

56325

H:4-

56325 300

1991-06-09



biotech-info

IX. évf. 1. sz. 1992.

ISSN 0237-0115

OMIKK

BIOTECH-INFO

Készül az **MTA Könyvtára** és a **Szegedi Biológiai Központ**
munkatársainak közreműködésével

Szakszerkesztő:

FAZEKASNÉ HORVÁTH ZSUZSA

Technikai szerkesztők:

HORVÁTH ENIKŐ
BAUMGARTNER ZOLTÁN

Kiadja az

Országos Műszaki Információs Központ és Könyvtár

Bp. VIII. Múzeum u. 17.

Postacím: Bp. Pf. 12. 1428

A szerkesztőség telefonszáma: **1-382-915**

A kiadásért felelős: Jánszky Lajos

Készült az OMIKK nyomdájában

1011 Bp., Gyorskocsi u. 5-7.

Felelős vezető: Tóth Károly

TARTALOM

JOGI KÉRDÉSEK	3	Az állatok szabadalmaztatása Európában
TERÁPIA	7	A t-PA átépítése a hatékonyabb terápia céljára
<hr/>		
GAZDASÁGI ÉS JOGI KÉRDÉSEK	13	Hírek a nagyvilágból
	17	Törvény – biztonság – információ
<hr/>		
KUTATÁS ÉS TECHNIKA	25	Géntechnika
	35	Orvostudomány
	41	Bioengineering
<hr/>		
GYAKORLATI ALKALMAZÁS	49	Élelmiszeripar
	51	Növénytermesztés
	59	Állattenyésztés

Az állatok szabadalmaztatása Európában

Bizley, E. Richard: Patenting animals in Europe. = Bio/Technology, 9.k. 7.sz. 1991. p.619-622. T.OMIKK

Tovább nem odázható az állati szabadalmak kérdése Európában. Immáron hat év telt el a harvardi egér amerikai szabadalmi bejegyzése óta, és Európa még mindig habozik.

Az Európai Találmányi Hivatal (EPO - European Patent Office, székhelye Münchenben van) először 1989-ben utasította el a szabadalmi kérelmet. Az EPO Fellebbezési Bizottsága (Appeal Board) az elmúlt októberben erősítette meg az elutasítást. A döntéskor az etikai, morális kérdések bizonytalanságára hivatkoztak.

A kezdeti elutasítás

Az Egyesült Államokban 1985-ben jegyezték be a harvardi egér szabadalmát, majd a szokásos késedelemmel megkezdődtek a tárgyalások az EPO-val. A szóbeli meghallgatás 1989 júliusában volt, majd az írásbeli visszautasításkor az Európai Szabadalmi Egyezményokmány (European Patent Convention - EPC) 53-as és 83-as cikkelyére hivatkoztak.

Az EPO két tágan értelmezhető kifogása közül az egyik nyelvi nehézségekből adódik. Az EPO szabályzata három nyelvű: angol, francia és német. Az általuk használt terminológiában egyik nyelven sem található az "állati változatoknak" megfelelő adekvát kifejezést.

A Szabályzat mindhárom nyelven megfogalmazott változatában a jogi nyelvezet tovább ködösítette a tudományosan sem egyértelmű fogalmat. A Vizsgálati Bizottság egyszerűen megkerülte a kérdés egyértelmű megoldását. A mi értelmezésünkben az "állati változat" kizárólag tenyésztési folyamatok terméke, és nem vonatkozik a jelentős genetikai manipuláció eredményeként létrejött állatokra vagy azok utódaira.

A másik ellenvetést az jelentette, hogy egyetlen, genetikailag módosított állat (és az állat termékeinek) kimerítő leírása nem elegendő egy olyan széles körű szabadalom elbírálásához, amely általánosságban valamennyi emlőállatra kiterjedt, az embert kivéve.

A Vizsgálati Bizottság (Examining Division) mérlegelte a morális vonatkozásokat is, de a szóbeli meghallgatáson elhangzott érvek alapján a szükséges állásfoglalásokat az illetékes kormányok hatáskörébe utalta mondván, ezek eldöntése nem az EPC feladata.

A fellebviteli határozat

A Fellebviteli Bizottság állásfoglalása öt fontos területet érint.

Először is megállapította, hogy a törvényes követelményeknek eleget téve általában véve szabadalmaztathatók állatok, de nem "állati változatok". Ez a kijelentés létkérdés a biotechnológiai ipar számára, és biztosítja a továbblépés lehetőségét. Az "állati változat" definícióját illetően a problémát visszautalták a Vizsgálati Bizottsághoz.

Másodszor, leszögezték, hogy állati és növényi "változatok" is szabadalmaztathatók, amennyiben a termékek mikrobiológiai eljárások eredményei. Ez nagyon kritikus előrelépés, mivel a legtöbb biotechnológiai beavatkozásnak részét a mikrobiológiai módszerek, így a harvard egerek is kétségtelenül "mikrobiológiailag" módosítottak. A Vizsgálati Bizottságon a sor, hogy eldöntse, törvény szerint a harvard egerek "állati változatok"-e, és ha igen, "mikrobiológiai" folyamatok eredményei vagy sem. (Szerintünk, természetesen, igen).

A harmadik nagyon fontos megállapítás, hogy a kizáró okokat szűkíteni kell, és nagyon pontosan rögzíteni. Ezek után bármi, ami nem tartozik kizárás alá, szabadalmaztatható.

Leszögeznek továbbá azt is, hogy csupán azért, mert egy szabadalom túl széles körű, nem lehet visszautasítani. A jövőben az EPO csak akkor zárkózhat el egy szabadalom bejegyzésétől, ha azzal szemben komoly kétségek és kizáró okok merülnek fel.

A szabadalom helyes, megfelelő leírásának egyedüli szempontja az lesz, hogy kellőképpen jártas szakember reprodukálni tudja az abban leírtakat.

Végezetül felvetették, hogy a harvard egereknél az onkogének használata nem okoz-e szenvedést az állatoknak. Ez ugyanis már morális kérdés, ami önmagában, külön vizsgálendő. Megfontolásra kérték a Vizsgálati Bizottságot ebben az ügyben is.

A morális felülvizsgálata

A harvardi szabadalmi kérelem ismét a Vizsgálati Bizottságnál van és a támogatás érdekében részletesen megfogalmaztuk az érveinket. Az "állati változatot" illetően nem változott az álláspontunk. A "mikrobiológiai eljárások" tekintetében is változatlanok a nézeteink. Marad tehát a "vitatható" morális kérdés.

Az erkölcsöt illetően a harvard egerekről első perctől kezdve az a véleményünk, hogy jelentősen hozzájárulhatnak az emberek millióit sújtó rákbetegség gyógyításához, valamint lényegesen csökkenthetik a szükséges kísérleti állatok számát, szenvedését. A kísérleti állatok használata elkerülhetetlen. Ha ezt figye-

lembe vesszük, semmiképpen sem erkölcstelen olyan állat szabadalmaztatása, amelyik számottevően redukálja a kísérleti állatok számát. Ha még azt is nézzük, hogy korábban nagyon sok esetben nem a megfelelő rendszerekben tesztelték a gyógyszereket (csak a Talldomodot idézem), akkor különösen szembeszökő a harvard egerek előnye.

És azt se feledjük, hogy az emberek és állatok viszonylatában, a mai jogi világunkban mindig az emberi érdekeké az elsőbbség.

Az erkölcsi megfontolásokat boncolgató levelek között még mindig rengeteget találunk, amelyek azt az alapvető fundamentallista nézetet képviselik, hogy az élet genetikai manipulációja önmagában véve erkölcstelen. Viszont mindaddig, amíg a népesség többsége betegségek özöne ellen jobb kezelést kaphat így módon, és mindaddig amíg a tudomány számára nincs jobb kísérleti rendszer a terápiák ellenőrzéséhez, kidolgozásához, addig a harvard egerek nélkülözhetetlenek és felbecsülhetetlen értékűek.

Gyakori ellenvetés, hogy a manipulált állatokat rövid távú haszon érdekében alkalmazzák. Ez szinte nevetséges, hiszen nem ezt tesszük-e a fogyasztásért vagy a kedvtelésért tartott háziállatokkal nap mint nap? Egyetlen demokratikus állam sem tiltja az állatok tartását, az állatok birtoklásának jogát. A szabadalom sem más, mint bizonyos állatok birtoklása. Vagy talán a harvardi tudósoknak az a vétkük, hogy élen jártak a kutatásban? De hiszen a tudományos munkájukat abszolút jogszerűen végezték, teljesen tisztos emberi szándékok által vezérelve, a tudományos erkölcsöknek megfelelően. A tudományos világban munkájukat tökéletesen erkölcsösnek, humánusnak tekintjük; viszont ha szabadalom születik belőle, hirtelen mindez erkölcstelenné válik?

(És nem hasznosítható?).

A farmerek is felemelték a hangjukat. Ennek egyik oka, hogy a szabadalmaztatott állatok látszólag veszélyeztetik a korábbi tenyésztési erőfeszítéseket, korábbi monopóliumukat. Ha génebérszeti úton különböző, kívánatos tulajdonsággal rendelkező állatokat lehet előállítani, az ilyen állatokhoz kötődő jogok társaságok kezébe kerülnek. A klasszikus tenyésztésnek, nemesítésnek természetesen megmarad a létjogosultsága a jövőben is, de tagadhatatlan, hogy az új szabadalmak egyes farmereket károsan érintenek. De ilyen fajta eltolódások a gazdaságban mindig előfordulnak; ezek gazdaságpolitikai kérdések és semmi közük az erkölcshöz.

Fölöttébb gyakran hangoztatják azt a nézetet, hogy a transzgénikus állatok veszélyeztetik a természetben meglévő genetikai változatosságot. Pedig, a transzgenezis fokozza a diverzitást azzal, hogy új genetikai konstrukciókat hoz létre. Ezzel az érveléssel összeegyeztethetetlen egy másik, sokat emlegetett aggodalom: a környezet számára veszélyes organizmusokat hoznak létre a kutatók.

De hiszen ennek kockázata abban a pillanatban megszületett, amikor a laboratóriumokban elkezdtek foglalkozni toxikus és veszélyes élőlényekkel. Az teljesen egyértelmű, hogy az egyes kormányzatok felelőssége és kötelessége a veszélyes organizmusok felhasználásának szabályozása. Ez nem a találmányi hivatalok feladata! A kőolaj vagy a genetikailag módosított *Escherichia coli* nem immorális, pedig beláthatatlan következményeket okozhatnak, ha ellenőrizhetetlenül kikerülnek a természeti környezetünkbe. Mindezek ellenére az EPO mindkét területen számos szabadalmat bejegyzett már. A harvard egereket nem arra tervezték, hogy kikerüljenek a természetbe vagy általános, szabad kereskedelem tárgyává váljanak: Igen speciális célokra kifejlesztett állatok, amelyek kizárólag laboratóriumokban és magasan képzett emberek kezében alkalmazhatók.

Hasonló érveket sorolhatnánk az evolúciós befolyásukat illetően. Az EPO nagyon sok szabadalmat bejegyzett, amelyek potenciálisan megbonthatják az evolúciós egyensúlyt, hiszen évek óta teszik ezt a manipulált mikroorganizmusokkal. Mennyiben különböznek ezek a szabadalmak a harvard egerektől?

A jövő

1991 végére várhatóan bekövetkezik az EPO szemléletének a liberallizálódása. Én elkérülhetetlennek, elodázhatatlannak tartom, hogy bekövetkezzék az állatok szabadalmaztatása Európában. A növényi példákat tekintetbe véve egyre formálisabbnak tűnnek a kifogások. A páneurópai szemlélet úgy tűnik, lassan vergődik át az akadályokon; és nagy áttörések helyett göröngyös utakon, lépésenként araszol.

A t-PA átépítése a hatékonyabb terápia céljára

Robinson, J.H. és Browne, M.J.: Redesigning t-PA for improved thrombolytic therapy. = Trends In Biotechnology, 9.k. 3.sz. 1991. p.86-90. á:2, h:34. T.OMIKK

A természetben kényes egyensúly alakult ki a véralvadás és a vérrögök lízisének szabályozási folyamatai között, hiszen ez nélkülözhetetlen a normális vérkeringés fenntartásához. A rendszer bármely pontjának sérülése felborítja az egyensúlyt. Bizonyos változások a fokozott véralvadás irányába tolhatják el a rendszert, ami kóros esetben vérrög, trombus képződéséhez vezet. Amennyiben ez a vénás rendszerben következik be, mélyvénás trombózis vagy tüdőembólia alakulhat ki. Az artériás rendszerben megjelenő vérrög a perifériás keringésben vagy a koszorúér hálózatban okoz érelzáródást. (Ez utóbbi a szívizom infarktusok AMI - acute myocardial infarction közvetlen kiváltó oka.) Ezekben a súlyos esetekben a terápia elsődleges feladata a vérrög feloldása, amely életmentő beavatkozás.

