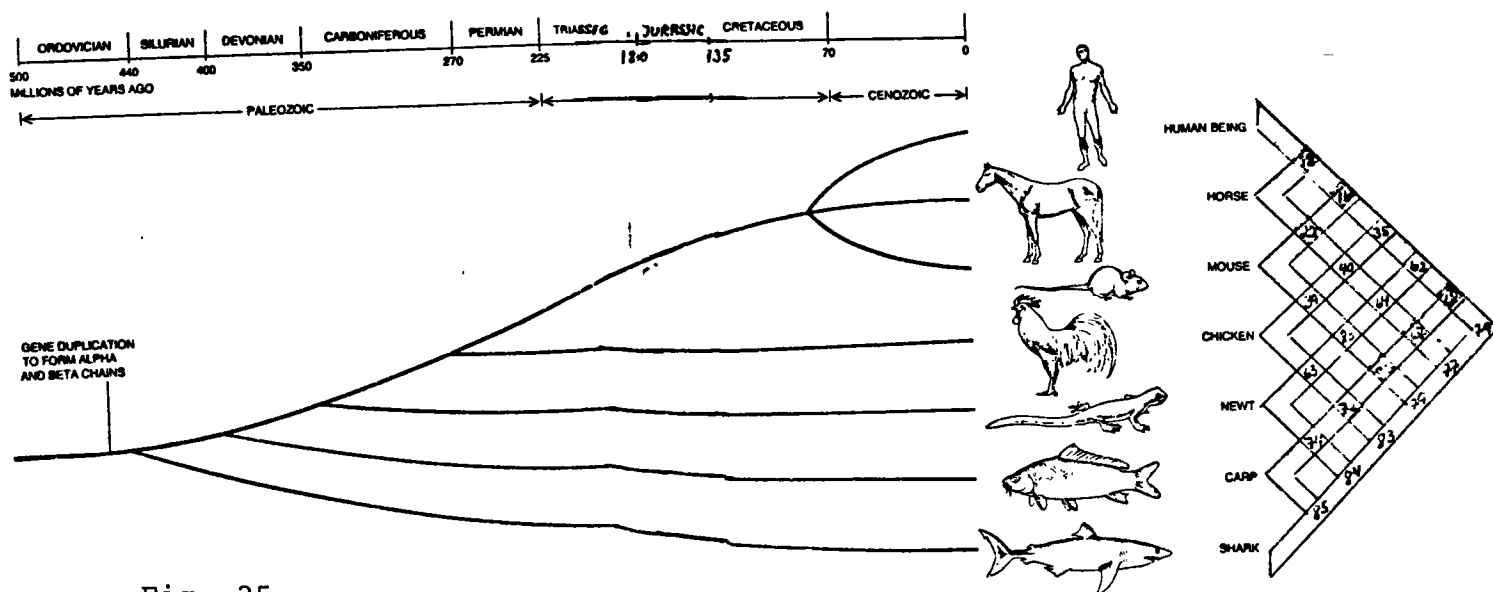


Fig. 25.

Et stamtre satt opp på grunnlag av molekylærgenetiske studier av α - og β -globulin. Til høyre i denne figuren finner vi hvor mange av de 141 aminosyresekvensene er forskjellige når en betrakter 2 og 2 arter. I jevnføring mellom mennesker og hest finner vi 20 ulike plasseringer når det gjelder aminosyre- rekkefølgen i globulinet. Slik ulikhet finner en i 22 plasseringer av aminosyrene når en jevnfører hest og mus osv. (etter Kimura 1979).

Graden av likhet når det gjelder slike multiple kopier er utvilsomt et uttrykk for slektskapen mellom arter.

Med utgangspunkt i denne datering av artene har en kunnet danne seg en mening om hvor langt tilbake i tiden de multiple DNA-kopier oppsto.

Konklusjonen er at slike multiple koder oppsto meget tidlig i utviklingsprosessen.

Litteratur: Se s. 94.

VII. GENTEKNIKK

"It would be foolhardy to try to predict specific outcomes of Recombinant DNA. We can be certain only that they will be unexpected and astonishing".
M.Singer, Science, Sept. 1980.

I samband med reproduksjonen skjer det som kjent en overføring av arveanlegg fra foreldre til avkom. Vi har imidlertid bare begrensede muligheter til å selekttere hvilke gener som i hvert enkelt tilfelle ønskes overført.

Arvelighetsforskerne har naturlig nok lenge vært opptatt av mulighetene for i større grad å kunne kontrollere hvilke gener en ønsker å kombinere i nye individer.

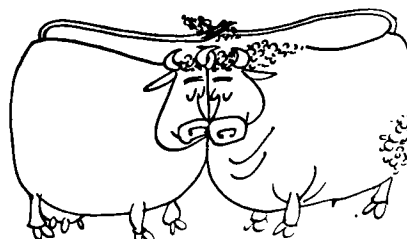
Innenfor molekylærgenetikken har en siden begynnelsen av 70-årene vært opptatt av denne problematikken, og siden 1976/77 har det her vært en nærmest eksplosiv utvikling. Vi har fått presentert helt nye arbeidsmetoder som går under betegnelsen genetic engineering.*)

Dette er et begrep som vanskelig lar seg oversette direkte, men vi kaller denne arbeidsmetode i fortsettingen for genteknikk.

En har nå kommet så langt at det synes mulig å overføre selekterte gener, og etterpå kunne registrere hvorvidt vedkommende DNA-deler blitt en bestanddel av genotypen.

En kan dele denne forskningsaktiviteten i to retninger.

*) I faglitteraturen finner vi også andre benevelser slik som: Gene manipulation, molecular cloning eller gene cloning. MRK! Kloning er her brukt i en annen betydning enn den definisjon som er gitt s. 33.



1. Utvikling av metoder for ^roverføring av arveanlegg for hormon/enzymproduksjon fra dyr og mennesker til bakterier.

Ved hjelp av bakteriekulturer er det nå mulig med industriell produksjon av viktige hormoner og enzymer. Det er allerede et stort antall amerikanske firmaer som er igang med slik industri. En kan således nevne at det amerikanske selskapet Genentech i år (1982) er kommet på markedet med bovint veksthormon.

2. Genteknikken har også et helt annet aspekt, - nemlig overføring av arveanlegg fra en dyregruppe til en annen. Det er særlig denne siden ved genteknikken vi skal berøre noe nærmere.

Ennå er det forholdsvis få forskningsgrupper i aktivitet når det gjelder den foredlingsmessige side ved genteknikken. Se bilag 3.

Det er imidlertid hos disse forskerene stor optimisme med hensyn til de muligheter denne teknikken innebærer. Det er videre understreket at denne metodikk sannsynligvis vil supplere, men ikke erstatte tradisjonelle metoder i husdyrforedlingen. Schuman og Shaffner (1982) sier i denne sammenheng: "It should be emphasized that conventional breeding methods will be visualized as extensions of current practice. As such the greatest gain will most likely occur when modification can be made in previously established well characterized stocks".

Det var i de første år en betydelig frykt for at genteknikken kunne resultere i uoversiktelige negative følger. Frykten gjaldt i første rekke risikoen for å kunne overføre til mikrober arveanlegg som gjorde de farligere for såvel planter som dyr.

Konsekvensen av genteknikken ble gjenstand for omfattende utredninger, og det ble satt opp strenge sikkerhetsregler for slik forskning.

På grunnlag av de erfaringer en etter hvert har fått er frykten for negative bivirkninger blitt svært mye mindre. I en omfattende oversikt over denne problematikken publisert i New Scientist, 26.aug.1982, er det konkludert med at frykten for uheldige bivirkninger heldigvis var ubegrunnet (se side 126).

Genteknikken åpner for nærmest uanede muligheter innenfor såvel planteforedling som husdyravl.

Selv om vi ikke skulle ha noen planer om å nytte genteknikk som et hjelpemiddel i husdyrforedlingen, har vi sannsynligvis behov for å skaffe oss en oversikt over selve metodikken. Uten slik kunnskap vil vi vanskelig kunne ha et reelt standpunkt til saken når den sannsynligvis i nær framtid virkelig blir aktuell.

Vi skal her gi en enkel oversikt over en del av de mange sider ved genteknikken. Oversikten kan bare bli overfladisk, og fordi vi her har en slik eksplosjonsartet utvikling, vil en oversikt lett bli foreldet.

Illustrerende for takten i utviklingen innenfor genteknikken er at 4 av de 5 store problemer forskerne i 1980 mente ville være løst innen århundreskiftet var løst allerede i mars 1982. (Professor Kevin Ward, Sydney Universitet 1982). ✓

I den etterfølgende oversikt er de metoder som ventes å få minst praktisk betydning bare omtalt med stikkord.

A. TILFELDIGE OG DELVIS KONTROLLERTE GENOVERFØRINGER.

1. Hybridisering av somatiske celler.

Det er her laget en fusjon mellom celler fra forskjellige dyr (arter). Resultatet av fusjonen er celler som inneholder kjerner fra begge foreldrepopulasjoner, men en tilfeldig andel av andre cellulære komponenter hos foreldrene.

Slike hybridceller vil i samband med celledelingen blande massen i de to cellekjerne, og vi får en somatisk celle-hybrid med en cellekjerne der en finner igjen en tilfeldig andel av kromosomer fra hver av de to foreldrene. Slike hybrider er ustabile, og vil etter noen celledelinger kunne ha endret sin genotype.

a. Fusjon av hele celler.

Hybridisering av somatiske celler har allerede fått stor betydning innen immunogenetikken. Ved å fusjonere celler fra milt som er immunisert overfor bestemte antigener med andre kroppsceller hos mus, har de fått hybrider som i senere generasjoner produserer veldefinerte antistoffer. Dette har i stor grad økt mulighetene for diagnostisering av immunsvare (se fig. 26) (For utførlig beskrivelse av metoden se Bernstein og medarb. 1980 eller Schlom og medarb. 1980).

b. Nukleoplast, - cytoplast og celle-rekonstruksjon.

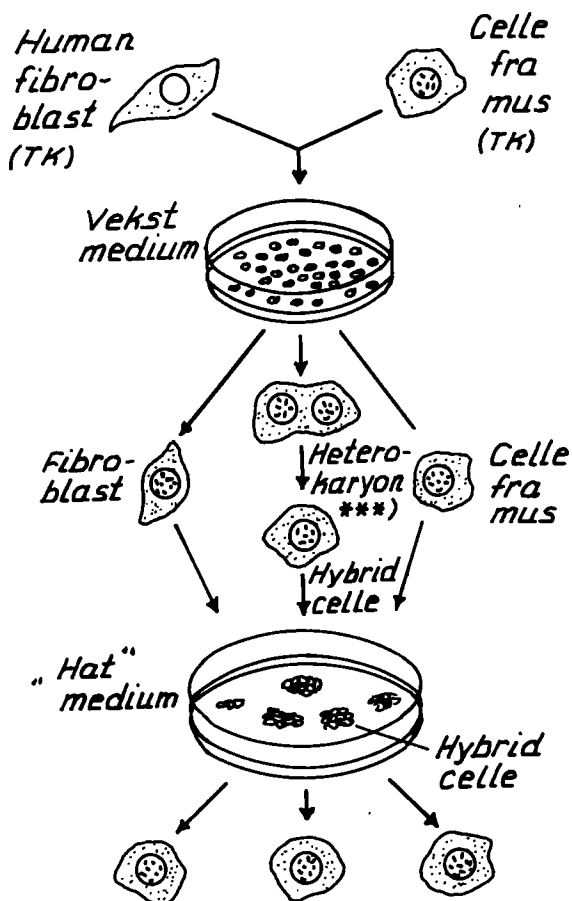
I kreftterapien er det nyttet en cellegift Cytochalin B som har til virkning at den muliggjør deling av cellekjerne, men hindrer selve celledelingen. Ved å tilsette dette stoffet til en cellekultur, kan en få en opphoping av cellekjerne.

Ved en sentrifugering får en som resultat to komponenter, nemlig:

- miniceller som består av cellekjerne omgitt av en cellemembran. Slike miniceller kalles nukleoplast.
- den gjenværende del av cellene, altså cellemembranen og cytoplasma, inneholder altså ikke cellekjerne. Slike "celler" kalles for cytoplast.

Etter som begge disse komponenter er omgitt av membran, er de funksjonsdyktige en kort tid og kan fusjonere med andre celler.

Nukleoplast fra en type celler kan således fusjonere med cytoplast fra en annen gruppe celler. På denne måten er det blitt mulig å studere effekten av cytoplasma på en (forts. side 112)



Figur 26.

Det er nå utviklet teknikk slik at en kan fremstille hybrider mellom somatiske celler. På denne måten kan en overføre gener fra en celle til en annen. Celler fra to forskjellige arter kan fusjonere ved at de bringes sammen i et substrat der en har polyetylen, glycol eller annet vekstmiddel som fremmer fusjonen, mest brukt er inaktivert substrat av et bestemt virus (Sendai).