A vérrög feloldásának mechanizmusa

Mechanikai értelemben nem történik más, mint az oldhatatlan fibrin oldhatóvá válik, és a vérrög szétesik. A fibrin a plazmin proteáz tevékenységének köszönhetően lebomlik. A plazmin a keringésben inaktív előenzim, plazminogén alakjában kering. Az emberi szervezetben két alapvető plazminogént hasító enzim van: az urokináz típusú plazminogén aktivátor (u-PA) és a szöveti plazminogén aktivátor (t-PA). Mindkét proteolitikus enzim bizonyos hasonlóságot mutat egymással és szubsztrátumukkal, a plazminogénnel egyaránt. Közös jellemzőjük, hogy kétféle formában, egyes és kettős szálú, található. Az A láncuk sajátos felépítésű, jól elkülöníthető szerkezeti elemekből épül fel: a "kringle" domén (u-PA-ban 1., t-PA-ban kettő, plazminogénben 5), a t-PA-ban és az u-PA-ban lévő G domén, amely "növekedési faktor" jellegű és az epidermális növekedési faktoral mutat némi hasonlóságot. A t-PA F (finger) doménja a fibronektin, fibrinkötő fehérjéhez hasonlítható. A fibrinkötésben fontos szerepük van a "kringle" doméneknek is. A B-láncok C-terminális részén megtalálható a szerin proteázok jellemző his-asp-ser triádja.

Szabályozási rendszer

A fibrinolitikus rendszer szabályozásának piciny zavara is beláthatatlan következményekkel, súlyos vérzéssel jár. Éppen ezért a szabályozás szövevényes, több ponton "biztosított": - a t-PA és u-PA lokális koncentrációja igen alacsony;

- az u-PA inaktív proenzim alakban van a vérpályában;

- a t-PA aktív és inaktív formában egyaránt jelen van; viszont az aktív formája nagyon gyenge plazminogén aktivátor aktivitást mutat önmagában. A hatékony aktiváláshoz szükség van a fibrinhez vagy más felületaktív fehérjéhez való kötődéshez. Ez a "fibrinhatás" csökkenti a plazminogén aktiválódását, így a szabad plazminkoncentrációját a keringésben, míg vérrögképződésekor fokozza a helyi plazminkoncentrációt;

- mindkét plazminogén aktivátort gyorsan inaktiválják a plazmában keringő specifikus inhibitorok, továbbá a keringésből eltávolítják a májban végbemenő lebontó anyagcsereutak;

- ha mindezek a plazminogént fékező folyamatok valamiért hatástalanok, végső megoldásként az alfa₂-antiplazmin lép működésbe, és hatástalanítja a plazminogén aktivátorokat.

Mindezek a szabályozó rendszerek nélkülözhetetlenek a természetes életfolyamatok fenntartásához, de sajnálatosan a terápiás célból külsőleg plazminogén aktivátorokat is közömbösítik. A rövid féléletidő miatt a gyógyszerként adott aktivátorokat huzamosabb időn keresztül infúzióval kell adni, viszonylag nagy koncentrációban. A komolyabb nehézséget a rövid féléletidő jelenti, mivel az inhibitorok koncentrációja nagyon alacsony, így hamar telíthetők.

Komoly erőfeszítéseket tesznek a kutatók, hogy terápiásan hasznosítható, ideális tulajdonságú plazminogén aktivátorokat, trombolitikus szereket fejlesszenek ki. A fő cél a következő:

1. növelni a féléletidőt,
2. csökkenteni az inhibitorokkal való kölcsönhatást,

3. fokozni a fibrinhez való kötődést. A molekula javítására háromféle megközelítést használnak: hibrid molekulákat alakítanak ki a t-PA és u-PA vagy plazminogén egyes részeinek egyesítésével, a t-PA-t mutagenizálják, a fibrinhez kötődést fokozó molekulákat (ellenanyagokat, ellenanyag fragmenteket) alkalmaznak.

Hibrid plazminogén aktivátorok

A hibridmolekulák kialakításánál az egyes molekulák előnyös tulajdonságait igyekeznek egyesíteni.

t-PA/u-PA hibridek

Ebben az esetben a t-PA nagy fibrin-affinitását kívánják ötvözni az u-PA jó tulajdonságaival (csak proenzim alakban fordul elő és igen hatékony plazminogén aktivátor).

Az első hibrideket biokémiai módszerekkel alakították ki, kémiai kötéssel a láncok közötti diszulfidhidak létrehozásával. Később a rekombináns DNS-technikával dolgoztak.

Az első hibridek a t-PA teljes A láncát és az u-PA B-láncát tartalmazták. A várakozásoknak megfelelően a hibridek az u-PA-hoz képest megnövekedett fibrinaffinitást mutattak, de sajnos a t-PA-hoz hasonlítva csökkent volt ez a képességük. Egy szálú alakjukban alacsony volt az aktiváló képességük, míg kettős láncú alakjukban jóval hatékonyabbak voltak.

A későbbiekben molekulatöredéket használtak a hibridek konstrukciójakor. A különböző domének kombinációjával mindaddig nem sikerült minden tekintetben előnyösebb sajátságú "mesterséges" plazminogén aktivátort létrehozni.

Plazminogén/t-PA hibridek

Kezdetben ezeket a hibrideket is biokémiai módszerekkel alakították ki.

A plazmin/t-PA hibridek a plazmin résznek köszönhetően két érdekes vonást mutattak: a t-PA-tól eltérően a plazmint nagyon gyorsan inaktíválja az alfa-antiplazmin, és ezt a tulajdonságot a hibridek is megőrizték, a plazminogénhez hasonlóan a hibridnek magas féléletideje lett. A hibridek lassú kiürülését (clearance) tovább növelték az aktív centrum acilezésével. Az acilezés hasonlóképpen hatásos volt egy másik trombolitikum, az antistreplase esetében is (A Beecham Group termékének kereskedelmi neve, Eminase).

A plazmin(ogén)/t-PA hibridek nagyon biztatóak, és a jó tulajdonságaik feltehetően tovább növelhetőek a rekombináns DNS módszerekkel.

t-PA mutánsok

A t-PA mutánsokról hírt adó irodalom tetemes és szövevényes, és roppant nehéz megítélni a mutációk valóságos hatását.

Az egyes molekularészek módosítása vagy kiejtése után bekövetkező funkciókiesés nem feltétlenül jelzi ezen részek közvetlen szerepét az elvesztett funkcióban. Informatívabb valamelyest a módosítás után is megmaradó aktivitás, ami jelzi, hogy az adott résznek valószínűleg nincs jelentős szerepe a vizsgált funkcióban. Még közvetlenebbül mutatja az egyes molekularészek szerepét az a megközelítés, melynek során egyes domének beépítésével korábban hiányzó funkcióval ruházzák fel az egyes fehérjéket. Mindezekkel a megközelítésekkel igyekeztek felderíteni a plazminogén aktivátorok egyes szerkezeti elemeinek a szerepét, majd a tulajdonságaik javítását.

A szénhidrát láncok eltávolítása egyértelműen növelte a t-PA kiürülési idejét.

Több kutatócsoport vizsgálta az A-lánc különböző doménjei irányított mutagenézisnek hatását.

A kiürülés szempontjából a G és a K1 domén eltávolításának volt jelentős hatása. Az ilyen deléciók t-PA kiürülési ideje csökkent. A K2 eltávolítása ebben a tekintetben hatástalannak tűnik, míg az F domén szerepe ellentmondásos.

A domén-deléciók vizsgálatokkal megállapították, hogy az F és a G domén deléciója csökkenti a fibrinaffinitást.

Mindezek ismeretében fokozódtak az erőfeszítések az ideális plazminogén aktivátor képzésére, amelyben az erős fibrinaffinitáshoz alacsony plazma "clearance" társul.

A deléciók vizsgálatok tapasztalatait felhasználva próbálkoztak a fibrinaffinitás növelésével a fibrinoldásban kulcsszerepet játszó K2 duplikációjával. Az in vitro kísérletek nagyon biztatóak. A t-PA hatékonyabb működését elősegítheti az is, ha a molekulát ellenállóbbá teszik az inhibitorokkal szemben. A kísérletekben főként a PAL-1, plazminogén inhibitor okozta gátlással foglalkoznak. Sikeresen azonosítani a gátlás szempontjából kitüntetett aminosavakat (B-lánc, 296-302), amelyek deléciója illetőleg negatív töltésű aminosavakra történő cseréje lényegesen csökkentette az inhibitor hatását. Nem biztos, hogy az inhibitorokkal szembeni ellenállóképesség csökkentése kritikus a terápiás alkalmazás szempontjából, mivel azok igen alacsony koncentrációban vannak a szervezetben, így azok kimerítése viszonylag könnyű feladat.

Fibrinhez való eljutás (fibrin-targeting)

A terápia hatékonyság jelentősen növelhető, ha a keringésben lévő plazminogén aktivátorok gyorsan és nagy koncentrációban eljutnak a célpontjukhoz, a fibrinhez. A hatékonyabb célbaérés érdekében fibrinhez kötődő ellenanyagokhoz kapcsolják az aktivátorokat.

A vérröghöz történő gyors és hatékony eljutásnak több előnye van. Egyrészt ily módon csökkenthető a terápiához kívánatos plazminogén aktivátor koncentrációja azzal együtt, hogy lokálisan nő az aktivátor koncentrációja. Ez utóbbi kedvező irányba befolyásolja az aktivátor "működését", amely így inkább a fibrinolízisben vesz részt, mint a szisztémikus aktiválásban. Ez a hatás nem biztos, hogy minden tekintetben kedvező az emberi szervezet számára, mivel nem tesz különbséget a vérrögben lévő és a sebezáródásban lévő fibrin között. Az is elgondolkasztó, hogy a keringésben lévő fibrinogén koncentrációjának csökkentése nem befolyásolja-e károsan a vér viszkozitását. Másrészt a fibrinspecifikus ellenanyaghoz kötött aktivátor méretének megnövekedése kedvezően növeli a fél-életidőt.

Magát az ellenanyaghoz való kötést a korábbiakhoz hasonlóan részint kémiai úton, részint génfúzióval valósítják meg. A kísérletek többségében az 59D8 anti-fibrin monoklonális ellenanyagot használják, amelynek a fibrinhez való affinitása 1000-szer nagyobb, mint a t-PA-é. Egyelőre nem sikerült egyértelműen hasznos, terápiásan alkalmazható konjugátumot nyerni egyik megközelítéssel sem.

Az ellenanyag hordozók felhasználásának egyik különös változata a bispecifikus ellenanyag, amely egyidejűleg irányul a t-PA és a fibrin ellen. Az elképzelés az, hogy az ilyen bispecifikus ellenanyag fokozottan kötődik a vérröghöz, és mintegy "magához vonzza" a keringő t-PA-t. Modell kísérletekben mind az in vivo, mind az in vitro eredmények biztatóak. Ugyanakkor egyelőre nem tudni, hogy nem lenne-e túlságosan drága az ilyen terápia.

Következtetések

A több éves, szerteágazó kutatások során nagyon sokféle módosított t-PA-t hoztak létre. Viszonylag könnyedén sikerült növelni a fehérje féléletidejét önmagában, de ez rendszerint a specifikus aktivitás és a fibrinaffinitás csökkentésével járt. Némely esetben állatkísérletekben az eredeti t-PA-nál kedvezőbb sajátságot mutató változatot kaptak, de klinikai kísérletben már ellentmondásosan viselkedtek az adott módosulatok. Nagyon sok módosulattal végeznek jelenleg klinikai kísérleteket, és remélhetőleg akad köztük "ideális" plazminogén aktivátor is.

AKTUÁLIS

A Műszaki-Gazdasági Magazin mellékleteként kb. 1 ív terjedelemben megjelenik

**A keletnémet mezőgazdaság
átalakításának első tapasztalatai**
című szakirodalmi tanulmány

A nagyüzemek és a családi művelésű parasztgazdaságok működését és celszerű arányait elsősorban a törvényes úton lebonyolítandó tulajdonosváltás, a pénzüzetek óvatos hitelezői magatartása, az Európai Közösség agrárpiaci rendtartásában rögzített termelési kvóták, az üzemmérethez kapcsolódó jelenlegi állami támogatási rendszer befolyásolja.