Fusjonen mellom de to celler resulterer først i en celle som består av begge cellekjerner og med et cytoplasma som er en blanding av cytoplasma i de to celler. Etter celledeling dannes det bare en kjerne, den inneholder kromosomene fra begge foreldrecellene.

En skiller ut de celler som har fusjonert ved å inkubere de i et spesielt medium HAT * der bare hybridceller overlever og formerer seg.

I det aktuelle tilfellet (fig. 26) vil ikke-fusjonerte celler fra mus mangle gener for enzymet thymidin kinase (TK) og derfor gå til grunne i substratet, mens rene humane fibroblastceller** vil skille seg ut ved at de vil vokse svært sakte.

Denne metodikken nyttes i humanmedisinen for å teste tilstedeværelsen eller ikke for spesielle gener. Ved å endre substratet kan det selekteres for en lang rekke forskjellige gener (etter Anderson og Diacumakos American Scientist 1982).

* Dette er et selektivt medium som inneholder hypoxanthin, aminopetrin og thymin.

** Fibroblast = morceller for utvikling av bindevevsceller.

*** Karyon = noe med cellekjerner å gjøre.

gitt fenotypisk karakter, og således få et begrep om den rolle cytoplasma har når det gjelder styringen av de gener som er plassert i cellekjernen.

Slik hybridisering gir ikke muligheten til en styrt fusjon av spesielle gener. (For nærmere beskrivesle av slik hybridisering se Ege og medarb. 1974 eller Bossart og medarb. 1975.).

2. Kromosomoverføring

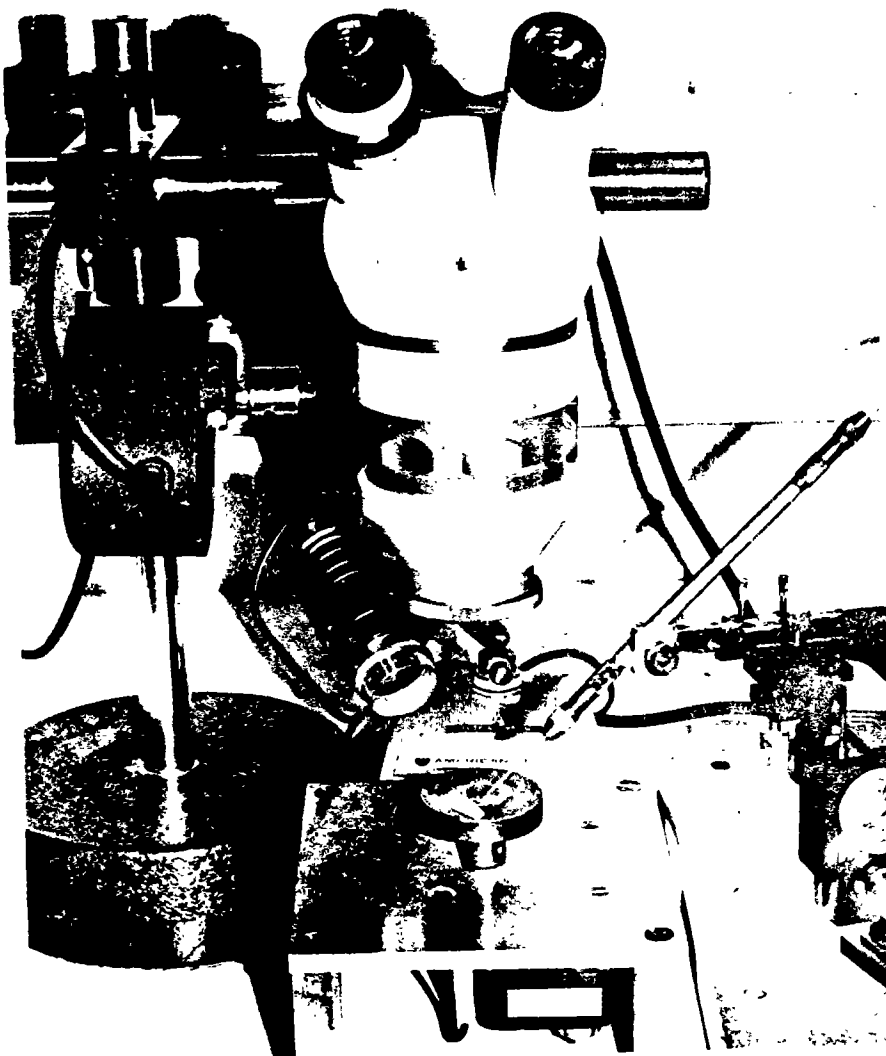
Ved hjelp av ulike kjemiske midler er det mulig å "arrestere" celler som er i mitose, slik at en kan fikse kromosomene.

Cellene blir så behandlet med Cytochalasin B og sentrifugert slik at en, som i foregående metode, får produsert mikroceller som hver enkelt inneholder bare et fåtall av kromosomer, en liten porsjon cytoplasma samt en plasmamembran.

Slike mikroceller kan så fusjonere med andre celler, slik det ble beskrevet i Kapittel II.

Det har også vært forsøkt å overføre til andre celler isolerte kromosomer eller konsentrert DNA. Slik metodikk er beskrevet av Deisseroth og Handrick (1979) og av Wiegler og medarbeidere (1980).

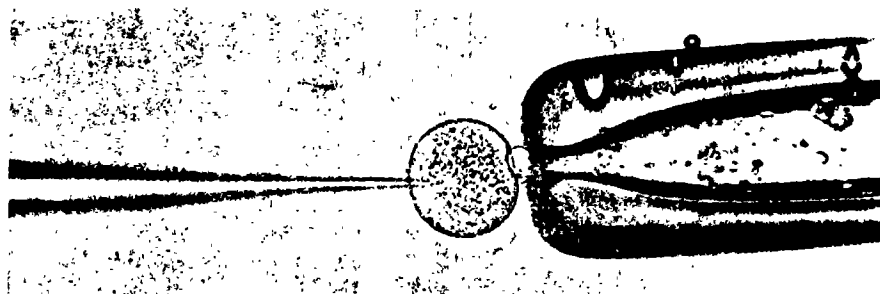
De metoder som er beskrevet hittil gir mulighet for en seleksjon i retning av å "skyve ut" det fremmede genmateriale. Det er derfor bare i de tilfeller hvor det tilførte genmateriale er nødvendig for i det hele tatt å oppnå fortsatt utvikling av cellene at vi har sikkert bevis for hybridisering.



Ved hjelp av et instrument utviklet for mikrokirurgi (Mikromanipulator) er det mulig å transplantere "nakent" DNA inn i kjernen til et befrukta egg. (Etter Bracket og medarb. 1981).

Det føres inn i cellekjernen til zygoten en pipette som inneholder DNA som er oppformert i plasmider og kuttet i de ønskede basesekvenser.

Mikropipetten har en åpning på 0,5 μ m, - altså 5/10000 mm.



Injecting DNA into the pronucleus of a fertilized mouse egg

Overføring av nakent DNA. I 1981 viste Bending at det lot seg gjøre å transformere DNA direkte inn i cellekjernen til befrukta egg, og senere er det vist at dette DNA er innkorporert og fungerer.

B. DIRIGERT GENOVERFØRING.

1. Overføring av gener fra pattedyr til bakterier.

En forutsetning for å kunne overføre en bestemt gen fra en organisme til en annen er at vedkommende gen må kunne identifiseres og at vedkommende DNA er oppformert til nødvendig kvantum.

Disse problemer har fortonet seg som nærmest uløselige inntil for noen år siden, da det ble utviklet ny og forbausende enkel teknikk for dette formålet.

De viktigste skritt i den teknologi som ligger bak rekombinant-DNA teknikken er illustrert i Fig. 27 (For detaljert beskrivelse se Wu (1979), Grossman og Moldave (1980) Abelson og Butz (1980) eller Old og Primose (1982).

2. Overføring av gener fra ett dyr til et annet

Mens rekombinant-DNA teknikk alt har fått stor praktisk betydning i samband med hormon- og enzymproduksjon, er det bare såvidt en er kommet igang med overføring av DNA fra et dyr til et annet.

Gjennombruddet kom ved en ny teknikk når det gjelder selve overføringen av DNA, nemlig såkalt nakent DNA. Se fotnote foregående side.

Denne metoden ble første beskrevet av Bendig (1981) som ved hjelp av injeksjon deponerte DNA i cellekjernen til befrukta froskeegg. Det epokegjørende ved dette forsøket var at de transplanterte gener viste seg å være stabile og funksjonerte med høg grad av effektivitet.

Kanskje enda mer oppløftende er de forsøk som Constantini og Lacy (1981) gjennomførte. De injiserte nakent DNA i befrukta egg av mus. Det nye DNA som stammet fra kanin og representerte arveanleggene for β -globulin ble integrert i arvemassen hos

mottakeren, og det har senere vist seg at avkommet til individet som fikk tilført DNA fra kanin virkelig produserer β -globulin av den typen som er karakteristisk for kanin. Videre er det fastslått at det injiserte gen bare kommer til uttrykk i slikt kroppsvev der en venter produksjon av vedkommende protein.

Etter som en idag behersker teknikken når det gjelder kultur, vekst og "håndtering" av oocytter fra de fleste husdyrarter, antar en at slik gen-overføring nå lar seg praktisere i større omfang.

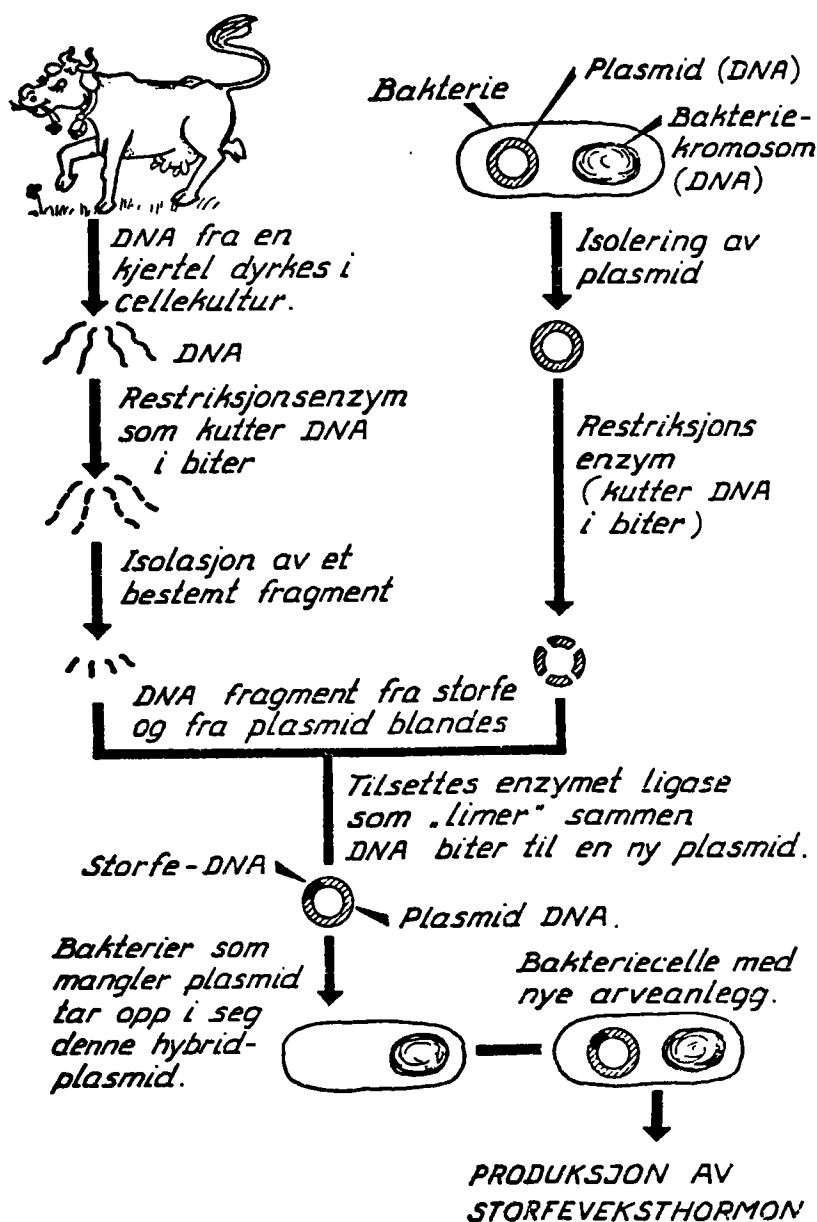


Fig. 27
Genteknikken er allerede tatt i bruk i produksjonen av viktige hormoner.