**A fizetésképtelen gazdálkodók és
az okozott veszteségek jellemzői**
című szakirodalmi tanulmány

A fejlett iparú országokban a fizetésképtelenné váló gazdasági szervezetekre vonatkozó törvények egyidejűleg védik a tulajdonos és a hitelezők érdekeit, meghatározzák a követelések kielégítésének elsőbbségi viszonyait. Az USA, az Európai Közösség csődtörvénye és a magyar csődtörvény, német csődstatistikai adatok idősorai. A hitelezők és adósok alkufolyarnata.

Megrendelhető az alábbi megrendelő lapon együtt vagy külön-külön példányonként 195,- Ft-os áron.

✂ ----- ✂

Megrendelhető:
Országos Műszaki Információs Központ és Könyvtár
Kiadói Igazgatóság
1083 Budapest, Múzeum utca 17. vagy 1428 Budapest, Pf. 12.

MEGRENDELÉS

Alulírott megrendelem a

.....

A megrendelő neve:

Címe:

Megrendelő pénzforgalmi jelzőszáma:

Megrendelés száma: Ügyintéző:

Kelt,

(aláírás, bélyegző)



HÍREK A NAGYVILÁGBÓL

Újítási díjat kapott a veszettség elleni vakcina

1991 Innovation Award. = Biotech News, 10.k. 11.sz. 1991. p.3-4. T.OMIKK

Az első génszészeti úton előállított veszettség elleni vakcina, a RABORAL kidolgozó, a Rhone-Merleux (Rhone-Poulenc) kutatói nyerték el az 1991-es év Újítási Díját.

A vakcina kidolgozása több szempontból különösen jelentős: ez az első génszészeti előállított vakcina, amely az állatvilágot megvédi a veszettségtől, és így lehetőséget nyújt a betegség teljes felszámolására. Ez az első génszészeti módosított vírus, amelyet egyidejűleg kezdenek alkalmazni Európában és az USA-ban. Továbbá a vakcina kidolgozása során több olyan új eljárást alkalmaztak, amely alapvetően hozzájárult a biotechnológia fejlődéséhez. Orálisan adagolható, és hosszú távú védeltséget biztosít. Eddig több mint negyven vad- és háziállaton próbálták ki, köztük emlősökön és madarakon egyaránt.

A folyékony vakcinát zacskókba töltve egy vonzó csalétekbe rejtik. A csalétek megrágásakor kiszabadul a zacskó tartalma, és a vakcina eljut a

megfelelő immunszervekbe. A vakcina-csalétek helikopterről pontosan célozva adagolható a vörös rókák lakhelyére. Európában a betegség fő terjesztői a vörös rókák, Észak-Amerikában ezen kívül a mosómedvék és a szunok (bűdös vörös borz). Folynak a vizsgálatok Afrikában és Latin-Amerikában a kóbor kutyák vakcinálása érdekében, valamint egyes latin-amerikai országokban a denevéreket illetően.

Átalakulóban a Zymogenetics?

Zymogenetics - a company in transition. = Biotech News, 10.k. 12.sz. 1991. p.5-6. T.OMIKK

Az 1980-as években élenjáró kutatócégnek tűnt a ZymoGenetics. Azonban valahogy nem sikerült kamatoztatniuk az általuk felfedezett vegyületekben rejlő lehetőségeket. 1987-ben csatlakoztak a Novo Nordisk-hez.

Ez a változás jelentős sikereket hozhat a ZymoGenetics-nek. A 80-as években számos gyógyászatban alkalmazható fehérjét állítottak elő. A 90-es években már lehetőségük nyílt a fehérjék hasznosítására is, és néhány orálisan használható gyógyszer forga-

lomba hozatalára. A Novo Nordisk-kal történt egyezségük alapján várható a molekuláris biológia és a farmakológia sikeres házassága.

"Világszínvonalú kutató-fejlesztő társaságot szeretnénk létre hozni olyan infrastruktúrával, amely nemcsak a fejlesztés teljes láncolatát biztosítja, hanem a sikeres termékek piaci forgalmazását is, és a Novo Nordisk-en belül egy sajátos arculatot jelent" -nyilatkozta a ZymoGenetics elnöke, Carter Bruce.

"Nagyon remélem, hogy nem egyszerűen embergyógyászatra használható fehérjéket fogunk előállítani, hanem orálisan aktív gyógyszereket. Szerintem ezek lesznek a jövő gyógyszerel, amelyeket a biotechnológia segítségével nyerünk."

Az EUREKA program részévé válik az angliai bioszenzor kutatás

EUREKA status given to UK biosensor research. = Biotech News, 10.k. 12.sz. 1991. p.10. T.OMIKK

A korábban a Cambridge Life Sciences által támogatott bioszenzor kutatás az EUREKA program részévé vált. A jelentős anyagi elismerés a PACE (Plate Activated Carbon Electrode) módszernek szól. Ez egy olyan bioszenzor, amelynél a szén, platina és a teflon sajátos keverékét használják enzimek immobilizálására. A kötött enzimekkel speciális szubsztrátokat lehet kimutatni elektromos jelek közvetítésével.

Az EUREKA támogatás elsősorban a klinikai alkalmazhatóság kidolgozását célozza. A fejlesztést a továbbiakban egy több millióss közös program keretében végzik a Byk Gulden Italia Spa (Milánó) és a drezdai Prüfergerate-Werk Medigen GmbH kutatóival közösen.

Az összefogás célja, hogy a bioszenzor-rendszer előnyeit egyesítsék immunológiai módszerekkel és így integrált diagnosztikai rendszert fejlesszenek ki. Az első, gyakorlatban is használható rendszert 1993-ra ígérik.

Biotechnológiai feketepiac, avagy az árnyoldalak

Spalding, B.J.: Black-market biotechnology: Athletes abuse EPO and HGH. = Bio/Technology, 9.k. 11.sz. 1991. p.1050-1053. T.OMIKK

Egyre inkább nyilvánvaló, hogy a biotechnológia nagyszerű fejlődésének sajátos árnyoldalai vannak. A rekombináns-DNS módszerrel előállított EPO (eritropoetin) és HGH (emberi növekedési hormon) készítményekkel a sportolók visszaélnek, feleslegesen használják teljesítményük fokozása érdekében. Ez néhány esetben az életükbe kerül, és létrejött ezen termékek feketepiac.

Az EPO (eritropoetin) a vörösvérsejtek képződését fokozza, ami a szervek jobb oxigénellátását eredményezve növeli a fizikai teljesítményt. Főként a kerékpárosok és az atléták alkalmazzák, mintegy rejtett doppingszerként, hiszen a szokásos doppingvizsgálat nem mutatja ki. Ugyanakkor túladozás esetén trombózishoz vezethet.

Az eladók (Amgen, Boehringer Mannheim, Ortho Pharmaceutical, Cilag) nem kívánják módosítani a terméket az illegális kereskedelem és a helytelen felhasználás megakadályozása érdekében, mivel ez Immunológiai problémákat vethet fel. A vérszegénység számára létkérdés ennek a szernek a használata, így nem kockáztathatják a fontos gyógyszer felhasználhatóságát a valóban rászorulónál.

A HGH (emberi növekedési hormon) a súlyemelők körében nagyon népszerű, akik a testi erejük fokozásában reménykednek. Ugyan a tudományos eredmények ellentmondásosak, mégis széles körben használják. A tartós szedésnek ugyanakkor komoly mellékhatással lehetnek.

A HGH forgalmazói: Genentech, Eli Lilly, Novo Nordisk, Kabi Pharmacia, Ares-Serono.

Biotechnológiai robbanás

Boom time for biotechnology. = The Economist, 133.k. 1803.sz. 1992. p.11. T.OMIKK

Ha a világon megjelent tudományos közlemények számát tekintjük, akkor az 1980-as évek legdinamikusabban fejlődő területe minden kétséget kizáróan a biotechnológia volt. 1981 és 1990 között 364%-kal nőtt a publikációk száma. A második helyen álló anasztéziológia és intenzív ellátás ezen idő alatt 129% növekedést mutatott.

Az elemzést a Philadelphianban székelő ISI (Institute for Scientific Information) végezte. Különböző tudó-

mányterületek 3700 folyóiratát vizsgálták. Az általános növekedés 53% volt. A legkisebb növekedést (22%) a matematikában tapasztalták.

A ScienceWatch szerkesztője, Pendlebury David, nem lepődik meg ezen az előretörésen, hiszen a 70-es években már előrelátható volt a fejlődés. Az összesítésben az orvostudományok az ötödik-tizedik helyet foglalták el, ami egyértelműen mutatja a biológiai tudományok előretörését. A genetikusok és a molekuláris biológusok az ötödik helyen állnak. Kellő Ironiával felvethető a kérdés: vajon a tényleges kutatási aktivitás fokozódott, vagy csupán a közlési vágy növekedett? Pendlebury meglepetéssel észlelte, hogy az AIDS-Immunológiai kutatások csak a 35-ik helyen vannak. Természetesen lehet, hogy ez optikai csalódás, és minden a definíciók kérdése.

A listavezető közlemények terén mindössze két, nem-biológiai tudomány van, az adatfeldolgozás és a különböző anyagokkal foglalkozó tudományok.

Pendlebury azt is hozzáteszi, hogy a "felnőtt" tudományoknál, általános fizika és kémia, érthető az alacsonyabb, 25-35%-os növekedés.

Szabadkereskedelem a humán szekvenciaadatok területén?

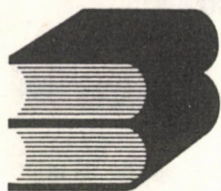
Free trade in human sequence data? = Nature, 354.k. 6350.sz. 1991. p.171-172. T.MTA

Angol és amerikai intézmények, egymástól függetlenül kifejtették né-

zetüket arról, hogy a humán genom szekvenciák nyitott könyvekké válhatnak, illetve hogy véget ért a modern biológia ártatlanságának kora. Az a project, melynek az a célja, hogy a humán genom nukleotidszekvenciáját határozzák meg, már a kezdet kezde-

tén problémákat vetett fel. Két egymástól független fejlesztés - Angliában és az USA-ban - "biztosította" ezt, illetve annak a problémának a megjelenése, hogy a szekvenciáknak kereskedelmi értéke lehet.





TÖRVÉNY – – BIZTONSÁG – INFORMÁCIÓ

A génebeszeti úton nyert peszticidek különlegesek len- nének?

McClintock, J.Th., Sjoblad, R.D. és trsal: Are genetically engineered pesticides different? = Chemtech, 1991. p.490-494. á:3, t:4, h:2. T.OMIKK

Rövidesen elkerülhetetlen lesz a génebeszeti úton nyert új peszticidek kiterjedt vizsgálata a FIFRA (Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act), valamint a FFDCA (Federal Food, Drug and Cosmetic Act) törvények szellemében. A transzgenikus növények toxikológiai vizsgálata nagyon eltérő lehet asszerint, hogy a genetikai beavatkozás milyen természetű. Nyilván egyszerűbb tesztelésre van szükség abban az esetben, amikor a növényben egyetlen peszticidefahérje szintetizálódik, ami az emberre teljesen veszélytelen. Kimerítőbben kell elemezni azokat a növényeket, amelyeknél valamilyen anyagcsereútba avatkoztak be a kutatók, és nem-fehérje természetű peszticide képződik bennük.

Transzgenikus növényeket 1980 óta tudnak létrehozni, amikor kidolgozták az Agrobacterium közvetítette transzformációt, génebevitt. A leg-

eredményesebb kísérletek a Bacillus thuringiensis delta-éndotoxin génjével történtek, valamint a vírusrezisztens dohány- és paradicsomnövények előállításával. Ezeket a transzgenikus növényeket üvegházi körülmények között már részletesen vizsgálták, és kezdetét vették a szabadföldi kipróbálások is.

1986-ban kezdődött egy átfogó program a USDA/APHIS (U.S. Department of Agriculture's Animal and Plant Health Inspection Service) és az OPP (Office of Pesticide Program) összefoglalásával, ami 12 kultúrnövény és 18 különböző peszticidegén mintegy 100 szabadföldi tesztelését jelenti. Egyelőre ezek a kísérletek kis területeken történnek elszigetelt körülmények között.

Az emberi szervezetre való veszélyesség megítélésénél az OPP élesen elkülöníti a fehérje illetőleg nem-fehérje természetű peszticideket. Az előbbiek ugyanis az emésztőrendszerben aminosavakra bomlanak, és feltehetően semmiféle káros hatásuk nem lehet az emberre. Ezalól kivételt jelent,

- ha a fehérje toxikus az emlősökre,
- ha nem bizonyított kellőképpen, hogy az emberi szervezet hagyó-

mányos módon már kapcsolatba került az adott peszticiddel,

- ha az új fehérjét egy természetben előforduló peszticidfehérje elsődleges szerkezetének a módosításával nyerték. A nemfehérje jellegű peszticiddek megítélését a hagyományos kémiai vagy biokémiai peszticiddekhez hasonlóan kell elvégezni.