Figuren illustrerer produksjonen av bovinveksthormon. Teknikken kan i korthet beskrives slik:

Celler fra det aktuelle kroppsvev blir oppformert i cellekultur, slik at en får tilstrekkelige mengder av DNA.

Ved hjelp av spesifikke restriksjonszymer (Fig.28) kutter en DNA-molekylet slik at en får isolert det aktuelle segment.

Det mRNA som tilsvarer det aktuelle DNA-segment blandes med plasmidfragmenter av coli-bakterier.

Etter at en har tilsatt enzymet ligase "limer" fragmenter av coli-DNA sammen med DNA fra storfe, slik at en får en hybrid-plasmid.

Bakterier som mangler plasmid tar opp slike hybridplasmider og bakteriene er blitt istand til å produsere det aktuelle hormon.

Denne oversikten over situasjonen når det gjelder isolering og overføring av gener fra en dyreart til en annen, reiser spørsmålet om hvilken rolle denne teknikk kan tenkes å få innenfor husdyravlen.

Mulighetene for anvendelse i praktisk husdyrforedling er sannsynligvis mest nærliggende for egenskaper som beror på ett, - eller et fåtall av arveanlegg, - dette bl.a. fordi det vil bli langt vanskeligere å kunne lokalisere arveanleggene bak kvantitative egenskaper.

En av de ledende forskere innenfor dette område, K. Ward (1982), antyder at han fortrinnsvis vil konsentrere seg om enkle gener som har med proteinsyntesen å gjøre.

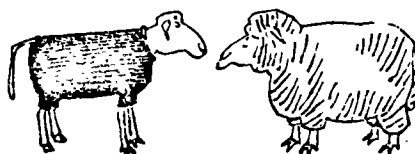
Det kan gjelde de proteiner som er basis for produksjonen av tekstilfibre (ull), men gjelder også gener for muskelprotein (eks. actin og myosin) og for mjølkeprotein (kasein og lakto-globulin). Kanskje enda mer nærliggende er egenskaper som har med sykdomsresistens (immunsvar) å gjøre.

Ward og medarb. (1982) har funnet fram til aminosyresekvensen for to viktige keratinkomponenter (se fig.28). Med dette som utgangspunkt har de kunnet fastslå baserekkefølgen for de gener som bestemmer syntesen av hver av disse ull-proteiner.

De arbeider nå med å få lokalisert dette segmentet på DNA-molekylet og vil så forsøke å overføre disse gener fra merino-sau til befrukta egg fra engelske kjøtttraser.

Mer komplekse egenskaper. De typiske avdråttsegenskaper synes såvidt kompliserte at de vanskelig kan bli gjenstand for genteknikk. Ward (1982) drøfter denne problematikken og konkluderer med at det meget vel kan tenkes å endre komponenter av slike sammensatte egenskaper som f.eks. mjølkeavdråtten. Ward antyder at det muligens kan la seg gjøre å

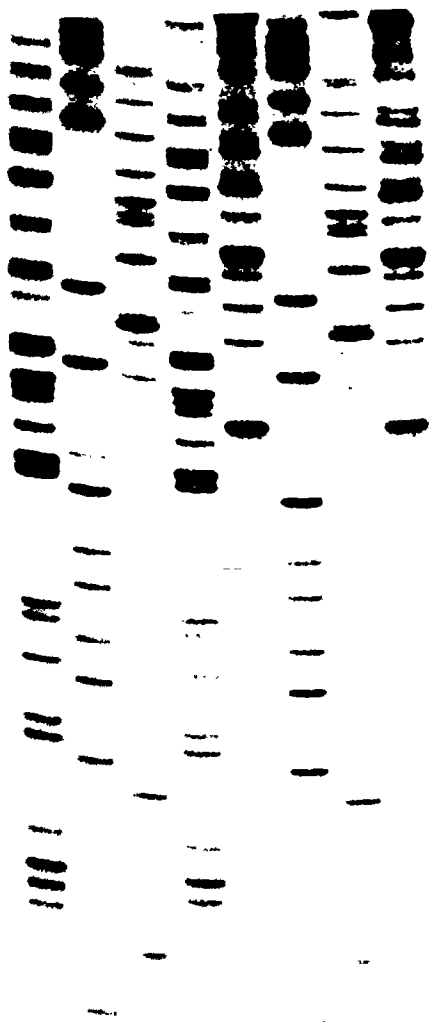
Er du klona?



begrensning for hvor lange basesekvenser som kan identifiseres (Gingeras og Roberts 1980).

Ved hjelp av datateknikk er det blitt mulig å kartlegge plasseringen av de mange segmenter som restriksjonsenzymene deler opp DNA-molekylet i.* Vanskene med kartleggingen (plasseringen) av segmentene øker selvsagt med økende antall segmenter. Ved å nytte ulike restriksjonsenzymmer i mange forskjellige kombinasjoner greier en nå ved EDB-teknikk å rekonstruere DNA-molekylet (Stefik 1978).

Neste del av oppgaven er å bestemme basesekvensen i de ulike segmenter, og dette skjer som nevnt (s.88) ved hjelp av elektroforese i kombinasjon med isotopmerking med ^{32}P . Ved slik elektroforese skiller en ikke bare på molekylvekt, men også på molekylstruktur.



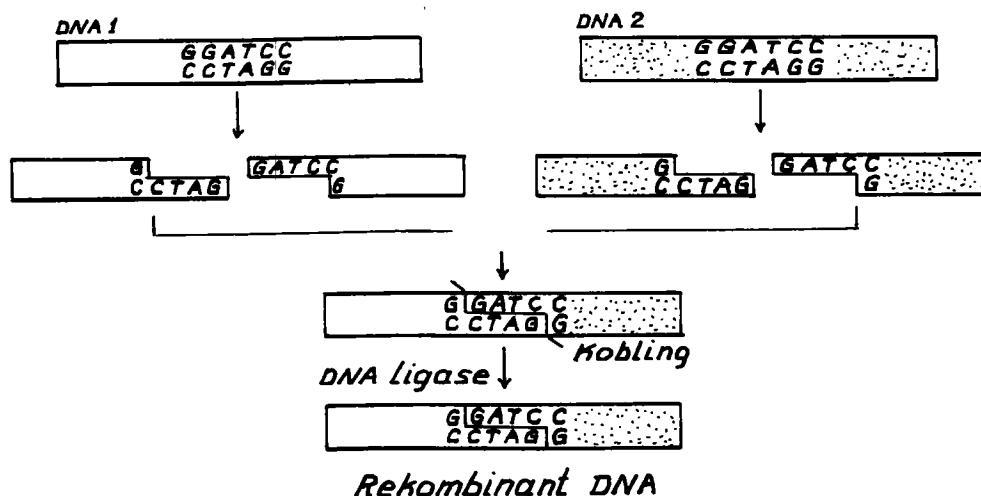
Figur ²⁰ 29.

Foto av utskriften over baserekkefølgen i et DNA-segment. De mørke feltene, f.eks. første stapel angir plasseringen av G-baser, på neste stapel ser en plasseringen av A-basene osv. For å øke sikkerheten er det gjentak på de ulike kolonner (etter Gingeras og Roberts 1980). Selve avlesingen av baserekkefølgen er styrt ved bruk av elektronikk.

Etter som DNA-tråden er dobbel, kan en ved å registrere baserekkefølgen på begge tråder uavhengig av hverandre få et estimat på sikkerheten.

Endelig kan en ved å simulere bruk av de samme restriksjonsenzymmer på den DNA-tråd som datamaskinen har angitt, få en viktig sjekk på om en kommer ut med de samme segmenter som de en startet med.

* Se s.119 og bilag 1



Figur ³¹~~30~~.

Restriksjonsenzymene er blitt et uvurderlig verktøy i samband med genteknikken. Disse restriksjonsenzymene er enzymer som reagerer med bestemte basesekvenser i DNA-molekylet. Enzymene kutter opp DNA-trådene slik at skjøten utgjør flere baser som har mistet sin partner som henger fast på den andre enden av DNA-tråden. Disse baseendene er kalt "sticky ends"- de er komplementære.

Figuren illustrerer DNA fra to ulike arter som er behandlet med et restriksjonsenzym med betegnelsen BAM HI. Som vi ser er DNA-trådene kappet ved samme basesekvens.

Blander vi to slike splitta fraksjoner av DNA og setter til DNA-ligase, kan det like godt skje sammensmelting mellom to ulike DNA-typer som en forening av DNA-biter innenfor samme DNA-type (etter Hapwood 1981 se s. 94).

I oppslagsbøker er det tabeller med detaljerte oversikter over flere hundre forskjellige restriksjonsenzymmer. Se f.eks. bilag 1.

Enzymkatalogene forteller oss ved hvilke basesekvenser vedkommende enzym er virksomt, men videre er det angitt optimal temperatur, samt i hvor mange stykker en deler opp et gitt DNA-molekyl ved bruk av vedkommende enzym.

Splitting av DNA på definerte steder ble først mulig i begynnelsen av 1970.

4. Genoverføring til organer.

Innenfor humanmedisinen er det en omfattende forskning med sikte på å utvikle metoder for overføring av gener til syke organer med sikte på å kunne oppnå helbredelse.

Denne forskning er såvidt spesiell at den faller utenfor det som eventuelt måtte være av interesse i husdyrbruket. Vi utelater derfor denne problematikken.

C. SYNTETISKE GENER

Går vi 20 år tilbake i tida fortonet det seg som usannynlig at det skulle bli mulig å lage syntetiske gener.

Nå ble det etter hvert klart at hvis en i det hele tatt skulle bli istand til å knekke den genetiske kode, måtte en først greie å lage syntetisk DNA.

At dette lykkes skyldes i første rekke H.G. Khorana og hans forskergurpe (Madison, Wisconsin).

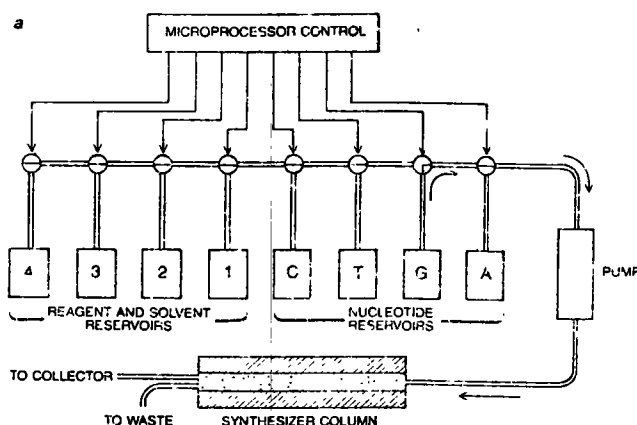
Arbeidet med å "montere" nukleotider til en DNA-kjede gikk bare sakte framover, men da en i 1965 fikk kjennskap til nukleotidsekvensen for transfer-RNA (tRNA), gikk det forholdsvis raskt å syntetisere de 77 basepar slike tRNA-molekyler består av. En var således i 1970 i stand til å lage det transfer-RNA som ved proteinsyntesen transporterer aminosyremolekylet alanin.

Fra midten av 70-årene har en greidd å syntetisere DNA i betydelig omfang, og nettopp dette har hatt stor betydning ved utviklingen av Recombinant-DNA-teknikken.

For molekylær kloning kreves det bare noen mikrogram av DNA, og så snart en har greidd å klonere et gen kan oppformering som kjent skje i stor stil ved hjelp av bakteriekulturer.

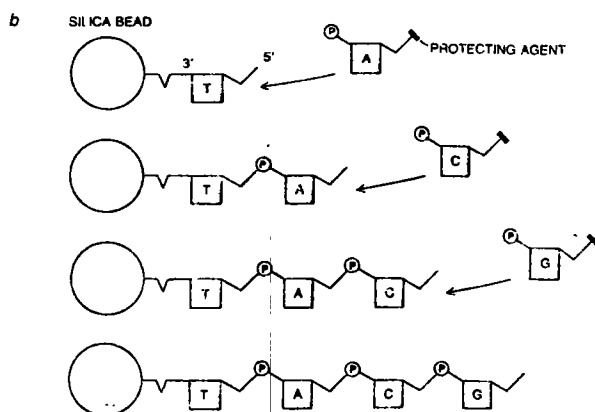
32

Figur 31.



"Arbeidstegning" av genmaskina. Det er på markedet flere typer av instrumenter som kan syntetisere enkelt-tråder av DNA helt automatisk. Disse apparatene er under kontroll av en mikroprosessor.

Den type som er illustrert her er Bio Logicals. I øverste skisse er det søkt illustrert at en på tastaturet programmerer hvilken base-rekkefølge en ønsker. Mikroprosessen vil så i tur og orden åpne for de 4 ulike beholderne for nukleotider, nemlig de som koder C, T, G og A. Samtidig tilføres de reagenser som er nødvendig, og på denne måten bygger en opp syntetiske DNA-kjeder.



I nederste del av figuren er syntesen illustrert. Nukleotidene består, som nevnt side 78, av en base + sukker (se Fig. 12). Et stort antall nukleotider med thymin-base (T) er festet til det tørre medium som nyttes, og en A-nukleotid skal ifølge programmet hefte seg til T-sekvensen. Nukleotidene må være "orientert" slik at de fester seg til 5'-siden av molekylet.

Mikropumpene transporterer et stort antall av neste nukleotid (A) med 5'-enden beskyttet mot reaksjoner som ikke er tilsiktet. A-nukleotider fester seg så til tilsvarende T-nukleotider og vi har fått en lang rekke kopier med sekvensen TA. Slik fortsetter syntesen til en har fullført programmet.

Hormonproduksjon basert på syntetiske gener.

I 1976 hadde en kommet så langt at en kunne klonere et syntetisk gen. Det var det gen som styrer syntesen av thyroxin. Dette gen ble laget som en kopi av et naturlig gen, og etter kloningen viste det seg at det fungerte.

Den første virkelige hormonproduksjon basert på syntetisk arvestoff var produksjonen av somatostatin *), et hormon en finner hos pattedyr. Dette gen ble laget av Itakura i 1977 og består av 57 basepar. På det tidspunkt kjente en egentlig ikke nevnte gen, men fordi en kjente aminosyrerekkefølgen for vedkommende hormon, var en istand til å lage dette gen syntetisk før en hadde påvist dette arveanlegget. Dette gen produserte over 10 tusen somatostatin-molekyler pr. bakteriecelle, - en produksjon forskerene var svært tilfreds med.

Senere ble det på samme måte laget et syntetisk gen for produksjon av human-insulin. En forskergruppe under ledelse av Crea (California) syntetiserte dette gen som består av 181 basepar. De brukte 3 mndr. på denne jobben, men Itakura, som var med på dette, sier at en i dag vil greie dette på noen få dager. Idag er det mye av den fabrikkmessige hormonproduksjon som skjer på basis av syntetiske arveanlegg. (Fig.31)

"Redigering av basesekvensene". Molekylärgenetikerne mener ifølge Itakura (1980) at "de naturlige hormoner og enzymer i det lange løp nødvendigvis ikke behøver å være de beste". Det er sannsynlig at en vil fjerne uønskede sekvenser, og det kan endog bli aktuelt å addere til noen basesekvenser.

* Hormon som hemmer funksjonen av veksthormonet.

På noe sikt mener Itakura at molekylærgenetikerne vil bidra med "dirigerte mutasjoner". Itakura (1980) sier det slik: "It is now clear that almost any well-defined simple change can be made by directed mutation techniques".

Som det går fram av det foregående har det innenfor denne del av genteknikken ~~har det~~ i de senere år vært fundamentale gjennombrudd. En nevner her: ✓

- Det er nå utviklet metoder for identifikasjon og isolering av bestemte gener.
- Ved overføring av selekterte gener til nye individer har det vist seg at det nye genet er blitt underlagt mot-takerdyrets kontroll, dvs. de nye arveanlegg fungerer.
- Det ser ut til at det kan bli mulig å isolere og å overføre endog koordinerte sett av gener,- gener som styrer kvantitative egenskaper.
- Det kan bli aktuelt å addere ekstra sett av gener for derigjennom å kunne øke det stofflige innhold av enkelte komponenter.
- Molekylærgenetikerne mener at de snart kjenner den teknikk som gir de muligheter til å "redigere" de basesekvenser som utgjør et arveanlegg. De snakker allerede om dirigerte mutasjoner.

LITTERATUR (GENTEKNIKK)

- Abelson, J. and Butz, E. 1980. Science. Washington D.C. 209, 1319-1438.
- Bendig, M.M. 1981. Nature 292, 65-67.
- Bossart, W., Loeffler, H. and Bienz, K. 1975. Exp. Cell. Res. 96: 360-366.
- Crea, R., Kraszewski, T. Hirose, K., Itakura, I., 1978. Proc. Natl. Acad.. Sci. USA, 75, 5765.
- Constantini, F. and Lacy, E. 1981. Nature 294, 92-94.
- Deisseroth, A. and Hendrich, D. 1979. Proc. Natl.Acad.Sci. U.S.A. 76, 2185-2189.
- Ege, T. and Ringertz, N.R. 1974. Exp. Cell. Res. 87, 378-382.

- Gingeras, T.R. and Roberts, R.J. 1980. Science, Vol. 209.
- Grossman, L. og Moldave, K. 1980. Nucleic Acids. Part I. Academic Press, New York.
- Itakura, I. Hirose, R., Crea A., Rigs, H, og Boyer, H.W. 1977. Science 189.
- Itakura, I. 1980. Science 209.
- Old, R.W. and Primose, S.A. 1982. Principles of Gene Manipulation. Backwell Sci. Pub. London.
- Schuman, R., Shaffner, R-N. 1982. Potential Genetic
The 2nd World Congress on genetics applied to livestock production. Madrid, October 1982.
- Schlom, J., Wunderlich, D. and Teramoto, Y.A. 1980. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 77, 6841-6845.
- Stefik, M. 1978. Artif. Intell 11.
- Ward, K.A., Sleigh, M.S., Powell, B.C. og Rogers, G.E. 1982. The 2nd World Congress on genetics applied to livestock production. Madrid october 1982.
- Ward, K.A. 1982. Symp. University of New England, Armindale, Australia.
- Wigler, M. 1980. Proc. Natl. Adac. Sci. U.S.A. 77, 3567-3570.
- Wu, R. 1979. Recombinant DNA. Academic Press, New York.

litteratur
se Natur
Behøver ikke
i alfabet. rækkefølge

VIII. MULIG ANVENDELSE I HUSDYRAVLEN.

Det er her gitt en enkel oversikt over den utvikling som skjer innenfor bioteknologien.

I dette streiftoget har en hatt siktepunktet rettet mot mulige anvendelser av forskningsresultatene innenfor praktisk husdyravl.

Allerede i forordet ble det gitt en begrunnelse for at vi ikke omtaler KS i denne oversikt over bioteknikk i samband med husdyravlen. Denne bioteknikk har som vi vet bidratt til en sterkt effektivisering av storfeavlen, og er i ferd med å omskape svineavlen. Ja, KS har fått en slik sentral plass innen husdyravlen at vi ikke helt kan tenke oss hvordan vi skulle være dette hjelpemiddel foruten.

I moderne husdyravl basert på testing, avkomsgransking, seleksjon, KS, dypfrysing av sæd osv, har vi for lengst passert grensene for det som etisk sett er forenlig med anvendt humangenetikk.

Vi har imidlertid i alle befolkningslag aksept for selektiv avl med kulturplanter og husdyr. Det er da også sjelden vi møter innvendinger mot selektiv husdyravl med den begrunnelse at forskning og praksis innenfor husdyravlen kan lede til misbruk i retning av selektiv avl på mennesker.

Når en tar i bruk nye biotekniske hjelpemidler, må en forvente en diskusjon om hvorvidt slike metoder kan aksepteres. Slik diskusjon bør vi få i samband med innføring av teknikk som har

dyrevernmessige aspekter (eks. fostertransplantering ved hjelp av kirurgiske inngrep). Vi må på samme måte forvente diskusjon om bruk av helt nye metoder slik som fysisk kloning (splitting av embryo) og kanskje spesielt når det gjelder transplantering av gener fra en dyreart til en annen.

Vi skulle vel egentlig ikke vente motstand mot eventuell ny bioteknikk med den begrunnelse at metoden kan missbrukes innen humanmedisinen. Vi har jo tross alt allerede gått mye lengre innen husdyravlen enn det som kan tolereres hos mennesker.

Hvis vi i husdyravlen skulle komme til å ta i bruk mer avansert bioteknikk enn hittil, distanserer vi oss vel egentlig enda lengre fra det som skulle kunne tolereres innenfor humangenetikken.

Debatten omkring transplantering av gener.

Samtidig med at en innenfor mikrobiologien i 1972 startet systematiske forsøk med transplantering av gener, ble det, som nevnt s. 108-109 en diskusjon om mulige farer ved denne teknikk.

Det var professor Paul Berg ved Stanford-universitetet i California som først reiste problematikken omkring mulige risikoer ved genteknikken. Han drøftet mulighetene for at en ved genoverføring kunne risikere nye farlige mikrober.

Det er imidlertid ikke lenger den samme hete diskusjon omkring dette spørsmålet, - dette bl.a. fordi en anser det svært lite sannsynlig at en ad denne vei kan frembringe spesielt farlige mikrober.*

* For en oversikt over litteratur i samband med denne diskusjon og omkring de offentlige utredninger som ble foretatt, viser en til boka: *Biotechnology: a review and annotated bibliography* redigert av Rothman, Stanley, Thomson og Towelski 1980. Frances Pinter Ltd. London.

Er det aktuelt i praksis?

Eggtransplanteringen er teknisk sett kommet så langt at metoden gir tilfredsstillende drektighetsresultater. Etter som dypfrysingen også ser ut til å fungere, kunne om nødvendig denne teknikk tas i bruk i praksis.

Under forhold med en godt utbygd husdyrkontroll (stor testingskapasitet) ser det imidlertid ikke ut til at metoden byr på nevneverdige avlsmessige fordeler.

Metoden er i tillegg såvidt kostbar i bruk at den nærmest er uaktuell i tilknytning til en organisert samvirkeavl.

På lengre sikt kan en for praksis se 3 mulige anvendelsesområder for eggtransplantering, nemlig:

- * - for økning av tvillingfrekvensen hos storfe i den hensikt å kunne:
 - øke spekalvtallet (storfekjøttproduksjon)
 - produsere kjøttfekalver (hybrider).
- * - i kombinasjon med splitting av embryo (kloning)
- * - ved spesiell import av gener
 - i avl med sportshest
 - i tilfeller hvor import av dyr av helsemessige årsaker er vanskelig, mens embryoimport representerer mindre risiko.

De to sistnevnte anvendelsesområder representerer sannsynligvis et helt minimalt omfang. Embryotransplantering vil derfor sannsynligvis ikke få noe nevneverdig omfang, med mindre vi i framtida får mangel på spekalv. Fordi reproduksjonsevnen er såvidt stor hos både småfe og hos svin, er metoden heller mindre aktuell for disse arter enn for storfe.

Kloning. Som nevnt i kapittel II er det flere teknikker som kommer inn under dette begrep. Selv på noe lengre sikt er det

imidlertid i betydningen splitting av embryo at kloning synes spesielt interessant.

Det tekniske resultat ved splitting av embryo er vel ikke helt tilfredsstillende. Hvis det imidlertid lar seg gjøre å splitte igjen og igjen embryo som selv er et resultat av splitting, står en sannsynligvis ovenfor et virkelig gjennombrudd innenfor husdyrforedlingen.

Denne teknikk i kombinasjon med:

- 1.- ^tTransplantering av embryo
- 2.- ^kKjønnsbestemmelse på embryo
- 3.- ^sAvfrysing av embryo

gir muligheter til en meget rask avlsframgang (se f.eks. fig. 10).

Et slikt avlsopplegg ser ut til å kunne bli svært effektivt selv med et lite omfang av husdyrkontrollen. I tilknytning til spesielle foredlingsstasjoner vil nødvendig omfang av både transplanteringen og av splitting av embryo bli relativt beskjedent. *Metoden gir imidlertid store muligheter for avlsframgang med spesielt høy avlsrate, f.eks. fruktbarhet, konstans, osv.*

Denne kombinasjon av fostertransplantering og kloning vil muligens komme til å fortone seg atraktivt spesielt for private avlskompanier. Etter som en ved denne teknikk, på det nærmeste kan maksimere heterosiseffekten, synes systemet "skreddersydd" for hybridfirmaer.

Faren ved en slik "avlsmodell", hvis den lar seg gjennomføre i praksis, er at den i "gale hender" kan komme til å undergrave en konstruktiv nasjonal samvirkeavl.

In vitro-teknikk. Rent fysiologisk sett er det meget interessante resultater som er oppnådd ved befruktning og ved ovulasjon utenfor hunddyrene. Slik teknikk synes imidlertid ikke å by på noen nevneverdige fordeler i samband med spesielle avlsopplegg.

Endring av kjønnsproporsjonen. Dette ville representere store økonomiske fordeler i tilfelle det lot seg gjennomføre. Det er imidlertid ikke rapportert noen nevneverdig framgang innenfor denne forskning i løpet av siste mannsalder. Det er heller ikke noe som tyder på en løsning av dette problemet i de nærmeste tiår.

Genteknikk. En del av forskningsaktiviteten innenfor genteknikken omfatter tilfeldige, - eller delvis kontrollerte genoverføringer. Hit hører hybridisering av somatiske celler og transplantering av kromosomer.