A szükséges információk

Ahhoz, hogy az új peszticidet termelő transzgénikus növény használatával járó potenciális veszélyeket meg lehessen ítélni, igen sok információra van szükség. A beépített gén vagy génszegmens eredetét, szerkezetét pontosan ismerni kell. A képződő géntermék tulajdonságainak kimerítő tudása nagy mértékben megkönnyíti a potenciális kockázatok feltérképezését, az elvégzendő kontrollvizsgálatok természetét.

A házlállatok és az emberek biztonsága érdekében a peszticidtermelő növények jellemzésének négy alapvető területre kell kiterjednie:

- a donor szervezet(ek) pontos azonosítása, a beépített génszekvenciák pontos ismerete,
- a génbejuttatáshoz használt vektor vagy egyéb módszer pontos leírása,
- a recipient szervezet azonosítása, az idegen gén inszerciójának megállapítása,
- a beépített génszekvenciák kifejlődésének alapos jellemzése. A

transzgénikus növényeket három nagyobb kategóriába sorolhatjuk. Az I. kategória növényeinél az aktív hatóanyagot új, fehérje(k) jelenti(k). Ide tartoznak a *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin génjét hordozó növények.

A II. kategóriánál a bejuttatott új genetikai elem fokozza az endogén peszticid szintjét a növényben. Ezeknél a növényeknél maga a peszticid hatóanyag különféle lehet - akár fehérje, akár nem-fehérje természetű. Ebben a csoportba tartoznak azok a módosított növények, amelyeknél például egy másik növényből származó másodlagos metabolit képződik, vagy valamilyen endogén anyag képződése fokozódik, vagy valamilyen nem-biológiai eredetű teljesen szintetikus génről képződik a peszticid.

A III. kategória növényeit úgy módosították, hogy nem-fehérje jellegű peszticiddek termelődnek bennük *de novo*. A transzgénikus növények orális úton juthatnak az állatok és az emberek szervezetébe. Éppen ezért a toxikológiai vizsgálatoknál is ezt kell figyelembe venni. Bizonyos esetekben számolni kell bőrirritációval is, különösen, ha a feldolgozás során kiterjedten érintkezhet a növény emberi bőrfelülettel.

Az IFBC (International Food Biotechnology Council) 1988-ban kidolgozta a génszabványok módosított ételminszerekkel szembeni alapvető biztonsági követelményeket. Mindenekelőtt az ételmezési és takarmányozási célokra használt transzgénikus növényekkel foglalkoztak. Külön felhívják a

figyelmet a markerként használt antibi-
otikum-rezisztencia génekre és a gén-
átvitel lehetőségére.

Természetesen a transzgenikus nö-
vényeknél nem csak az aktív kompon-
enst kell tekintetbe venni, hanem min-
den más esetleges anyagot is, ami a
génbevitel kísérője lehet. Itt mindenk
előtt az antibiolum-rezisztencia gé-
nekre kell figyelni, mind a háziállatok,
mind az ember vonatkozásában. Az
Agrobacteriumvektoroknál az antibi-
otikum-rezisztencia gének nem transz-
ferálódtak a növényekbe, azok min-
den esetben stabilan integrálódtak a
bakteriális genomba. Mégis egyre na-
gyobb erőfeszítéseket tesznek a kuta-
tók más marker-rendszerek kifejleszté-
sére: pl. biolumineszcencia (lux) vagy
szíreakció (lac ZY) felhasználásával.

A biotechnológia rendszabá- lyozása

Serdy, F.S.: The regulation of biotechnology. =
Chemtech, 1991. p.552-554. á:1. T.OMIKK

Többek szerint az emberiség törté-
netének harmadik legnagyobb tech-
nológiai áttörését jelenti a biotechnoló-
gia jelen fejlődése. Az első az atom-
energia felfedezése, a második pedig a
számítógépek kifejlesztése volt. A re-
kombináns DNS-módszerek, a mo-
noklonális ellenanyagok, a kísérő mű-
szeres fejlődés gyors és drámai hatás-
sal vannak a növénytermesztésre, ál-
lattenyésztésre és a humán gyógyá-
szatra.

A rengeteg előrelépés mellett
ugyanakkor vannak kockázatok, po-

tenciális veszélyek is. Amíg tudomá-
nyos ismeretünk alapján vázolni
tudjuk a biotechnológia áldását, addig
a környezetre való esetleges kockázat
körvonalazása ma még inkább művé-
szet, mint tudomány.

Mi az, amit tudunk?

Először is, a biotechnológia egyike a
legősibb eljárásoknak, amit az emberi-
ség alkalmaz. Hiszen biotechnológia a
fermentáció, a sajtgyártás, a növény-
nemesítés és az állattenyésztés. Lé-
nyegében az alapvető dolog mit sem
változott, mindössze az eszköztár bő-
vült és távoli fajok között is lehetséges-
sé vált a génátvitel. Mindezt sokkal tu-
datosabban, tervezettebben lehet ma
megvalósítani.

Másodszor, ma már tudjuk, hogy a
genetikai kód univerzális. Mivel a kló-
nozott és bejuttatott gének szekvenciá-
ja ismert, a géntermékek is egyértel-
műen jellemezhetők még a transzfor-
máció előtt. Így ha csak valaki nem
akar szándékosan klónozni egy toxint,
szinte felesleges az aggodalom. Hol
van akkor a kockázat?

Mit kell figyelembe vennünk?

A biotechnológiai termékek piacra-
dobását övező aggályoknak számos
oka van. A közvélemény tetemes ré-
sze eleve óvakodik minden újtól. A vo-
nakodást fokozza a korábbinál na-
gyobb mértékű tájékoztatás, zavaros
információzuhatag, ami nem egyszer
részismereteket, tévedéseket közve-

tft. Ugyanakkor szervezett, szabályokkal körülbástyázott világban élünk. Így sokan hiszik, ha valamely terméket egyetlen ügynökség sem szabályoz, akkor az biztosan veszélyes lehet. Olyanok is vannak, akik azért utasítják el a biotechnológiával termékeket, mert azok gazdaságilag hátrányosan érintik őket. Természetesen az előállítóknak, a termelőknek saját érdekük a biztos forgalmazás, így ők maguk is sürgetik a szabályozók kidolgozását. Ez történt a Monsanto esetében is, amely régóta szorgalmazza a tudományosan megalapozott átgondolt rendszabályok kialakítását. 1970 óta számos biotechnológiai terméket állítottak elő, különféle emberi, állati gyógyszert és növekedési hormonokat. Széleskörű kutatásokat végeztek transzgénikus növényekkel - vírusrezisztens, rovarkártevőkkel szemben ellenálló vagy herbicidtűrő növényeket hoztak létre. Mindezek csak az első hullámot jelentik, további módosított tulajdonságú növények várhatók a közeljövőben. A Monsanto vezetői időben fellelismerték, hogy a közvélemény rokonszenve nélkül nem tudnak tartósan lábon maradni.

Négy területen kell jelentős előrelépést elérni: tudományos, szabályozói, politikai és ismeretterjesztési vonalon. A tudósoknak adatokkal kell alátámasztaniuk a biotechnológiai termékek biztonságát és fokozniuk kell a kutatásokat a lehetséges valódi kockázatok felderítésére és kiküszöbölésére. Ehhez fokozott alaputatási tevékenységek és ösztönzés kell. A szabályozókat illetően fenn kell tartani a jelenlegi amerikai rendszabályrendszert. Biztosítani kell a lakosság és a

természeti környezet védelmét, lehetőleg minden politikai fondorlattól mentesen, kizárólag tudományos alapon. Az óvintézkedéseket a tudomány fejlődésének megfelelően állandóan újra kell gondolni, hogy azok ne válhassanak a fejlődés fékezőivé. Minél előbb meg kell valósítani az egységes, nemzetközi szabályozást, ugyanakkor az amerikai, nemzeti biotechnológia fejlődését is segíteni kell. Egyes országok hivatalosan deklarálták a biotechnológiai ipar kiemelkedő stratégiai jelentőségét. Ezek közé tartozik Japán, Hollandia vagy Nagy-Britannia.

A Technológiai Támogatások (Technology Support) Fehér Házbeli Hivatalának kell koordinálnia a szabályozók kidolgozását és a nemzetközi együttműködést. Mindezek kellőképpen biztosíthatnák az Egyesült Államokban kidolgozott termékek védelmét, a szellemi termékek tisztaságát. Enélkül föld alá szorulna a biotechnológiai ipar, és elszabadulna a tisztességtelen hadakozás.

A közvélemény és az ismeretterjesztés, oktatás terén két szempontot kell feltétlenül figyelembe venni. Megfelelő biztosítékokat kell kialakítani a lakosság és a természeti környezet védelme érdekében, valamint tudatosítani kell a közvéleményben mindezt a biztosítérendszerrel. Ennek érdekében halaszthatatlan a legkülönbözőbb szinteken folyó egyidejű széles körű ismeretterjesztés beindítása.

A biotechnológia művelőinek mindent el kell követniük a tudományterület lehetőségének kiaknázásáért, a potenciális veszélyek tudo-

mányos felderítéséért és kiküszöböléséért.

A génterápia egyelőre nem igényel különös jogi elbírálást

Gene therapy wins official blessing. = New Scientist, 133.k. 1805.sz. 1992. p.18. h:1. T.OMIKK

A génterápia etikai kérdéssel foglalkozó angol bizottság benyújtotta jelentését az egészségügyi miniszternek. Clothier, Cecil a bizottság elnöke tájékoztatta a minisztert, hogy több érdekelt társasággal egyeztetve alakították ki a végső véleményüket. Eszerint a napjainkban elvégezhető génterápiás beavatkozások tulajdonképpen a szervátültetésekkel azonosan ítélandók meg. Egyelőre az ilyen eljárások kutatási fázisban vannak, és a tudományos kísérletek etikája szerint kell eljárni. "Jogászként kifejezetten elenzem bármiféle jogi rendszabályozás kidolgozását a jelen helyzetben, amikor még nem tudjuk, hogy mit is kell szabályozni" - fejtette ki az elnök.

A jelentést nyilvános vitára bocsájtják 1992 májusáig, és néhány alapvető rendszabály betartását javasolják a génterápiát végző orvosoknak. A jövőben azonnali jogi szabályozás kell, ha bármilyen visszaélés lehetősége felmerül. Azt is kiemelik, hogy a génterápiát csak abban az esetben szabad alkalmazni, ha az nem súlyosbítja a beteg állapotát és nem jár az egyén valamilyen alapvető tulajdonságának a drasztikus megváltozásával.



A közeljövőben az egyetlen gén meghibásodása által okozott genetikai rendellenességben szenvedőkön segíthetnek génterápiával. Ilyen betegségek pl. a cisztikus fibrózis vagy a Huntigton-kór.

Az ilyen terápia kizárólag a szomatikus sejteket érintheti. Senki sem próbálkozhat az ivarsejtek génterápiájával, amely a következő nemzedéket is érintheti.

Tudósokból és jogászokból álló etikai bizottságokat kell létrehozni az érintett kórházakban a konkrét esetek elbírálása érdekében.

Clothier ugyanakkor hangsúlyozta, hogy igen ingoványos, forrongó terület a genetikai betegségek szűrésének kérdése. Ez számos nagyon súlyos problémát vet fel: a házassági hűség, biztosítás és alkalmazási vetületeket. Ezek valóban súlyos kérdések.

Egy vita megoldása, japán módra

Swinbanks, D.: Solving a dispute, Japanese style. = Nature, 354.k. 6348.sz. 1991. p.4. T.MTA

Miközben a japán bíróságokon folyik a Genentech (USA) TPA-jával kapcsolatos szabadalmi vita, a japán cégek egy csoportja sajtóságtos módon rendezte nézeteltérését a Toyobo céggel egy másik lukratív rekombináns DNS gyógyszerrel, az EPO-val kapcsolatban. Néhány héttel ezelőtt, a cégek közötti megegyezést követően, a Toyobo kérte az Egészségügyi Minisztériumot, hogy vonja vissza az EPO termék szabadalmát. Evvel a lépéssel a

Toyobo saját magát zárta ki az EPO pl-
acról Japánban. Az EPO eset felhívta a
figyelmet arra, hogy ennek a gyógy-
szernek rendkívüli placa van.