Denne forskning bidrar bl.a. vesentlig i samband med kartlegging av gener, men en ser ikke i denne metodikk noen umiddelbar anvendelse i tilknytning til husdyravlen.

Det er de metoder som tilsikter en dirigert genoverføring som muligens har de riktig store konsekvenser.

Transplanteringen av gener kan, som ^{tidligere nevnt} skje etter ulike prinsipper, nemlig:

● Overføring av gener fra en type mikrober til en annen.

Mye av den genetiske industri er nettopp opptatt av denne problematikken. Det er ved hjelp av gentransplantering allerede gjort betydelig foredlingsarbeide når det gjelder: (Bilag 2)

- forbedring av ulike typer gjærsopp for industrielle formål slik som:
 - vinproduksjon
 - singel cell produksjon osv.
- forbedring av muggsopp for osteproduksjon
- forbedring av bakterier for en lang rekke industrielle formål.

Men har denne genoverføring fra en mikrobetype til en annen noen interesse innenfor husdyrbruket?

Den australske molekylærgenetiker Kewin Ward (1982) (som er referert flere ganger tidligere) sier at en av de mest nærliggende oppgaver når det gjelder genteknikk på drøvtyggere synes å være vomfloraen.

Det har ikke vært ansett som noe farbar vei å implantere "mer effektive" bakterietyper fra en dyreart til en annen. Derimot synes det interessant å forsøke å transplantere gener fra "effektive" til "mindre effektive" kulturer. *bakterietypen*.

Det finnes drøvtygger-arter med en vomflora som synes å ha større evne til å bryte ned trevlerikt fôr enn andre.

Hvis det var mulig med en "avlsmessig forbedring" av storfeets vomflora ville det kunne ha betydelige konsekvenser.

● Overføring av gener fra pattedyr til mikrober.

Dette er arbeidsmetoder som ligger til grunn for det meste av den industrielle genteknikk. (Bilag 2) Hit hører:

- produksjonen av en lang rekke humane hormoner basert på transplantering av humane gener til coli-bakterier.
- produksjon av en lang rekke andre artsspesifikke hormoner. Grunnlaget for produksjonen er transplantering av dyriske gener til coli.

Legemiddelindustrien er ved hjelp av genteknikk blitt istand til å produsere hormoner det tidligere var mangel på. Mest kjent når det gjelder dyriske hormoner er sannsynligvis produksjonen av Bovinveksthormon, som det amerikanske firma Genentech Inc. markedsførte i 1981. (Det tilsvarende humane veksthormon (til bruk mot dvergvekst) produseres nå på lisens fra Genentech Inc. av det svenske medisin-firma CabiVitrum)).

- produksjon av et stort antall emzymer (Bilag 2)
- produksjon av mange forskjellige vaksiner (Bilag 2)

Denne form for gentransplantering har bare indirekte kommet husdyrbruket tilgode, men spesielt synes vaksineproduksjonen å kunne bli interessant. En kan nevne at det ad denne vei ifjor lyktes å produsere vaksine mot Munn- og klauvsjuka (Kleid og medarb. 1981, se Science Vol. 214..)

● Overføring av gener fra en dyreart til en annen.

Dette er det siste utviklingstrinn innenfor genteknikken. Som nevnt s. 113-115 er det ennå bare få eksempler på at dette har lar seg gjøre. Problemene i samband med slik transplantering kan grupperes i:

- * Vanskene ved å kunne identifisere de gener som er aktuelle for transplantering.
- * Problemene ved selve overføringen av DNA
- * Nærmere kjennskap til reguleringsmekanismen, slik at transplanterte gener har muligheter til å fungere.

Identifisering av gener.

Selv om en også hos pattedyr er istand til å bestemme base-sekvensen for DNA-molekylet gjenstår det uendelig mye forskning før en har noe i retning av komplette "genkart".

I de ~~forholdsvis~~ få tilfeller hvor en hittil har overført arveanlegg fra en dyreart til en annen, har en ^{delvis} på en indirekte måte greidd å identifisere de aktuelle arveanlegg.

Som nevnt i kapittel V er det vist at det er aminosyrerekkefølgen i peptidkjedene som avgjør proteintypen. Videre har vi sett at det er basesekvensene i mRNA-trådene som bestemmer aminosyrerekkefølgen.

For egenskaper som direkte har med proteintype å gjøre kan vi altså, hvis vi kjenner aminosyresekvensen, slutte oss til basesekvensen for det aktuelle gen.

Ved de fleste transplanteringer som er utført hittil har en altså ikke hatt noe virkelig problem med å finne fram til den aktuelle basesekvens. *Det gjelder bla proteiner med funksjoner som:*

- enzymer
- hormoner
- giftstoffer
- kreftproteiner

Selv om det er mange egenskaper som står direkte i samband med proteintype, er de fleste egenskaper likevel såvidt kompliserte at en ikke indirekte kan finne fram til den aktuelle basesekvens/gen).

Transplanteringen. Det ser ut til at det er flere metoder som er brukbare når det gjelder overføring av gener. De forsøk som er gjort med såkalt "nakent" DNA har ^{gitt} overraskende gode resultater og mange forskere mener at dette kan bli en brukbar teknikk.

Reguleringsmekanismen. Som nevnt tidligere (bl.a. i fig. 23) er det fastslått at det i samband med et gen er en rekke basesekvenser som har en kontrollfunksjon ved transkripering og ved selve proteinsyntesen. Dette tilsier iflg. Ward (1982) at en sammen med selve gensekvensen også må transplantere de ca. 30 basepar som ligger foran genet, - altså "kongrollorganet".

et flertall av
I de forsøk som er offentliggjort med transplantering av gener for β -globulin ^(? 117-?) hos kanin til mus-zygoter (Bending 1981), ser det ut til at de transplanterte kopier er blitt underlagt vertsdirets kontroll, slik at dyrene selv, men også deres avkom, produserer det "nye" globulin.gens.

men også i forsøk til Palmiter & medarbeiderne
I forsøket til Constantini og Lacy fant de at det hos vertsdirene var akseptert et varierende antall av de genkopier som var transplantert. Antall genkopier som funksjonerte varierte mellom 1 kopi og opp til mer enn 20 kopier. De fant videre at

1 ut 30 og 1 ut 35 genkopier

ikke to forsøk med kanindirene

disse genkopier var fullstendig integrert i kromosomet, og at de nye kopier i de fleste tilfeller var integrert i et bestemt kromosom.

Hvilke egenskaper?

Egenskaper som representerer sluttproduktet av en komplisert biologisk prosess, slik tilfellet er med de fleste avdråtts-egenskaper, er neppe noe objekt for genteknikk. Det samme gjelder trolig egenskaper i tilknytning til dyras reproduksjon.

Det er ^{allers} imidlertid forskere som mener (Ward 1982) at en ved å addere til flere kopier av gener som koder for f.eks. kasein, albumin og globulin, muligens kan bli istand til å øke innholdet av disse komponenter.

Med utgangspunkt i samme resonement, antyder han muligheten for å øke enzymer som er sentrale i lipid-, - og i karbohydrat-syntesen.

Nå er mjølkesekresjonen en komplisert prosess som sannsynligvis beror på et meget stort antall arveanlegg. Det gjenstår derfor å vise at en ved genteknikk i det hele tatt kan endre det stofflige innhold i mjølk. Mjølkeproteinet er imidlertid allerede klonet. Se bilag 2 og 3.

Det er imidlertid nærliggende å anta at det er for egenskaper som beror på ett enkelt, - eller noen få, arveanlegg at genteknikken eventuelt kan få noen betydning.

Av slike egenskaper har vi i første rekke de som har med immunsvar (sjukdomsresistens) å gjøre. For slike egenskaper lar det seg muligens gjøre å finne fram til de aktuelle koder, og dermed er en kommet et stykke på vei. Her kjenner vi allerede, ifølge Almlid, flere veldefinerte genregioner som har dominerende betydning i immunrespons og transplantat-for-kastelse, nemlig Histacompabilitets-regionene.

Det er ellers en rekke kvalitative egenskaper som trolig har en forholdsvis enkel nedarving, men hvis egenskapene ikke samtidig er av "proteinnatur" slik at en rent logisk kan slutte seg til basesekvensen i det akteulle gen, kan det blir umulig eller svært vanskelig å få identifisert det aktuelle gen.

En oversikt over de gener som allerede er klonet er gitt i bilag 2.

Det er som kjent vanskelig å spå, og det gjelder i høg grad når en søker å forutsi utviklingen innenfor genteknikken.

Jeg overlater dette til professor Ward som skulle være en kvalifisert spåmann. Han avslutter (1982) en oversikt over genteknikken med å si følgende:

"In conclusion, it would seem that the new techniques available in the field of molecular genetics are going to play a revolutionary role in animal breeding and selection in the future. We now have available to us procedures for the identification and isolation of individual genes, the transfer of these genes between the genomes of animals and the growth of new animals containing the modified genomes. As our knowledge increases in the area of gene function and control, it should be possible to isolate and transfer co-ordinated sets of genes which control or influence such complicated physiological processes as reproduction or nutrition. It will be possible to manipulate the genetics of the rumen bacterial microflora as desired and to detect the presence of specific genes or gene sets in herds of domestic animals. Finally, it will be possible to grow large numbers of genetically identical animals of a desired phenotype by isolation of desired nuclei and their introduction into enucleated oocytes. When this is achieved, animal production techniques will bear very little resemblance to those currently in operation today."

Utviklingen av bioteknologien i retning anvendt husdyravl kommer utvilsomt til å vekke diskusjon, ikke alene ut fra etiske aspekter, men også fordi enkelte sider ved denne teknologi muligens kan komme i veien for kollektive avlsoppbygg.

Det vil ikke være noen overraskelse om det er amerikansk biokjemisk industri som først presenterer for husdyravlen "praktiske modeller" fra genteknikken. Svært mye av molekylær-genetiske forskning er som kjent konsentrert til USA og det er også nettopp amerikansk industri som har satset mest innenfor genteknikken.* ✓

Vi blir sannsynligvis ikke holdt løpende orientert om eventuelle framskritt innenfor et slikt utviklingsarbeide. Vi har følgelig ikke de beste muligheter til å kunne forutsi når vi eventuelt står ovenfor genetisk kloning av husdyr. Det kan ta decenier, men kan kanskje også komme så tidlig som i slutten av 80-åra.

Ventetida bør vi bl.a. nytte til å sette oss skikkelig inn i de ulike aspekter innenfor denne nye gren av biologien,

eller

bør vi gjøre som strutsen?



* I 1980 var det i USA i alt 66 industribedrifter engasjert innenfor bioteknologi. Rothman og medarbeidere (1980). *Biotechnology, a review and annotated bibliography* Frances Pinter Ltd., London.

Bilag 1

RESTRIKSJONSENSYMER

Første side av en tabellarisk oversikt av Malcolm (1982) over restriksjonsensymer. Gjengitt i Genetic Engineering 2, Academic Press, London.

All enzymes for which either the recognition sequence is known or for which a published reference work exists (see also Roberts, 1981, for other unpublished work).

Enzyme	Sequence	Reference	Commercially available
Aac I	GGATCC	—	
Acc I	GT [↓] AGCTAC	—	Yes
Acc II	CGCG	—	Yes
Atu BI	CC [↓] AGG	Roizes <i>et al.</i> (1977)	
Atu BVI	—	Roizes <i>et al.</i> (1979)	
Atu II	CC [↓] AGG	Lebon <i>et al.</i> (1978)	
Atu CI	TGATCA	—	
Acy I	GPu [↓] CGPyC	DeWaard <i>et al.</i> (1978)	
Aos I	TGC [↓] GCA	DeWaard <i>et al.</i> (1979)	
Aos II	GPu [↓] CGPyC	DeWaard <i>et al.</i> (1979)	
Ast WI	GPu [↓] CGPyC	—	
Asu I	G [↓] GNCC	Hughes <i>et al.</i> (1980)	
Asu II	TT [↓] CGAA	—	
Asu III	GPu [↓] CGPyC	—	
Ava I	CPyCGPuG	Murray <i>et al.</i> (1976)	Yes
Ava II	G [↓] G [↓] ACC	Murray <i>et al.</i> (1976)	Yes
Ava III	ATGCAT	Roizes (1979)	
Avr I	CPyCGPuG	—	
Avr II	CCTAGG	—	Yes
Alu I	AG [↓] CT	Roberts <i>et al.</i> (1976)	Yes
Apy I	CC [↓] AGG	—	
Bac I	CCGCGG	—	
Bam FI	GGATCC	Shibata <i>et al.</i> (1976)	
Bam HI	G [↓] GATCC	Wilson and Young (1980)	Yes
Bam N	G [↓] G [↓] CC	Shibata and Ando (1975)	
Rbv I	GC [↓] AGC	Vanyushin and Dobritsa (1975)	Yes
Bcl I	T [↓] GATCA	Bingham <i>et al.</i> (1978)	Yes
Bcl 70	CTGCAG	Shibata <i>et al.</i> (1976)	
Bce R	CGCG	Shibata <i>et al.</i> (1976)	
Bgl I	GCCNNNN [↓] NGGC	Duncan <i>et al.</i> (1978)	Yes
Bgl II	A [↓] GATCT	Duncan <i>et al.</i> (1978)	Yes
Bpu I	—	Ikawa <i>et al.</i> (1976)	
Bsp 1286	—	Shibata <i>et al.</i> (1976)	
Bsp RI	GGCC	Kiss <i>et al.</i> (1977)	
Bst I	G [↓] GATCC	Catterall and Welker (1980)	
Bst EII	G [↓] GTNACC	—	Yes
Bst EIII	GATC	—	
Est PI	G [↓] GTNACC	Pugatsch and Weber (1979)	
Est NI	CC [↓] GG	—	Yes
Bse I	GGCC	—	
Bse II	GTTAAC	—	
Bsu RI	GG [↓] CC	Bron and Hörz (1980)	

Bilag 2OVERSIKT OVER GENER SOM ER KLONET

Gener fra dyr (og planter)

Oversikten stammer fra Davies (1982): Genetic Engineering 3, Academic Press, London.