Biotechnológiai szabadal- mak. A Genentech győzött Ja- pánban

Swinbanks,D.: Biotechnology patents. Ge-
nentech wins In Japan. = Nature, 354.k. 6348.sz.
1991. p.4. á:1. T.MTA

Bírósági határozat született Japán-
ban a rekombináns DNS technikával
előállított jelentős szívgyógyszer, a
TPA/szöveti plasminogén aktivá-
tor/gyártásával kapcsolatban. A bírósá-
gi döntés értelmében a Toyobo Ltd
megsértette a Genentech Inc (USA)
szabadalmi jogait. A Genentech és né-
hány USA megfigyelő örömmel üdvö-
zölte a bíróság döntését, mintegy bizo-
nyítékát annak, hogy Japán komolyan
veszi a szellemi tulajdon védelmét.

A géntechnikai szabályozás jonddal jár

Aldhous,P.: Genetic engineering. Regulation
cost concerns. = Nature, 354.k. 6348.sz. 1991.
p.5. T.MTA

A brit biotechnológusok aggódnak
az angol kormány által kiadott szabá-
lyozók miatt, mellyel a géntechnikát kí-
vánják ellenőrizni. Ezek a szabályozók
az angol cégeket előnytelen helyzetbe
hozzák a Közös Placon belül. Ezek a di-
rektívák többek között kimondják,
hogy a géntechnikával előállított orga-
nizmusok nem bocsájthatók ki a kör-

nyezetbe a hatóságok engedélye nél-
kül, és javasolják, hogy azok a termé-
kek, melyek átalakított organizmust
tartalmaznak és engedélyezték vala-
mely tagországban, placra juttathatók
bármely Közös Placi országban.

Biokémiai enciklopédia

második kiadás, kibővítették: Scott,T., és
Eagleson,M., Berlin, New York: Walter de Gruyter.,
1988., ISBN 3-11-011625-1

A könyv a német nyelvű Blokémia
ABC kibővített, angol változata.

A biokémia egész területét felöleli,
különösen kiemelve az állati, orvosi
mikrobiális és növényi területeket.

Széles körű ismereteket közöl az
anyagcsereéről, anyagcsere szabályo-
zásról, molekuláris biológiáról, enzimo-
lógiról, a nem-enzimatikus fehérjék-
ről és azok funkciójáról, továbbá a ter-
mészetes anyagokról.

Az enciklopédia a blokémikusokon
túl, minden biológia iránt érdeklődő
számára hasznos.

Élesztő technológia

Yeast Technology
Szerk.: Spencer,J.F.T. és Spencer, D.M.
Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, To-
kyo, Hong Kong: Springer Verlag, 1989. ISBN 3-
540-50689

A könyv fontos ismereteket közöl
az élesztőt felhasználó ipari eljárások-
kal foglalkozók számára.

Az érintett kérdések:

- nagy sejtkoncentrációt használó fermentáció
- a sütőiparban használt élesztő törzsek - új fejlemények
- sör- és szeszélesztők
- borászati fermentáció régen és ma
- élelmiszer romlását okozó élesztők
- élesztők a fermentált ételekben
- az élesztők által hasznosított különböző anyagok és termékek
- élesztők a sajtgyártásban
- élesztők ipari felhasználása Brazíliában
- az élesztőfermentáció kalorimetrikus követése
- protoplasztfúzió - hasznosítása az ipari élesztő törzsekénél
- mutagenézis elvei és alkalmazása az élesztő törzsekénél
- heterológ fehérjék termeltetése élesztőkben.

A könyv kitűnő kézikönyv az élesztőt használó ipari szakemberek számára.

A humán genetika alapjai és alkalmazásai

Basic and applied research in human genetics

Szerk.: Harris, H., és Hirschhorn, K.

Plenum Press

1990

A kötet szerkesztőinek legfőbb szándéka az alap kutatásban és a klini-

kumban dolgozók közötti kapcsolatok építése a hatékonyabb diagnosztika és korszerű terápiák elterjedése érdekében.

Az első fejezet számos, csontfejlődési rendellenességet ismertet.

A második fejezet az I. típusú kollagén mutációjával összefüggő eredményeket összegzi. A PCR-technika lehetővé teszi az alaposabb elemzést és diagnózist.

A következő három fejezet a vérlemezék, IgA-defektusok és a mitokondrium rendellenességekkel foglalkozik.

Állati sejtek biotechnológiája... a kézikönyvekből eddig kimaradt fejezetek

Animal Cell Biotechnology...the parts that other manuals fail to reach

szerk.: Doyle, A., Hay, R. és társai

Cambridge University Press, 1991. ISBN 0-521-352231

Igen hasznos kézikönyv az állati sejtenyészeteknek biotechnológiai hasznosításáról. A szerkesztők elsődleges célja az volt, hogy a kézikönyvekben eddig nem közölt kérdésekről essék szó. A könyv felsorolja a különböző sejtvonalak forrásait, adatbázisokat, biztonsági kérdéseket és szabályokat.

A felsorolt információk sokasága ellenére nem száraz, unalmas olvasmány.

Megrendelési felhívás

A mezőgazdasági kártevők elleni vegyszeres védekezés elterjedése egyre gyarapítja az ökológiai és egészségügyi problémákat. Ezek megismerésében és megoldásában kívánunk segíteni, amikor az Egészségügyi Világszervezet környezetegészségügyi sorozata alapján három újabb kiadványunkban olyan vegyületcsoportokat mutatunk be, amelyeket hazánkban is alkalmaznak.

A Ditiokarbamát peszticidek... c. könyv főleg a növények gombás megbetegedései ellen alkalmazott készítményekkel foglalkozik.

A Szintetikus pyrethroidok... c. könyv a növényvédelemben egyre nagyobb teret hódító allethrinck, resmethrinck és a cypermethrin tulajdonságait ismerteti.

A 2,4-Diklór-fenoxiecetsav... c. mű ennek a szelektív hatású gyomirtó szernek a sajátosságait tekinti át.

Mindhárom kiadvány ismerteti a növényvédő szerek fizikai és kémiai tulajdonságait, a készítményben a hatóanyag mennyiségének, a különböző termékekben és a környezetben a vegyszermaradékok és a bomlástermékek koncentrációjának meghatározási eljárásait. Ismerteti az élővilágra kifejtett hatásokat, a toxikológiai adatokat, a környezetszennyezés veszélyeit és annak elhárítását.

Szintén a mezőgazdasággal, illetve az élelmiszeriparral kapcsolatos az Élelmiszer-besugárzás... c. kiadvány, amely az élelmiszerek, mezőgazdasági termékek tárolás alatti romlásának megelőzését és az élelmiszer eredetű megbetegedések gyakoriságának csökkentését szolgáló új módszert, a kis energiájú (lágy) besugárzási eljárást ismerteti, ide értve a szükséges berendezéseket, a jogi és biztonságtechnikai eljárások ismertetését is.

Kiadványainkat a mezőgazdaságban, növényvédelemben tevékenykedő szakemberek, valamint az ott dolgozók egészségéért és munkakörülményeiért felelős orvosok, higiénikusok, biológusok, gyógyszerészek figyelmébe ajánljuk. Nagy segítséget nyújthatnak e művek a környezetvédelemért felelősséget érző és annak fejlesztésében közreműködő szakembereknck is.

Az adott témakörben már megjelent két kiadványunkkal kiegészítve a sort, közüljük az egyes könyvek árát, illetve irányárát:

Foszfortartalmú szerves rovarölő szerek	590.-
Karbamát peszticidek	490.-
Ditiokarbamát peszticidek, etilén-tiokarbamid és propilén-tiokarbamid	600.-
Szintetikus pyrethroidok: allethrinck, resmethrinck, cypermethrin	950.-
2,4-diklór-fenoxiecetsav (2,4-D)	590.-
Élelmiszer-besugárzás (tartósítási eljárás)	490.-

Cím: OMIKK Értékesítési Osztály
Budapest 1428, Pf.12.



Sherlock Holmes napjainkban molekuláris biológus lenne!

Loerie Pauline és Wells Susan.: Genetic fingerprinting. = New Scientist, 132.k. 1795.sz. 1991. p.1-4. á:6. T.OMIKK

A genetikai fingerprinting több esetben segített szétszórt családok egyesítésében vagy több bűneset felderítésében. A módszert a Leicesteri Egyetemen dolgozó Jeffreys Alec kutatásai alapján fejlesztették ki. Jeffreys az emberi mloglobingént vizsgálva fedezte fel az ún. miniszatelliteket, amelyek szokatlan szekvenclájú, nem-kódoló, ismétlődő DNS-szakaszok. Jellemző rájuk a nagyfokú változékonyság, ami minden egyedre jellemző genetikai térképet eredményez. Baktériumban történő klónozás után két miniszatellit próbát állított elő Jeffreys. Mindezek után kezükbe került egy olyan rendszer, amely alkalmas az emberi DNS-minták azonosítására.

A bűnügy gyakorlatban történő rutinszerű alkalmazásnak ma még számos buktatója van. Az egyik fő nehézség, hogy a DNS-minták rendszerint nagyonszennyezettek, ami a gélettörténi vándorlást befolyásolja, illetőleg nehezíti a restrikciós enzimmel történő

emésztést. Mindezek következtében gyakori a band-shift, a sáv-eltolódás.

Érdekes módon a gyakorlat során kiderült, hogy különösen Európában nagyfokú "beltenyészet" alakult ki, és a gyermekek több allélra nézve homozigóták. Ez a heterozigóta DNS-re épülő kimutatási rendszer automatikus, számítógépes elemzését sokszor bonyolítja.

A nehézségek ellenére egyre szélesebb körben alkalmazzák a módszert a bűnügy gyakorlatban, különösen Angliában. Neml erőszak, gyilkosság, gyerekrablás esetekben egy-egy hüvely-, ruha, harapásminta sokszor segített a nyomravezetésben. De olyankor is hasznos volt, amikor mindössze egy testrészt maradt a gyilkosság áldozatából.

Fontos információkat adhat a DNS-fingerprinting apasági perekben is. Érdekes színfolt az állatkerti állatok őselnek, rokonságának a felkutatása.

DNS-lenyomatunk a leghitelesebb azonosítási kártyánk

A csontvelő átültetésekénél is ropant informatív lehet az ilyen elemzés. Szinte azonnal megítélhető a DNS-fingerprint alapján, hogy sikeres volt-e az

átültetés, és valóban a donor csontvelőből származó vérseltek vannak-e a szervezetben. Hasonlóképpen fontos adatokat kaphatnak a genetikusok az ikrek DNS-ének analízisével, vagy a genetikailag öröklődő betegségek felderítésében.

Talán a jövőben az újszülöttektől rögvést DNS-mintát vesznek, ami egy életre szóló azonosítási kártyát jelent majd.

Fényes jövő vár az új génsokszorozó módszerre

Weiss Rick: Hot prospect for new gene amplifier. = Science, 254.k. 5036.sz. 1991. p.1292-1293. T.OMIKK

Barany, Francis, a Cornell Egyetem professzora gyűjtőúton járva a Yellowstone Nemzeti Parkban hőforrásokból vett vízmintákat. Véletlen megcsúszott, és a 126°C-os gejzírbe ért a lába; másod- harmadfokú égési sebeket szenvedett. A vízminták elemzése azonban mindezért a szörnyű fájdalomért feltehetően kárpótolja, hiszen a biotechnológia egyik remek módszerének kidolgozásához, az LCR (ligase chain reaction) kimunkálásához vezetett. A módszer méltó vetélytársa, pontosabban kiegészítője a PCR (polymerase chain reaction) módszernek.

Az LCR technikában a *Thermus aquaticus* a főszereplő. Ezúttal azonban egy különleges magas hőmérsékleten is működő ligázot tisztítottak a kutatók. A működési elv is hasonló. A magas hőmérsékleten "megolvasztott" kettős szálú DNS-hez oligonukleotido-

kat hibridizálnak. Ezúttal egy olyan oligonukleotidpárt használnak, amelynek egyik tagja a kívánt, keresett szekvenciák baloldalával, a másik tagja pedig a jobboldalával komplementer. A megfelelő helyre került oligonukleotidokat a hőstabil ligáz kovalensen összekapcsolja. A megismételt olvasztási ciklusokat követően a PCR-ben megismert módon megsokszorozható a kívánt szekvenciák másolata. Ílymódon a keresett DNS-szakasról néhány órán belül többmillió pontos másolat készíthető. És a hangsúly ezúttal a pontosságon van. A PCR-rel szemben ebben a módszerben csak a tökéletesen párosodott, végelkkel összeillő oligonukleotidpárok sokszorozódása történik meg. A tökéletlenül hibridizált oligonukleotidokat számos módszerrel el lehet távolítani a reakcióelegyből.

A PCR-nél az amplifikált DNS-szakasz "hitelességét" meg kell erősíteni további elemzésekkel: restriktációs enzimekkel történő térképezéssel illetőleg nukleinsavszekvencia meghatározással. Az LCR egyik szépsége abban rejlik, hogy csak a tökéletesen párosodott és egymáshoz illeszkedő oligonukleotidok amplifikálódnak a későbbiekben a ligáz enzim működéséhez szükséges szigorú feltételek miatt. Ennek köszönhetően egy lépésben történik a detektálás és az amplifikálás.

Az LCR, amely sok esetben kiegészíti a PCR-t, társánál sokkal alkalmasabb a gyors és pontos diagnosztikára; például a genetikai rendellenességek ritka pontmutációjának a kimutatására, géntérképezésnél felellhető mikrobális szekvenciák felfedezésére vagy a vírus- baktériumtörzsek változatai

közötti parányi különbségek elemzésére. A Klinikusok kitörő örömmel üdvözlik a módszert. Egyszerű és gyors eszköz került a kezükbe a pontosabb diagnózis felállítása érdekében.

Barany elsőként a sarlósejtes anémia modellrendszerben alkalmazta módszerét a pontmutáció kimutatására. Mások azonban ennél sokkal messzebb mentek. Nickerson Deborah és mtsai a Caltech-en egyidejűleg 10 különböző esetleges mutációt vizsgáltak egyetlen DNS-mintában: köztük a cisztikus fibrózist, a sarlósejtes anémiát és egyéb pontmutáció okozta elváltozást. Kew Olen a Járványügyi Központban (Centers for Disease Control) a poliovírus vakcina attenuálásának, virulenciájának a követésére alkalmazta Barany módszerét. Wilson Vincent Denverben, a Gyerekkórházban bizonyos daganatokkal kapcsolatos pontmutáció korai felismerésére szeretné kiaknázni az LCR előnyeit. Szinte fordított cél vezet Prchal Joseph alabamai professzort, aki az LCR felhasználásával szeretné megfejteni a különböző daganatos sejtek klónozhatóságát.

Mindezen áldásai ellenére az LCR egyáltalán nem fogja kiszorítani a PCR-t, amely gyorsabb, kevesebb klinduló mintát igényel az utódjánál. Az igazi kibontakozást a két módszer különböző kombinációja fogja jelenteni a jövőben. Hiszen a PCR gyorsasága, érzékenysége és az LCR pontossága egyesíthető. És ha megvalósul a kutatók várakozása, akkor olyan diagnosztikai módszert adhatnak az orvosok kezébe, amely minden eddigit felülmúlhat.

Nem beszélve az alap kutatásban való számos kamatoztatási lehetőségről.

A kezdeti lelkesedést némileg beárnyékolja a módszer szabadalmaztatása körüli huza-vona. A szabadalomért öt cég (Abbot, ABI, SIBIA/Salk La Jolla, Beckman Research Institute, Amgen) vetekedik Barany professzorral, akiknek a fő érve, hogy ő tudta egyedül megoldani a módszer használhatóságát lehetővé tevő megfelelő jel/zaj arányt.

A tülekedés háttérében némi történelmi előzmény áll.

Az Abbot júliusban a szabadalmaztatás bizonyos részét megvásárolta a BioTechnica International of Overland Park (Kansas)-tól, akik évek óta csendben dolgoztak a módszer kifejlesztésén.

A Caltech korábban átadta (Barany kezdeti munkája, amelyet Hood Leory és mtsai fejlesztettek tovább) a módszer részleges szabadalmát az ABInek (Applied Biosystems Inc.), aki már egy részterület szabadalmának a birtokosa, továbbá a módszerre épülő műszerek kifejlesztője.

A tudományos publikációkat illetően az első közlemény 1988-ban jelent meg Hood Lery tollából, aki egy hőmérséklet-érzékeny ligázra épülő génkimutatási módszert közölt. Néhány hónappal később Wu, Y. Dan és Wallace, Bruce, a Beckman Kutatóintézetből közölték a hőmérséklet-stabil ligázra alapuló módszerüket. Mégis Barany volt az első, aki tudományos folyóiratban elsőként adott hírt klónozott, hőstabil ligázról és az erre épülő kimutatási módszerről. Ugyanakkor mind az Am-

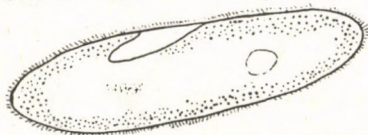
gen, mind az ABI állítja, hogy az általuk benyújtott szabadalmi módszer teljesen átfedi és megelőzi Barany szabadalmi kérelmét. A többiek, beleértve az Abbot-ot is, saját szabadalmuk után futnak.

Az Abbot igyekszik háttérben maradni, noha feltehetően sokat rejtegetnek a tarsolyukban. Hamarosan előállnak klinikai diagnosztikai tesztekkel, amelyek a chlamydia, a papilloma vírus és a HIV kimutatására képesek. Backman (aki az Abbotnak átadott munka egyik résztvevője volt a Bio-Technica International-nél) állítja, hogy évekkel ezelőtt klónozták már a hőstabil ligázt. Viszont azt is elismeri, hogy ezt nem közölték.

A szabadalmaztatás története a hivatalban fog végződni. Ez nem lesz könnyű feladat - nyilatkozta Wallace Bruce a Beckman képviselője. Még hozzátette - a nagy igazság, hogy mindenkinek van valami a birtokában, de senki sem mondhatja magáénak a teljes történetet.

Cisztikus fibrózis génhez kötött transzmembrán vezető-képesség szabályozó előállítás transzgenikus egér tejében

Production of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in the milk of transgenic mice. = *Bio/Technology*, 10.k. 1.sz. 1992. p.74-77. á:4, h:31. T.OMIKK



Ellenanyagok által segített fehérjehajtogatódás

Carlson, J.; Yarmush, M.: Antibody assisted protein refolding. = *Bio/Technology*, 10.k. 1.sz. 1992. p.86-91. á:4, t:1, h:27. T.OMIKK

Rekombináns ellenanyag magas szintű kifejezése mieloma sejtekből glutamin szintetáz génnel mint sokszorosítható szelektálható markerrel

Bebbington, C.R.; Renner, G.stb.: High-level expression of a recombinant antibody from myeloma cells using a glutamine synthetase gene as an amplifiable selectable marker. = *Bio/Technology*, 10.k. 2.sz. 1992. p.169-175. á:6, t:2, h:46. T.OMIKK

Hősokkgen expresszió folytonos Escherichia coli tenyésztésben

Heitzer, A.; Mason, C.A. stb.: Heat shock gene expression in continuous cultures of Escherichia coli. = *Journal of Biotechnology*, 22.k. 1/2.sz. 1992. p.253-170. á:6, t:1, h:102. T.OMIKK

A proteazom alegységek homológiája a fő hisztokompatibilitási komplex-kötött LMP génnel

Martinez, C.K.; Monaco, J.J.: Homology of proteasome subunits to a major histocompatibility-linked LMP gene. = *Nature*, 353.k. 6345.sz. 1991. p.664-667. á:2, t:1, h:16. T.MTA

A fő hisztokompatibilitási komplex (MHC) II. osztály régiója olyan géneket tartalmaz, amelyek legalább két alegységét kódolják a nagyméretű intracel-

luláris fehérje komplexnek (LMP). Ez a komplex blokémiai szempontból a proteazomhoz hasonló, mely sokszoros proteolitikus aktivitással rendelkezik. A közlemény egy olyan komplementer DNS izolálásáról számol be, mely megfelel az LMP komplex egyik alegységének. A szekvenencia vizsgálatok megerősítették, hogy a proteazom és az LMP komplex megosztja a polipeptid alegységeket. Feltételezik, hogy az LMP komplex lehet felelős a citoplazma antigénből történő peptid képződésért.

A második proteazom-rokon gén a humán MHC II. osztály régióban

Kelly, A., Powis, S.H.: Second proteasome-related gene in the human MHC class II. region. = Nature, 353.k. 6345.sz. 1991. p.667-668. á:2, h:33. T.MTA

Az antigén folyamat magában foglalja a citoszolikus fehérjékből történő peptidképződést és azok transzportját az endoplazmás retikulumba, ahol azok kapcsolatba lépnek a fő hisztokompatibilitási komplex (MHC) I. osztályának molekuláival. Két gént azonosítottak az MHC II. osztály területén, melyekről feltételezik, hogy a peptid transzport fehérjéket kódolják. A transzportfolyamatok az érdeklődés középpontjába kerültek és a proteazom az egyik jelölt erre a funkcióra. Szerzők egy proteazom rokon szekvenciáról és egy második humán proteazom-szerű génről számolnak be.

A trombinreceptor kölcsönhatását specifikáló területek.

Vu, T.K.H.; Wheaton, V.I.: Domains specifying thrombin-receptor interaction. = Nature, 353.k. 6345.sz. 1991. p.674-677. á:3, t:1, h:12. T.MTA

A koagulációs proteáz trombin által történő vérlemez aktiváció igen lényeges az artériás trombózisban. Szerzők egy olyan komplementer DNS-t izoláltak, mely kódolja a vérlemez trombin receptort, illetve egy funkcionális enterokináz receptort hoztak létre. A receptor aktiválásához nanomuláris aktivitás szükséges. Azonosítottak egy olyan receptor területet, amely kritikus a trombin hatékonysága szempontjából. A tanulmány definiál egy modellt a trombin-receptor kölcsönhatáshoz.

Vége sikerült az NMDA receptorok klónozása

Mayer, M.L.: NMDA receptors cloned at last. = Nature, 354.k. 6348.sz. 1991. p.16-17. h:12. T.MTA

Vége sikerült a glutamát receptor NMDA altípusát, mely a neurotransmitter receptor molekuláris neurobiológusok egy fontos pontja, klónozni. Az izgalmi szinaptikus transzmisszió során nyert anyagról ismert, hogy szabályozza a neuronális növekedést ugyanúgy, mint az ischaemiát és az epilepsziát. Az NMDA (N-metil-D-aszparát) receptor loncsatorna komplex egy többmillió dolláros kutatás középpontjába kerül, melyben mind az idegrendszeri kutatóintézetek, mind a gyógyszeripar érdekelt.

A patkány NMDA receptor molekuláris klónozása és jellemzése

Moriyosi, K.; Masu, M.: Molecular cloning and characterization of the rat NMDA receptor. = Nature, 354.k. 6348.sz. 1991. p.31-37. á:5, t:1, h:44. T.MTA

Egy komplementer DNS-t, mely a patkány NMDA receptort kódolja, klónoztak és jellemeztek. Az a szülő fehérje, melyet a cDNS formák kódoltak, egy receptor csatorna komplex, amely elektrofiziológiai és farmakológiai tulajdonságokkal rendelkezik az NMDA receptor jellemzésére. Ez a fehérje egy olyan szignifikáns szekvenclával rendelkezik, mely hasonló a AMPA/kainát receptorokéhoz és négy feltételezett transzmembrán szegmentummal rendelkezik. Az NMDA receptor mRNS az idegsejtekben válik ki, részben a hipocampusban, a kéregben és a kisagyban.

A Sindbis vírus mag fehérje szerkezete láthatóvá tesz egy kimotripszin-szerű szerin proteinázt és a virion szerveződését

Hok-Kin Choi, Liang Tong: Structure of Sindbis virus core protein reveals chymotrypsin-like serine proteinase and the organization of. = Nature, 354.k. 6348.sz. 1991. p.37-43. á:6, h:68. T.MTA

A Sindbis vírus egy olyan nukleokapszid magot tartalmaz, melyet egy lipid membrán vesz körül, amelyen keresztül 80 glikoprotein trimer penetrál.

Meghatározták annak a mag fehérjének a szerkezetét, mely egy olyan burokkal rendelkezik, amely körülveszi a genom RNS-t. A polipeptid homológ azon kimotripszinszerű szerin proteínázokkal, melyek His141, Asp163 és Ser215 katalitikus reziduummal rendelkeznek. A C-terminális triptofán maradványok a P1 szubsztrátban szubszekvensenek a kapszid fehérje autokatalitikus cisz bomlással. A Sindbis mag fehérje dímer modellje azt mutatja, hogy a nukleokapszid valószínűleg T=4 kváziszimmetriával rendelkezik.

Patkány agyból származó funkcionális szerotonin klónozása és expressziója

Blakely, R.D.; Berson, H.E.: Cloning and expression of a functional serotonin transporter from rat brain. = Nature, 354.k. 6348.sz. 1991. p.66-70. á:4, h:39. T.MTA

Az antidepresszánsok által kialakított szerotonin (5HT) és noradrenalin transzport szelektív antagonizmusa a kulcselem az ún. "lelki" betegségek aminhipotézisének. Az 5HT felvevő és/vagy transzport helyei redukáltak az ilyen betegnél. Bővebb ismeretek céljából az 5HT transzporterek szerkezetéről és szabályozásáról molekuláris információt gyűjtöttek. Szerzők polimeráz láncreakciót használtak degenerált oligonukleotiddal, melyet noradrenalin és GABA transzporterekből deriváltak. Azonosították a patkány agyában kiválasztott rokon géntermékek egy nagyméretű családját.