Det er tatt med referanse til kilder for de ulike kloninger, dette for at en får et begrep om hvor mange som er engasjert i denne type forskning. For identifisering av de ulike publikasjoner, se Genetic Engineering 3, s. 148-173.

I tabellen skilles det mellom:

Genomic clone, dvs. kloning av DNA.

cDNA-clone, dette er kloning med utgangspunkt i mRNA. En må da først få tak i kodene i DNA-form. Dette skjer ved å lage en såkalt komplementær kopi (cDNA) av mRNA. For å oppnå det, brukes et enzym som kalles revers transkriptase, det er en form for DNA-polymerase.

Gene product	Reference number	
	Genomic clone	cDNA clone
ACTH β -LPH	1	
Actin	2, 3, 4, 5,	179, 180, 181, 182,
	6	183, 184, 185, 283
Albumin	7, 8	186, 187, 188
Alcohol dehydrogenase	9, 10	
Alpha-fetoprotein	11, 12, 13	188, 189
Amylase	14, 15	
Antifreeze peptide		190
Apoprotein		191
Aprt (adenine phosphoribosyl transferase)	16	
Arginosuccinate lyase (Arg H)	17	
Calmodulin		192
Casein		193
CDC10 gene	18	
Cell cycle gene	19	
Chorion	20, 21	194, 195, 196, 197
Collagen	22, 23, 24	198, 199, 200, 201
Complement (C3)		202
Conalbumin	25, 26	203
Corticotropin		204
Crystallin	27	205
Cuticle genes	28	
Cytochrome c	29, 30, 31, 32	
Cytochrome oxidase	33	
Dehydroquinase	34	
Dihydrofolate reductase	35	207
Discoidin-1	36	
β -Endorphin		204
Fibroin	38, 39	
Foot and mouth virus antigen		208

Gene product	Reference number	
	Genomic clone	cDNA clone
Galactokinase	40	
β -Galactosidase	41	
Globin	42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51	209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218 219, 220, 221
α 2 μ -globulin		
Glycero-3-phosphate dehydrogenase	52	
Gonadotropin		222, 223
Growth hormone	53, 54, 124	224, 225, 226, 227,
Heat shock protein	57, 58, 59, 60, 61	229
His 3	63, 80	
His B	64	
Histocompatibility antigen	65	230, 231, 232
Histone	66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 132	
Imidazole-glycerol phosphate dehydratase	63, 80	
Immunoglobulin	81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94	233, 234, 235, 236, 237, 238, 239
Insulin	95, 96, 97, 98	240, 241, 242, 243
Interferon	99, 100, 101	244, 245, 246, 247, 248, 249, 250
Intracisternal A particle genes	102	
Lactalbumin		193, 251
Larval serum protein		252
Leghaemoglobin	103, 104	253
Leu 2	105	
Lipoprotein		254
Lysozyme	106, 107	255, 262
Metallothionein-I	108	
β -2 microglobulin		256
Mitochondrial genes	109, 110, 111, 112, 113	
Milk proteins		257
Myosin	114, 115	179, 258, 259
Nitrogen fixation genes	116, 117	

Gene product	Reference number	
	Genomic clone	cDNA clone
Ovalbumin	118, 119	260, 261
Ovonucoid	120	262, 263
Parathyroid hormone		264, 265
Phaseolin	121	
3-Phosphoglycerokinase (PGK)	122	
Prolactin	123	266, 267, 268
Pro-opiomelanocortin peptide	124	
Protamine		269, 270
Relaxin		271
Ribosomal protein	128, 129	272, 273
Ribosomal RNA, 5 S	130, 131, 132, 133, 134, 135, 136	
Ribosomal RNA	137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146	
Ribulose-1,5-biphosphate carboxylase	147, 148	
Seminal vesicle secretory proteins IV and V		274
Somatomammotropin		275, 276
Sucrose synthetase		277
Thrombin		279
Thymidine kinase	149, 150	
Thyroglobulin		280
Transfer RNA	151, 152, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161	
Transfer RNA synthetase	153	
Transferrin	162	
Transplantation genes		281
α -Tropomyosin		282
Tubulin	164	283, 284
Uteroglobulin		285
U5 RNA	165	
U1 RNA	166	
Ura-1	167	
Viral genes	55, 56, 62, 176, 178	228
Vitellogenin	168, 169, 170, 171	286, 287, 288, 289
Yolk proteins	172	

Står vi foran en avlsmessig revolusjon?

Vi kan ommøblere et dyrs arvestoff

Norsk svineavl har nådd imponerende resultater – også målt med internasjonale mål. Men avlsarbeidet og framgangen fortsetter. Professor Harald Skjervold slo fast at det fortsatt er mulig å nå lenger på den ve-



Bendik Bendiksen

Det har skjedd mye innen norsk svineavl de siste tiårene. Dagens gris er på så godt som alle felter sine fortrede langt overlegen. Men vi har på ingen måte nådd toppen.

– Ved systematisk svineavl er det fortsatt mulig å opprettholde en betydelig avlsframgang over et lengere tidsrom, sa professor Harald Skjervold i sitt foredrag på Svineavlslagets årsmøte. Skjervold har stått helt sentralt i den imponerende avlsutvikling vi har hatt i svineholdet i de 25 år Svineavlslaget har bestått. På årsmøtet hadde han fått i oppdrag å snakke om svineavlten de neste 25 år.

Men man nå går i avlsarbeidet. Men de perspektiver den nye genetikkene gir for husdyravlen de neste 25 år, er både ufattelige og skremmende. Man har fratrukket naturen dens hemmeligheter, eller de

Eventyrlige, men også skremmende muligheter

Det er fortsatt mye å hente innen den tradisjonelle svineavl, men i dette foredraget tok Skjervold spesielt for seg den nye kunnskap vi nå har fått om arvestoffet og dets oppbygging. Det er blitt mulig å skifte ut og «om-møblere» genene i et kromosom. Den såkalte **genetikken** vil kunne komme til helt å revolusjonere husdyravlen innen få år.

Skjervold la ikke skjul på at det her også er etiske spørsmål som det må tas stilling til. – Men vi må skaffe oss viten om dette nye, slik at vi vet hva vi eventuelt sier ja eller nei til, sa han. Kunnskapen om arvestoffets

fleste av dem, når det gjelder arvestoffets oppbygging og virkemåte.

Det vil bli mulig å bytte ut gener vi ikke er fornøyd med, og erstatte dem med andre og bedre.

oppbygging og virkemåte har økt enormt de siste årene. Det kommer nå 5 nye bøker pr. dag innen dette fagområdet. De siste årene er det delt ut 18 Nobelpriser til forskere innen molekylær genetik. Foreløpig er ikke noe av disse kunnskapsmengdene tatt i praktisk bruk i husdyravlen.

Skjervold mener at vi her har en demning som nå er i ferd med å bryte. I USA er det en betydelig industri som har engasjert seg innen denne sektoren. Innen kort tid kan det som i dag er på forsøknings- og forsøksstadiet, komme i praktisk bruk – og da vil det stå sterke krefter bak markedsføringen. – Vi kan komme til å finne verdifulle arefaktorer som «hy-levarer» om ikke så alt for lenge, sa Skjervold. Egenskaper som gir

immunitet mot ulike sykdommer, regner Skjervold som kanskje de første praktiske resultater husdyrbrukerne vil møte av genetikkene.

Dårlige gener byttes ut

I dagens husdyravl jobber man med en «arvelighetspakke». De dyra man bruker i avlen har mange gode egenskaper, men selv de beste dyrene har noen egenskaper vi skulle ønsket annerledes. Den nye genetikkene vil om ikke lenge gjøre det mulig å plukke ut disse dårlige delene av arvestoffet og sette inn nye og mer verdifulle egenskaper i stedet.

Kanskje kan vi få merinoull på vår hjemlige dalasau?

Det er allerede overført gener fra et dyreslag til et annet. Dette

Det var ny og helt revolusjonerende viten professor Harald Skjervold presenterte for svineproduzentene.

er gjort ved såkalt «nakengens» overføring. Det vil si at det nye genet sprøytes inn i kjernen til et befruktet egg.

Den nye kunnskapen innen arvelighetsforskningen er sammenlignet med oppdagelsen av atomenergien og de halvlederne som er grunnlaget for datateknologien. Skjervold sa seg enig i dette, og ba om at norsk husdyravl følger med i det nye som kommer. Vi må også delta i den debatt som må og bør komme om både de etiske og de praktiske sider av dette nye. – Ressurssmessig er det en overkommelig innsats som er nødvendig for at vi selv skal bli i stand til å styre utviklingen, sa Skjervold.

Bilag 3

OVERSIKT OVER DE DYR OG PLANTER DET ER KLONET GENER FRA.

Etter Davies (1982). Henvisninger til referanser, se bilag 2.

Origin	Reference number
Carp	242
Cow	227, 264, 265, 268, 279, 280
Chicken	22, 24, 25, 26, 27, 70, 71, 93, 106, 107, 118, 119, 120, 149, 161, 162, 165, 166, 183, 184, 186, 191, 198, 199, 201, 203, 205, 209, 215, 254, 255, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 282, 283, 286, 287, 290, 294
<i>Dictyostelium discoideum</i>	36, 138, 180, 292, 296
<i>Drosophila melanogaster</i>	2, 6, 9, 28, 37, 57, 58, 59, 60, 61, 74, 130, 133, 136, 140, 141, 143, 145, 151, 152, 154, 155, 164, 168, 172, 174, 175, 194, 196, 229, 252, 284, 290
Eel	192
Hamster	16, 207
Human	42, 44, 46, 49, 50, 51, 53, 67, 72, 88, 95, 99, 100, 101, 109, 111, 121, 165, 166, 200, 213, 217, 222, 223, 224, 225, 232, 240, 241, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 266, 275, 276
Mouse	11, 12, 13, 35, 43, 45, 65, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 102, 108, 110, 128, 137, 182, 183, 202, 204, 206, 210, 230, 231, 233, 235, 236, 237, 238, 239, 256, 273, 281
<i>Neurospora crassa</i>	34
Nematode	114
Newts	76
Plants	103, 104, 121, 139, 142, 147, 148, 253, 277
Rabbit	47, 48, 214, 216, 218, 277, 285
Rat	1, 7, 8, 14, 30, 54, 96, 97, 115, 123, 159, 160, 165, 173, 179, 185, 187, 189, 193, 219, 220, 221, 226, 241, 243, 257, 267, 271, 274, 293, 295
Sea urchin	5, 66, 68, 69, 73, 77, 181
Sheep	23
Silk moth	20, 21, 38, 39, 195, 197
<i>Tetrahymena pyroformis</i>	146
Trout	269, 270
Viruses	55, 56, 62, 150, 173, 176, 178, 208, 228
Winter flounder	190
<i>Xenopus laevis</i>	75, 79, 127, 131, 132, 134, 135, 169, 170, 171, 211, 212, 234, 272, 288, 289, 291
Yeast	3, 4, 10, 17, 18, 19, 23, 31, 32, 33, 40, 41, 52, 63, 64, 78, 80, 105, 112, 113, 122, 125, 126, 129, 144, 153, 156, 157, 158, 163, 167, 177

Gunnar Vada:

Bioteknologi Mulig anvendelse i framtidig husdyr- avl

Av professor Harald Skjervold

Den norske bonde kjenner forfatteren av denne boka først og fremst som hovedarkitekten bak de avlsplaner vi i dag arbeider etter for de fleste husdyrslag. Dette hans arbeid har gjort ham verdensberømt, og han er i dag en høyt skattet foreleser og konsulent i ulike verdensdeler og på begge sider av «jerntepet».