Egy NMDA receptor komplex glutamátkötő alegységéhez szükséges cDNS klónozása

Kumar,K.N, Tilakaratne,N.: Cloning of cDNA for the glutamate-binding subunit of an NMDA receptor complex. = Nature, 354.k. 6348.sz. 1991. p.70-73. á:4, h:32. T.MTA

Az L-glutamin és az L-aszparaginsav formák képviselik a legelterjedtebb serkentő transzmitter hálózatot az emlős agyban. Az az izgalmi állapot, melyet az L-glutaminsav hoz létre, igen fontos az idegrendszer korai fejlődési állapotában, a szinaptikus plaszticitásban, a memória kialakításában és az idegi degenerációban. Az L-glutaminsav által aktivált receptorok a terápia intervenció célpontjai a neurodegeneratív betegségekben, agyischaemiában és epilepsziában. Szerzők annak a négy fő fehérje fehérje-komplexének izolálásáról és jellemzéséről számolnak be, melyek az NMDA receptor ioncsatorna egy intakt komplexét képviselik, illetve egy olyan cDNS klónozásáról, mely erre a receptor alegységre vonatkozik.

A szintetikus fehérje könyvtár egy új típusa a ligand-kötő aktivitás azonosításához

Lam,K.S., Salmon,S.E.: A new type of synthetic peptide library for identifying ligand-binding activity. = Nature, 354.k. 6348.sz. 1991. p.82-84. á:2, t:2, h:9. T.MTA

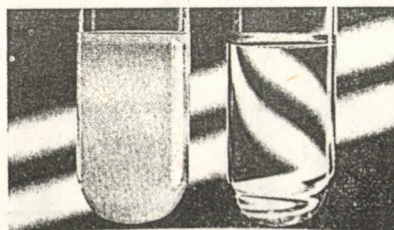
A szerzők célja az volt, hogy kidolgozzanak egy olyan módszert a gyógyszerfejlesztéshez, amellyel azonosítható a kis molekulák kötődése a

nagy affinitású akceptor molekulához és így utánozzák, illetve blokkolják azok kölcsönhatását a természetes ligandummal. Fehérje könyvtárak szintézisének és screeningjének egy alternatív lehetőségét határozták meg, úgy, hogy evvel az egyszerű módszerrel gyors azonosítást és értékelést tettek lehetővé.

Kombinatoriális szintetikus peptidkönyvtárak képzése és használata az alap- és gyógyszerkutatásban

Houghten,R.A., Pinilla,C.: Generation and use of synthetic peptide combinatorial libraries for basic research and drug discovery. = Nature, 354.k. 6348.sz. 1991. p.84-86. á:1, t:3, h:24. T.MTA

Azok a módszerek, melyeket jelenleg használnak a nagyszámú peptidok szintéziséhez és screeningjéhez, igen limitáltak, azon problémából eredően, hogy az egyedül peptidok szükséges számban (milliók) nehezen képezhetők és screenelhetők, illetve a nem módosított szabad fehérjék képzése sem elégséges olyan mennyiségben, amely kölcsönhatásokra képes oldatban. Szerzők a fenti probléma kiküszöbölésére dolgoztak ki módszert szintetikus peptid kombinatoriális könyvtár felhasználásával.



Új változatok a PCR-re

Farr, C.J., Goodfellow, P.N.: New variations on the theme. = *Nature*, 354.k. 6350.sz. 1991. p.184. h:11. T.OMIKK

A DNS-fingerprinting módszer lehetőségeit nagy mértékben kiszélesítheti a Jeffreys A.J. és társai által kidolgozott új módszer, az MVR (minisatellite variant repeat) térképezés.

A módszer alapját az emberi genomban kimutatható hipervariábilis, ismétlődő oligonukleotid-szekvenciák, az ún. minisatellit, változó ismétlődések (MVR) kimutatása adta. A hipervariábilis rész az 1-es kromoszóma 42-43-as régiójában lévő D1S8 lokusz. Ennek a szakasznak a restrikciós térképe az egyénekre jellemző. A DNS térképezését nagy mértékben egyszerűsítette a PCR-rel sokszorosított DNS-próbák létrehozása. Így a kimutatás pontossága, gyorsasága és érzékenysége növelhető.

Jeffreys és társai jelentős előrelépésről adtak hírt az MVR-PCR módszer továbbfejlesztésében. Két MVR-specifikus oligonukleotid primert alkalmaznak a PCR reakcióban, és így állítkusan specifikus próbákat tudnak előállítani.

Az MVR-PCR a teljes genomikus DNS-en alkalmazható megfelelő számítógépes analízissel összekapcsolva. Ráadásul degradált DNS is elemezhető, ami főként a bűnügyi azonosításoknál nagyon gyakori feladat. A hagyományos DNS-fingerprinting-gel szemben nem igényli az egyidejű, azonos gélen történő elemzést.

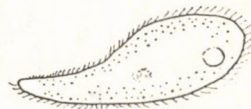
A módszer korlátját jelenti egyelőre, hogy eddig kevés olyan minisatellit szekvenciát azonosítottak, amelyek ilyen célra alkalmasak. Hiszen hipervariábilisnak kell lenniük, és nem lehetnek túl hosszúak.

A DNS-fingerprinting-en túl a módszer lehetővé teszi az emberi hipervariábilis minisatellit klakáltásához vezető rekombináció mechanizmusának a feltárását.

Az YY1 egy iniciátor szekvenciakötő fehérje mely irányítja és aktiválja az in vitro transzkripciót

Seto, E., Shi, Y.: YY1 is an initiator sequence-binding protein that directs and activates transcription in vitro. = *Nature*, 354.k. 6350.sz. 1991. p.241-245. á:3, h:34. T.MTA

Az eukarióta mRNS transzkripció szabályozását azok a DNS szekvencia elemek irányítják, melyek kötőhelyként szolgálnak a szekvencia fajlagos transzkripciós faktorok számára. Ide tartoznak a promotor-proximális elemek, represszorok. A promotor-proximális régió két motíft tartalmaz. Szerzők arról számolnak be, hogy milyen szekvencia szükséges és elégséges a pontos alaptranszkripcióhoz. Részben tisztított YY1 tudja helyreállítani az alapszintű transzkripciót. Azonosítottak YY1-rokon faktorokat, melyek két másik transzkripciós iniciátorhoz kötődnek.



Egy iniciátorkötő transzkripciós iniciációs faktor és a hélix-hurok-hélix USF aktivátor kooperatív kölcsönhatása

Roy, A., Meisterernst, M.: Cooperative interaction of an initiator-binding transcription initiation factor and the helix-loop-helix. = *Nature*, 354.k. 6350.sz. 1991. p.245-248. á:3, t:1, h:24. T.MTA

Azt a transzkripciós iniciációt, melyet az emlős RNS polimeráz irányít, nagyon sok faktor befolyásolja, melyek kölcsönhatást létesítenek minimális promotor elemeken keresztül, illetve a folyamatot szabályozzák azok a gén-specifikus faktorok, melyek kölcsönhatásban vannak a disztális kontroll elemekkel. Szerzők egy új faktort, a TFII-I-t mutatják be, melyek fajlagosan kötődnek az Inr elemekhez, támogatva az alap transzkripciót az adenovírus fő promotorából. A faktor immunológailag rokon a hélix-hurok-hélix USF aktivátorral.

Glükobiológia

The coming of gene of glycobiology. = *Trends in Biotechnology*, 9.k. 7.sz. 1991. p.221-225. á:2, t:2, h:11. T.OMIKK

Génfúzióval előállított multi-enzimrendszerek

Bülow, L.; Mosbach, K.: Multienzyme systems obtained by gene fusion. = *Trends in Biotechnology*, 9.k. 7.sz. 1991. p.226-231. á:4, h:33. T.OMIKK

A plazmidészterek kinetikája

Summers, D.K.: The kinetics of plasmid loss. = *Trends in Biotechnology*, 9.k. 8.sz. 1991. p.273-278. á:7, h:31. T.OMIKK

Génátrendeződések a központi idegrendszerben

Matsuoka, Masao, Nagawa, Fumikiyo stb.: Detection of somatic DNA recombination in the transgenic mouse brain. = *Science*, 254.k. 5028.sz. 1991. p.81-86. á:6, h:31. T.OMIKK

Matsuoka és társai kimutatták, hogy transzgenikus egerek agyában és gerincvelőjében az immunoglobulinok szintézisének megfigyelt génátrendeződésekhez hasonlók történhetnek.

A kísérletek során olyan transzgenikus egereket vizsgáltak, amelyek ocitájában a lacZ gént injektáltak. A gén kifejeződése azonban csak akkor valósulhatott meg, ha a genomban génátrendeződés történt és a promóter a béta-galaktozidáz-gén mellé került. Szöveti metszetekben a béta-galaktozidáz katalizálta színreakcióval követték a génkifejeződést.

A központi idegrendszer számos régiójában észleltek génátrendeződést. Az átrendeződés határozott eloszlást mutatott. Az egyes régiók "ilyen aktivitásának" szerepét vizsgálják a szerzők cikkük végén.



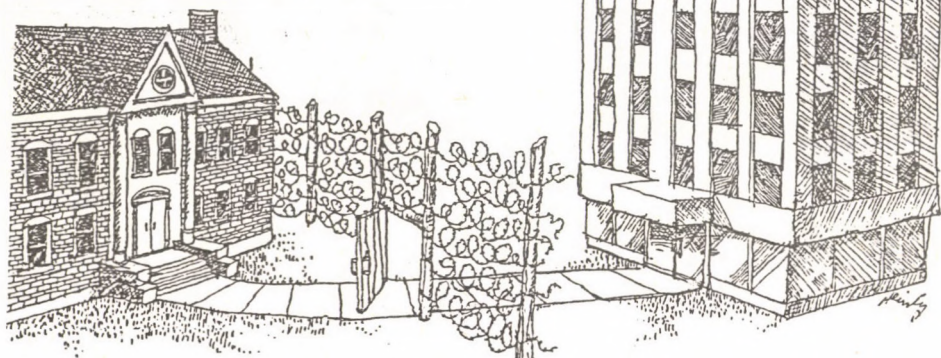
Önreaktív B limfocita felismerő membránkötőantigének perifériás limfoid szöveteiből történő eliminációja

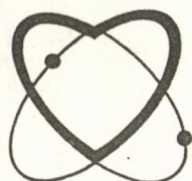
Hartley,S.B.,Crosble,J.:Elimination from peripheral lymphoid tissues of self-reactive B lymphocytes recognizing membrane-bound antigens. = Nature, 353.k. 6346.sz. 1991. p.765-769. á:3, h:37. T.MTA

Régi hipotézis, hogy a saját antigénnel szembeni toleranciát az önreaktív limfociták közvetítik. A B-sejt vonalban a toleráns önreaktív sejtek perzisztálnak egér perifériás limfoid szervekben, ahol lizozim és anti-lizozim immunoglobulinok válnak ki, de hasonló transzgenikus egérben anti-fő-hisztokompatibilitási komplex immunoglobulinok is kiválhatnak. Szerzők azt mutatták ki, hogy az energia és a törlés indukciója a monomer és oligomer oldódó antigénnel szembeni felismeréssel van összefüggésben.