Denne boka han nå har gitt ut ved Landbruksbokhandelen på Ås, er først og fremst beregnet på studenter ved NLH. De emner som tas opp vil om ikke altfor lenge være av så stor betydning også innen norsk husdyravl at boka bør leses av dyktige husdyrinteresserte bønder.

Det har de senere år vært en rask utvikling innenfor den delen av biologisk forskning som kalles bioteknologi. Dette gjelder:

Fosteroverføring

Kloning

Genetikk

- overføring av gener fra dyr til mikrober
- overføring av gener fra ett dyr til et annet
- syntetisk framstilte gener

Det er neppe uenighet om at en skal ta i bruk de nye hjelpemidler innen norsk husdyravl. Vår husdyrforedling går ut på å produsere hver enhet av melk eller kjøtt for mindre fôr, i det hele en stadig forbedring både av produksjonsegenskaper og bruksegenskaper.

I debatten om hvor raskt og på hvilken måte de nye landevinninger bør tas i bruk, må den norske husdyrbruker være beredt til å delta. Denne boka av professor Skjervold vil gi et godt grunnlag for å kunne delta i denne debatten. Jeg har konstatert at boka er meget interessant, og den vil være nyttig for alle samfunnsengasjerte mennesker også utenfor landbruket.

Forfatteren har forsøkt å unngå de vanskeligste ord og uttrykk i denne framstillingen. Da dette er ukjent stoff også for studentene ved NLH, vil en dyktig bonde være omtrent like godt rustet til å trenge inn i denne problematikken.

Bioteknologi

Mulig anvendelse i framtidig husdyravl

Harald Skjervold

1983, 145 sider 90 kr. + porto

Landbruksbokhandelen, Boks 99,

1432 Ås-NLH ■

Bilag 4

FORKLARINGER TIL ENKELTE FAGUTTRYKK

Adenin, en av de 4 nitrogenholdige basene som utgjør bindingene av de to trådene i DNA-molekylet.

Additiv arv, hvis heterozygotene har en verdi lik middelværdien av de to homozygotene, og hvis vi samtidig ikke har samspill mellom loci, kaller vi det additiv arv.

Allel. Et gen har sin bestemte plass i kromosomet, dette stedet kalles genlocus. I et locus kan vi finne ulike utgaver av genet. Disse kalles alleler. Vanligvis finnes det to varianter i et locus (A og a), men enkelte ganger finnes det mer enn to allele gener, vi kaller dem multiple alleler.

Androgene hormoner, hormoner som stimulerer utviklingen av mannlige kjønnskarakterer.

Antigen, stoff som fremkaller produksjon av antistoffer i kroppen. Se antistoffer.

Anti-codon, en triplett på et tRNA-molekyl som svarer til et codon på mRNA. Se codon.

Antistoffer, stoffer som dannes i organismen og som forbinder seg med fremmede stoffer som føres inn i organismen

Autosom, kromosom som ikke er kjønnskromosom.-

Bakteriofag, virus som angriper og ødelegger bakterier.

Basepar, de to og to baser som utgjør "trinnene" i den "vindeltrepp" som DNA-molekylet utgjør.

Blastula, et ~~tidlig~~ stadium i utviklingen av et embryo. Blastula er stadiet etter morula.

Chimær, individ som er sammensatt av cellegrupper med ulike arveanlegg.

Codon, et sett av 3 nukleotide baser som koder for en aminosyre.

Cytoplasma, det levende celleinnhold utenom selve cellekjernen.

Cytosin, en av de 4 basene som binder sammen trådene i DNA-molekylet.

Dizygotiske tvillinger, stammer fra to frødde egg.



En läsvärd översikt över bioteknologin och dess möjliga användning inom husdjursavel, har skrivits av Harald Skjervold (till höger i bild), professor i husdjursavel vid Norges Lantbruks-högskola. Här med välkänd profil inom svensk husdjursavel: Ivar Dyrendahl, nyligen pensionerad från Seminavel.

Vi på Husdjur passar på att tacka dem bägge för sällsynt fina insatser genom åren! Vi lär förvisso även fortsättningsvis få många nya tankar från dem båda; djurnärningen till nytta

DNA, en nukleinsyre som hos nesten alle organismer utgjør selve arvestoffet.

Dominans, er samspill innen loci, at heterozygoten ligger nærmere den dominante homozygoten enn den recessive homozygot.

Embryo, et foster på et tidlig utviklingsstadium (se morula og blastula).

Eneggede tvillinger, stammer fra kløyving av en zygote.

Enzym, proteinstoffer som virker som katalysatorer i de kjemiske prosesser som foregår i cellene.

Epistasi, en form for samspill mellom loci slik at virkningen av et genpar er avhengig av de gener en har i andre loci. Epistasieffekt og dominanseffekt er tilsammen det vi kaller ikke-additiv geneffekt.

Eukaryote, er organismer som består av flere celler med cellekjerner. Slike organismer har meiosis (reduksjonsdeling).

Gamet, er kjønnselle (egg eller sperm).

Gen, er funksjonelt sett den del av DNA-molekylet som koder et peptid. Hele den basesekvens som utgjør koden for det aktuelle peptid er den funksjonelle enhet til genet og denne delen av et DNA-molekyl kalles cistron. I mutasjonssammenheng brukes begrepet gen om den minste del av arvestoffet som er ansvarlig for en endring av egenkapen. Det vil i de fleste tilfeller være et enkelt basepar.

Genfrekvens, den relative andel et gen utgjør av det samlede antall allele utgaver av vedkommende genlocus i en populasjon. Summen av frekvensen av de ulike alleler = 1,0.

Genetisk drift, endring av genfrekvensen på grunn av tilfeldige årsaker, f.eks. fordi populasjonen er svært liten.

Genetisk load, (belastning) er forekomsten innenfor en kryssbefruktende populasjon av tallrike recessive gener som i homozygotisk tilstand er letale eller skadelige. Uttrykket forekommer ofte innen evolusjonslæren.

Genom, et komplett sett av kromosomer som nedarves som en enhet (kromosomene som overføres gjennom en gamet),, ✓

Guanin, en av de 4 baser som binder sammen trådene i DNA-molekylet.

Haploid, en organisme der hvert kromosom foreligger bare i ett eksemplar.

Embryomanipulationer – bioteknologi

Utvecklingen är rasande snabb inom biotekniken. En realitet inom djurnäringen i flera länder. Inte bara framtidsvisioner utan praktisk konsekvens för oss? – Bengt Lindhé, VD för Seminafel ger några glimtar i ämnet, som också behandlas i aktuell bok av Harald Skjervold.

Harald Skjervold: Bioteknik i husdjursaveln

För att få en överblick över situationen är det nödvändigt att någon sätter sig ner, går igenom litteraturen och sammanfattar nuläget. Det är ingen tillfällighet att professor Harald Skjervold var först på plan

även i det har avseendet. I ett häfte på 145 sidor med rubriken: »**Bioteknologi. Mulig anvendelse i framtidig husdyravl**» har han grundligt, men trots det överskådligt, beskrivit transplantation av embryon (äggöverföring), kloning (produktion av många individer med samma genuppsättning), befruktning i provrör, samt möjligheterna att på konstgjord väg påverka könskvoten.

Tre kapitel i slutet på haftet diskuterar möjligheterna att på konstgjord väg förändra djurens arvs massa antingen rent kemiskt eller genom att överföra enskilda anlag från en art till en annan.

Första kapitlet ger en bakgrund om det molekylära underlaget. Andra kapitlet behandlar multipla DNA-kopior och det tredje olika tekniker vid genöverföring. Häftet avslutas med exempel på praktiska tillämpningar i husdjursförädlingen.

Häftet är lättläst och därför väl ägnat för självstudier för personer som vill följa med på detta område. Även som lärobok på tillämpliga utbildningsnivåer är den väl ägnad. ■

FOTNOT:

»Bioteknologi. Mulig anvendelse i framtidig husdyravl.» Harald Skjervold, 1983, 145 sidor 90 kr + porto Landbruksbokhandelen, Boks 99, 1432 Ås-NLH, Norge.

Heterosis, er kjennetegnet for økt fruktbarhet, veksthastighet og konstitusjon hos kryssingsavkommet.

Homozygot, et individ er homozygot for et locus når det er representert med to like utgaver av genet.

Heterozygot, et individ er heterozygot for et locus når det er representert med to ulike utgaver av genet.

Histakompabilitet, betegner vevsuforlikelighet og brukes i forbindelse med vevstyper.

Introns, mindre regioner (deler av DNA uten genetisk kode (plassert mellom gener)).

Hybrid, produkt av en kryssing mellom arvelig sett ulike foreldre (hos kryssbefruktere er i realiteten alt avkom hybrider).

Innavlsdepresjon, er den nedsatte fruktbarhet, vekst og konstitusjon en får hos avkom etter sammenparing mellom dyr som er beslektet.

In vitro under eksperimentelle forhold "i reagensglass".

In vivo, hos levende organismer.

Karotype, kromosomenes antall og form.

Kjønnskromatin, et sterkt farget legeme i cellekjernen hos hunnkjønn, (ikke hos hannkjønn) hos de dyrearter der en har X og Y kromosom. Brukes ved kjønnsbestemmelse av embryoer.

Klon, en samling individer (eller celler) som er genetisk like (vegetativ, ukjønnert formering). Brukes også i samband med transplantering av gener "gene cloning" se s. 107.

Kobling, gener som sitter i samme kromosom er koblet. Koblete gener skiller lag ved overkryssing.

Kode, den genetiske kode angir sammenhengen mellom basesekvensen i DNA-molekylet og aminosyresekvensen i vedkommende protein.

Kvantitative karakterer, kalles egenskaper som har med kvantitet å gjøre. Bak de kvantitative egenskaper er det som regel mange arveanlegg.

Locus, genlocus, det stykke av et kromosom som utgjør et gen.

Manifestasjon, de virkninger av et gen som kan registreres.

Meiose, reduksjonsdeling.

12-2-1, 83

Bioteknologi

– framtidig

husdyravl

Professor dr. Harald Skjervold har nettopp gitt ut en bok med tittelen: «Bioteknologi – mulig anvendelse i framtidig husdyravl.» Boka er på 135 sider pluss 10 sider bilag.

Vi som har kjent professor Skjervolds arbeid siden han overtok ledelsen av norsk husdyravlsforskning, har vært mektig imponert over hans store evne til å holde seg orientert i husdyrforskningen rundt om i verden og utnytte dette i norsk husdyravl. Han har en egen evne til å ligge et «hestehode» foran den generelle utvikling når det gjelder avlsarbeidet.

Skjervolds nye bok understreker da også bare dette. Her tar han for seg den biologiske grunnforskning fra alle verdens kanter som måtte være av interesse for framtidig avlsarbeid med husdyr. Dette omfatter fosteroverføring, kloning, overføring av gener fra et dyr til et annet (eller via mikrober) og kunstig (syntetisk) framstilling av gener.

Det store arbeid som de senere årene er utført innen molekylær genetik, mener Skjervold vil bidra til forståelse av populasjonsgenetikken. Dette gjelder omfang av arveanlegg som står bak de ulike egenskapene hos dyra, mekanismen bak additiv arv, mulige biokjemiske årsaker

til mutasjoner og mekanismen bak kromosomdelingen.

Skjervold vurderer avlsopplegg basert på denne nye viten. Ved å ta i bruk bioteknologien, vil en få radikal omlegging av vært avlsarbeid, men det blir mer effektivt og billigere enn nåværende avlsopplegg.

Det utføres for tida en enorm forskning innen dette området med mange viktige oppdagelser, oppdagelser som er av en slik rekkevidde at det har vært brukt uttrykk som: «En revolusjon innenfor biologien». (Science 1980). At denne nye viten før eller siden blir tatt i bruk i husdyravl, må en også her i landet ta til etterretning.

Professor Harald Skjervold har på en utmerket måte gjort det mulig for oss å få innblikk i bioteknologien og denne som redskap i husdyravl. Dette har han gjort på en lettfattelig måte uten at det kreves særlig teoretisk bakgrunn.

Bioteknologi – mulig anvendelse i framtidig husdyravl er en bok som derfor kan anbefales så vel for bonden som for forskeren, kort sagt for alle som er interessert i framtidig husdyrhold.

Boka er å få kjøpt i Landbruksbokhandelen, Boks 99, 1432 Ås-NTH. Pris kr. 90,- + porto.»

Harald Nebb

Metabolisme, summen av alle kjemiske prosesser i cella hvor det brukes eller frigjøres energi.

Messenger-RNA, en "kopi" av et avsnitt av DNA-molekylet. Dette mRNA assosieres med ribosomene under selve justerings-syntesen.

Migrasjon, innvandring av individer fra fremmede populasjoner (fører som regel til endring av genfrekvensen).

Mitose, celledeling som gir opphav til to like datterceller.

Mosaik^k, blanding av vevstyper med ulik genotype - finnes hos samme individ. ✓

Mutasjon, en plutselig arvelig endring som ikke skyldes vanlig rekombinasjon av gener.

Mutasjonstrykk, det forhold at genene innen en populasjon spontant muterer med en viss frekvens. Mutasjonstrykket for en viss gen sies å være stort når mutasjonsfrekvensen fra en dominant til en recessiv gen er stor.

Nukleinsyre, et stort molekyl bygd opp av nukleotider.

Nukleotid, byggesten for nukleinsyrer, nukleotidene består av et fosfat, en sukkerart (ribose eller deoksyribose) og en nitrogenholdig base.

Oocyt^t (egg-morcelle). Første reduksjonsdeling skjer i de primære oocytene, mens andre reduksjonsdeling skjer i de sekundære oocytene. ✓

Operator-gen, en gen som virker som en "strømbryter" som slår på av produksjonen av et bestemt enzym.

Overdominans, en dominanseffekt der heterozygoten har en verdi som ligger over den beste av de to homozygotene.

Partenogenese, formering ved at eggcella utvikler seg til embryo uten befruktning.

Peptid, et molekyl som består av lange rekker av aminosyrer.

Plasmider, er stabile DNA-molekyler som ligger utenfor cellekjernen. Alle kjente plasmider stammer fra bakterier og de består av et sirkulært molekyl (en ring). De fleste plasmider er bærere av mange flere gener enn det minimum som er nødvendig for å opprettholde livsfunksjonen i en bakteriecelle.

Polymenase, et enzym som katalyserer oppbyggingen av DNA og RNA, enzymet som kobler sammen enkelte enheter til store DNA-molekyler (store RNA-molekyler).

FYLKESLANDBRUKSKONTORET I ROGALAND
JORDBRUKSETATEN

KLUBBGATA 1, 4000 STAVANGER - TELEFON 04 - 52 95 86

Professor dr. Harald Skjervold
Institutt for husdyravl
Norges Landbrukshøgskole,

1432 ÅS-NLH

EF. EKT/IS

DATO 17. januar 1983

Bioteknologi.

Eg syner til brev, og til det tilsende kompendiet. Først må eg få lov å takka for dei greie artiklane dine om emnet i "Bondevennen" i fjor haust. Dette skulle eg sjølvsagt ha gjort før - men det har berre ikkje vorte.

Du undrast vel kanskje på kvifor ein tidlegare fylkesagronom i planteavl interesserer seg for husdyr- og husdyravl. For meg er begge fagområda like interessante. Eg skreiv forresten hovudoppgåva mi i husdyravl (1950), og har alltid prøvt å sjå samanhengen i planteproduksjon, husdyrhald og økonomi. Elles synest eg det er spennande å lesa all slags faglitteratur - så langt tida rekk.

Vedlagt fylgjer ein omtale av boka di til "Bondevennen". Dette var så fengslande lesnad at eg sette meg til med det same - og eg vonar omtalen min kan gjera mange lesarar av "Bondevennen" forvitne. Eg er så hjartans enig med deg i at vi må følgja med i det som skjer på området. Vi korskje treng, eller bør kopiera utalandske avlsopplegg som er baserte på ny teknologi - utan at vi har analysert, og har vurdert om det tener vår husdyravl. Men for å kunna døma om det, må vi veta litt om utviklinga. Og her trur eg som du at også konsulentar og husdyrbrukarar bør ha kjennskap til kva dei arbeider med i den "store verda".

Med desse få orda - hjarteleg takk for eit flott arbeid. Eg vonar det ikkje er det siste vi får frå di hand på dette området.

Med helsing


Einar K. Time

Polymorfisme, betyr generelt at en gruppe organismer består av forskjellige typer. I genteknikken brukes uttrykket om et gen når det opptrer med flere varianter (alleler) i en populasjon.

Polypeptid, et stormolekyl satt sammen av aminosyrer knyttet til hverandre i en lange kjede (peptidkjeder). Et protein består av en eller flere like eller ulike polypeptider.

Populasjon, en gruppe individer som tilhører samme "genpool".

Rekombinasjon, prosess som fører til at gener som tidligere var adskilt kommer sammen igjen.

Replikasjon, kopiering, betegnelsen på den nøyaktige fordobling av arvestoffet. Hver av de to trådene i DNA-molekylet får bygd opp en ny "tråd".

Ribosom, en aktiv enhet under proteinsyntesen. Ribosomene har "heftet" til seg en aminosyre som tilsvarer det antikodon som karakteriserer vedkommende aminosyre.

RNA-ribonukleinsyre, et stormolekyl bygd opp av nukleotider.

Sekundær oocyt,^t se oocyt.^t

Somatisk, som har med kroppscellene å gjøre.

Spermatogenese, den prosess hos seksuelle organismer (dyr) hvor spermene dannes.

Translokasjon, flytting av kromosommateriale mellom to kromosomer.

Tymin, en av de 4 basene i DNA-molekylet.

Transfer-RNA, overfører spesifikke aminosyrer til bestemte plasser i peptidkjeden.

Urasil, en base som i RNA-molekylet tar den plass thyminbasen hadde i DNA-molekylet.

Zygote, en celle som dannes ved forening av to kjønnsceller.

Genteknikk og mikrobiologi åpner uante fremtidsperspektiver. Jeg tror mange vil være enig med meg når jeg sier at jeg tror at vi her har parallellen til oppdagelsen av atomenergien og av halvlederne. Her har vi fundamentet for en viktig industriell, medisinsk og sosial utvikling fremover mot og etter århundreskiftet.

Einar K. Time:

Kva er bioteknologi?

Som lesarane av «Bondevennen» minnest, så skreiv professor Skjervold tre artiklar om bioteknologi i fjor haust i tidsskriftet. Nå har Skjervold gitt ut ei særskild bok om emnet, og titelen er:

BIOTEKNOLOGI

Mulig anvendelse i framtidig husdyravl.

Boka er komen ut som eit kompendium på 145 sider i 1983.

La meg med ein gong få slå fast: Dette er både spennande og fengslande lesnad – av ein heilt annan kategori enn vi finn i vanlege bøker. Etter gjennomlesing sit ein igjen med ei audmjuk kjensle av at noko meir fantastisk enn sjølve livsgåta finst ikkje – og livet har neppe oppstått tilfeldig.

Bioteknologi omfattar ei rekkje faggreiner i samband med avls- og arvelære. I boka drøfter professor Skjervold m.a. eggtransplantasjon, kloning (som forresten kan vera fleire ting), frøing in vitro (utafør dyrekroppen) og molekylærgrunnlaget for arv og genteknikk. Dessutan omtalar han i eit eige kapittel mogleg bruk av bioteknologi i moderne husdyravl. I tillegg er det etter kvart hovudavsnitt eit kort samandrag – og enkle konklusjonar.

Det vil føra alt for langt å gå i detaljar i det heile frå dette veldige emnet. Eg skal likevel gje eit par smakebitar. I innleiinga nemner forfattaren at utviklinga går fantastisk fort på dette området. Litteraturen her må karakteriserast som «gammel» når han er eldre enn 3 år! Derfor meiner professor Skjervold at vi i alle fall bør prøva å fylgja litt med i kva som hender ute i verda i denne forskningsgreina. Boka er eit ledd i dette arbeidet, og jamvel om ho først og fremst er etla hovudfagstudentar i husdyravl, vil framstillinga ha langt vidare interesse. For våre avlskosulentar måtte t.d. avsnittet

om spesielle avlsopplegg basert på eggtransplantasjon vera særleg forvitneleg. Han refererer og drøftar m.a. eitt slikt opplegg, MOET-systemet, etter forskarane Nicholas og Smith (1983). Metoden har sjølv sagt fordelar og ulemper. Den genetiske framgangen for mjølkeavdrått vil t.d. auka, men det same vil og skje med innavlskoeffisienten.

Professor Skjervold har ofra temaet kloning i pattedyr – og mogleg bruk av dette prinsippet i framtidig husdyravl brei omtale. Han er litt reservert til å drøfta dette emnet; jfr. og artiklane i «Bondevennen», av di enkelte kan koma til å nytta etiske normar i vurderinga av metoden. Denne reservasjonen er forståeleg frå ein forskar, og det er fint tenkt når forskaren på dette viser ut over sin eigen bås. Men her trur eg det kan vera rett å minna om kong Olavs merknad då han vart intervjuet av Erik Bye i fjor haust. Bye spurde kva kongen meinte om atomforskning – som m.a. hadde ført til noko så vanvittig som atombomba: Det er *bruken* av forskingsresultatet som er feil – ikkje forskinga. Eg vil og minna om utvikling og innføring av KS i husdyravlen hjå oss, som var det store fagspørsmålet sist i 40-åra. Mange var motstandarar av etiske grunnar. Likevel vart KS teken i bruk i systematisk avlsarbeid, og Norge har vel vore eit føregangsland på området.

Kloning har ei rekkje fordelar – og ulemper i husdyravlen, så vidt vi kan sjå i dag – utan at eg nemner meir frå dette temaet. Professor Skjervold går ganske grundig gjennom det molekylære grunnlaget for arv, og til sist i boka drøfter han mogleg bruk av ny teknologi i husdyravlen. *Eggtransplantasjon* er t.d. neppe aktuell i dag i praktisk husdyravl, men på sikt kan

metoden få interesse på spesielle område. Kloning kan få ei viss interesse, særleg i samband med fosteroverføring, men også her kan det reisast mange faglege innvendingar i samband med avlsopplegg.

Det er berre smakebitar frå ei mykje spennande bok. Eg vil rå alle husdyrkonsulentar til å skaffa seg henne. Svært mange interesserte husdyrbrukarar vil og utan tvil ha stort utbytte av å lesa boka, jamvel om dei som eg måtte ha den teoretiske arvelæra noko på avstand. Ein del av stoffet er vanskeleg, og her er brukt mykje framande ord og omgrep. Desse spesielle fagord er forklarnde i ei særskild ordliste bak i boka. Men ein bær nok kunna noko teoretisk arvelære for å greia fylgja med – jamvel om forfattaren har forenkla framstillinga nokså langt.

Boka er forsynt med ein del fotografi – og mikrofotografi – og desse er av overraskande god kvalitet til å vera i eit kompendium. M.a. er her eit utruleg mikrofoto frå innføring av reint DNA i cellekjernen av muscegg! Mikropipetten har ei opning på 0,5 μ m – eller $\frac{1}{20000}$ mm! Boka er elles rikt illustrert med figurar, teikningar og med grafiske framstillingar og tabellar. For dei som vil gå djupare inn i stoffet er her og svært fyldige litteraturlister.

Dessverre finst det nokre få skrivefeil utan at det skjemma framstillinga. Manglande kommasetting enkelte stader gjer derimot forståing av teksten vanskelegae enn nødvendig.

Alle interesserte husdyrfolk bør som nemnt skaffa seg boka – og lesa og studera henne, gjerne fleire gonger, jamvel om stoffet ikkje er direkte «brødnittig» i dag. Boka opnar innsynet til ei utruleg spennande verd – og dette er vi professor Skjervold svært takksame for. Vi vonar han framover vil få høve til å halda alle oss ikkje-spesialistar orientert om kva som vil skje på dette fascinerande fagområdet.

BIOTEKNOLOGI

Mulig anvendelse i framtidig husdyravl.

Harald Skjervold 1983, 145 sider. 90 kr. + porto.
Landbruksbokhandelen, Bøks 99, 1432 ÅS-NLH.



TELEX 72969 LDEP N

DET KONGELIGE LANDBRUKSDEPARTEMENT
STATSRÅDEN

KONTOR: AKERSGT. 42 - TLF. 119090 - RIKSTELEFONER OG FJERNVALG TLF. (02) 4190 10
POSTADRESSE: POSTBOKS 8007, OSLO-DEP. OSLO 1

Professor Harald Skjervold
Institutt for Husdyravl
Norges landbrukshøgskole

1432 AS-NLH

Oslo, 17. januar 1983

Kjære Harald Skjervold,

Jeg vil gjerne takke for og returnere ønskene om et godt nytt år.

Jeg vil gjerne også takke deg for den mottatte og meget interessante utredning om bioteknologi og husdyravl. Jeg har hatt anledning til å gå raskt igjennom ditt arbeide og må bare få si at jeg er imponert over oversikt, klarhet og vyer.

Som du har forstått er jeg allerede i utgangspunktet opptatt av de utfordringer vi her står overfor og har i denne forbindelse også iverksatt et visst arbeid i departementet. Når dette er noe mere framskredet skal jeg få lov til å komme tilbake.

Inntil videre: Lykke til med denne og din øvrige virksomhet.

Vennlig hilsen

Johan C. Løken