Hibridómasejtek metabolizmusa és ellenanyagkiválasztás nagy sejtsűrűség mellett dialíziskor

Käsehagen,C.; Linz,F. stb.: Metabolism of hybridoma cells and antibody secretion at high cell densities in dialysis tubing. = Enzyme and Microbial Technology, 13.k. 11.sz. 1991. p.869-872. á:6, h:15. T.OMIKK





A cisztikus fibrózis gyógyítási kilátásai

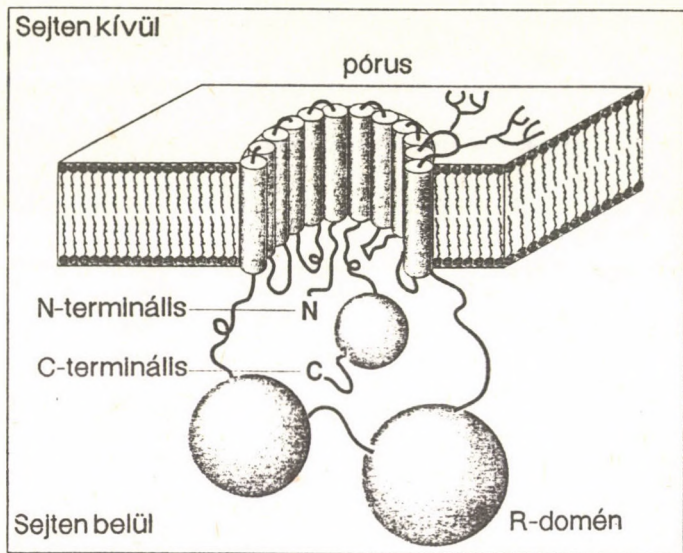
Davies Ken: Cystic fibrosis: the quest for a cure. = New Scientist, 132.k. 1798.sz. 1991. p.30-34. á:4. T.OMIKK

Az egyik leggyakoribb születési rendellenesség a cisztikus fibrózis, amelynek a genetikai hátterét 1989-ben kezdték felfedni. Tsul Lap-Chee, Jordan Jack, Collins Francis és munkatársai a tudományban szokatlan módon sajtókonferencián jelentették be először, hogy sikerült a 7-es kromoszómán lokalizálni azt a genetikai hibát, amely ezt a betegséget okozza. A fehérbőrű lakosság körében igen elterjedt genetikai hibáról van szó. A betegség ugyan csak a homozigótáknál manifesztálódik, így is minden kétezredik újszülött veszélyeztetett - a hibás génnek hordozóinak száma igen tetemes: az emberek 4%-a. Ez Angliában 2 millió, Amerikában 8 millió embert jelent.

Érdekes módon a tüdő megbetegedéséhez vezető hibás gén hiába található meg valamennyi sejtben, csak a kiválasztószervek nyálkahártyasejtjeiben okoz bajokat (pl. hasnyálmirigy, bél, verejtékmirigyek), és főképpen a tüdő-nyálkahártyájában.

A hibás gén megtalálása után a kutatók figyelme a géntermékre, a CFTR (cystic fibrosis transmembrane regulator) fehérjére összpontosult. Rövidesen felfedték, hogy az adott fehérje a sejtmembránon át történő kloridionáramlást szabályozza. De miként? Aminosavsorrendjének feltárásakor kiderült, hogy szerkezete nem a tipikus ioncsatorna fehérjékkel rokon, hanem az úgynevezett ATP-függő transzport fehérjékkel. Ez a tény szinte megkérdőjelezte a feltételezett funkciót. Az Iowa Egyetemen dolgozó Welsh, Michael, és a Genzyme kutatója Smith Alan irányított mutagenézissel vizsgálták a fehérjét. Kimutatták, hogy az 1480 aminosavból álló fehérje két aminosavának kicserélésének következtében a sejtekbe a kloridionok helyett jodidionok transzportálódnak. Azt is megtudták, hogy a fehérje középső, R-doménjének eltávolítása után szabályozhatatlanná válik az érintett kloridion transzportja.

További részletes vizsgálat során kiderült, hogy az R-domén a fehérjék foszforilálását végző kinázokkal lép kölcsönhatásba. A CFTR foszforilálása szabályozza valójában a kloridion transzportot.



1. ábra

A cisztikus fibrózis gén olyan fehérjét termel, amely aktívan szállítja a kis molekulákat a sejtmembránokon át. A kutatók úgy vélik, hogy a fehérje egy kis szegmense, az R-domén molekuláris "csapóajtóként" működik, és interferál a kloridionok szállításával az epiteliális sejtek membránjain keresztül. A kapott ion-kiegyenlítetlenség lehet a felelős a betegség számos tüneteért.

A betegeknél az ionegyensúly felbomlása miatt a nyálkahártyaváladék túl sűrű, viszkózus lesz, ami ideális terep a bakteriális felülfertőzésre.

A betegség gyógyítását jelentősen nehezíti, hogy a betegség hátterében nem mindig ugyanaz a genetikai hiba áll. A betegek 70%-ánál kimutatható egyetlen egy aminosav hiánya - az 508-as helyzetben bekövetkezett fenilalanin deléció -, a maradék 15%-

ánál egyedi, ritka mutációkat észleltek. A betegek egy részénél pedig kimutathatatlan a genetikai elváltozás. Látszólag egészséges CFTR fehérje képződése mellett is fennáll a betegség.

A gyógyításnak két fő útja van. A tünetek semlegesítése, illetőleg a genetikai hiba génterápiás kijavítása.

Az előbbi terén többféle módon próbálkoznak. Az egyik megoldás lehetne, ha a hibásan működő fehérjét más

módon helyettesíteni lehetne. Gardner Phyllis az építéllás sejtek kalciumtranszportáló fehérjéjével próbálja kiváltani a meghibásodott CFTR-t. Boucher, Rick, a Stanford Egyetemen, ATP vagy UTP adásával kívánja fokozni a kloridtranszportot.

A génterápiás kezelés érdekében is komoly erőfeszítések folynak. A múlt évben Welsh és Smith, valamint Collins Francis és Wilson Jim arról adott hírt, hogy cisztikus fibrózisban szenvedő betegek építéllás sejtjébe sikerült bejuttatniuk az egészséges CFTR gént. A génátvitel hatására helyreállt a sejtek kloridiontranszportja. Az igazán kihívás még él: miként lehetne ezt a betegek tüdejében megvalósítani? Marylandben, Crytal Ron is kereste a megoldást. Ő korábban az emfizéma gyógyításán munkálkodott. Lecoq Jean-Pierre strassbourgi kutatóval együttműködve patkányokba adenovírus vektor segítségével sikerrel bevitték az alfa-1-antitripszin gént. Hasonlóval próbálkozott Crytal a CFTR gén esetében is. A bevitt génről a tüdő nyálkahártya-sejtekben CFTR fehérje szintetizálódott. A kísérletek jelenlegi fő bökkenője, hogy nincsen cisztikus fibrózis tüneteket mutató állati rendszer, így a valódi gyógyhatás nem vizsgálható állatkísérletekben.

Az esetleges emberi alkalmazás ezen túl is számos kérdést vet fel. Biztosítható-e az egészséges fehérje kellő szintje? Ha igen, ez a megfelelő célsejtben történik-e? Nem veszélyes-e az adenovírus vektor? Hogyan biztosítható az ideális bejuttatás?

Tartós gyógyítást talán csak a génterápia nyújthat, viszont arra még várniuk kell a betegeknek. Addig is fokozzák a tüneti kezelések felkutatását a kutatók. A Genentech olyan enzimkészítményt szeretne kidolgozni, amelynek DN-áz tartalma segít a tüdőnyálkahártya megfelelő viszkozitásának a fenntartásában, és így elejét veszi a bakteriális fertőzésnek. Hasonló hatása lehet az alfa-1-antitripszin kezelésnek is.

Akármi ként alakul is a gyógyítás jövője, az kétségkívül, hogy órlás előrelépést jelentett a cisztikus fibrózist okozó gén azonosítása 1989-ben, ami a gyógyítást elérhető közelségbe hozta.

A génterápia kulcsszereplői az izomsejtek lesznek?

Hoffman Michelle: Putting new muscle into gene therapy. = Science, 254.k. 5037.sz. 1991. p.1455-1456. á:1, h:2. T.OMIKK

A génterápia egyik legégetőbb kérdése a megfelelő szállítórendszer megtalálása. Talán közelebb kerülünk a megoldáshoz.

Két kutatócsoport számolt be egy idejűleg arról, hogy sikeresen beültették egér mioblasztba az emberi növekedési hormon génjét, majd egerekből visszajuttatva a módosított mioblasztokat jelentős mértékű hormonkiválasztódást tapasztaltak. A két kutatócsoport: Blau Helen a Stanford Egyetemen valamint Leiden Jeffrey és Barr Ellav a Michigan Medical Center (Michigan Orvosi Központ) és munkatársai.

Próbálkozásukkal semmibe vettek egy korábbi dogmát, miszerint az izom-

sejtek képtelenek a kiválasztásra. Ezzel ellentétben azt találták, hogy a kezelt állatok vérében jelentős mennyiségben megjelent az emberi növekedési hormon.

A két kutatócsoport eltérő vektort használt a génbevitelre: Blau Helen és társai retrovírus-, Leiden és Barr pedig plazmidvektort. Mindkét csoport mikroinjekciózással juttatta be az egekbe a módosított mioblasztokat, majd fiziológiailag jelentős mennyiségű növekedési hormont detektáltak a keringő vérben. Szintén egybehangzóan azt észlelték, hogy a keringő vérben lévő hormon megemelkedett szintje tartósan - legalább 3 hónapig - megőrződött.

A kezdeti eredmények nagyon biztatóak.

1. A korábbi "szállítókkal" (fehérvérsejtek, keratinociták, fibroblasztok, májsejtek) összehasonlítva, egyetlen más rendszerben sem sikerült ilyen magas szintű és tartós "idegen" génki-fejeződést kimutatni.

2. A mioblasztok előnye, hogy a meglévő izomszövetbe képesek beépülni és érett sejtekké differenciálódni. Így elméletben nem merülhet fel összeférhetetlenség, továbbá életre szóló kezelést jelenthetnek.

3. Emberi mioblasztokat könnyű nyerni és visszajuttatni a szervezetbe. Sőt, idővel a közvetlen injekciózás is kivitelezhető lehet.

A biztató kísérleti eredményeket övező lelkesedés nem feledtetheti a joggal felmerülő aggályokat:

1. Az említett kísérletekben folytonos mioblaszt sejtvonalakat használtak. Vajon, primer mioblasztokkal is elérhető-e ugyanez? És emberi mioblasztokkal is? Hiszen köztudott, hogy az egér mioblaszt folytonos sejtvonalak elképesztő mennyiségű fehérjét választanak ki, és tumort okoznak.

2. Ami működik az állatokban, nem biztos, hogy működik az emberekben. Az emberi mioblasztok is fuzionálnak-e a differenciálódott izomsejtekkel?

Mindezen kételyek ellenére igen biztatóak az eredmények. A buktatók zöme bizonytalannal megoldható, és akkor a génterápia igen hatékony új eszköze lehet a klinikusok kezében.

A cisztikus fibrózis gyógyítható génterápiával?

Gene therapy promises cure for cystic fibrosis. = New Scientist, 133.k. 1804.sz. 1992. p.9. T.OMIKK

Egyre közelebbnek tűnik az az idő, amikor a cisztikus fibrózisban szenvedő betegek gyógyíthatóak lesznek a génterápia segítségével. A reményt a közelmúltban elvégzett patkánykísérletek biztató eredményei táplálják. Természetesen az emberi gyógyászatban még várni kell a sikeres gyógykezelésre.

A cisztikus fibrózist okozó hibás gént 1989-ben azonosították amerikai és kanadai kutatók. A betegségben érintett gén terméke egy olyan fehérje, amely a sejtmembránon át történő kloridion-vándorlást szabályozza. A tüdő nyálkahártyasejtek különösen érzé-

kenyek a szabályozó fehérje működésére, így a hibás géntermék elsősorban ezeket a sejteket roncsolja, ami végülis a tüdő visszafordíthatatlan károsodásához vezet. A betegek többsége nem éri meg a 30 évet.

A génterápia általános megközelítése a genetikai rendellenességek gyógyításában a következő. Izolálják a szervezetből a beteg sejteket, beépítik az egészséges gént, majd a kezelt sejteket visszajuttatják a szervezetbe. Ebben a betegségben ez az út járhatatlan. A tüdőből nem lehet nyálkahártyasejteket izolálni, továbbá ezek a sejtek in vitro nem osztódnak.

A marylandi kutató, Crystal már a betegségért felelős gén azonosítása előtt kidolgozta a gyógyíthatóság elvi lehetőségét. A tüdő nyálkahártyasejtjeiben szaporodik az enyhe megfázási tüneteket okozó adenovírus. Ennek a vírusnak a genomjába beépíthető a kívánt, beviendő gén. A vírus a megfelelő sejtekbe viszi az idegen gént - ezúttal a cisztikus fibrózist okozó gén "egészséges" változatát -, ahol az megfelelő szabályozás mellett kifejeződik. A patkánykísérletben orrspray formájában adagolták az állatoknak azt a módosított adenovírust, amely hordozta az egészséges gént. A vírusvektor a tüdő nyálkahártyasejt sejtmagjába került, ahol megfelelő szaporodás mellett biztosította az idegen gén kifejeződését, a kloridon áramlását szabályozó fehérje szintézist.

Sajnos, a tüdő nyálkahártyasejtjei igen rövid életűek. Ezért a tartós gyógyhatás érdekében rendszeresen biztosítani kell az egészséges gén utánpótl-

lását. Crystal becslése szerint néhány havonta elegendő lenne a kezelés, a módosított vírus bevitelével.

Természetesen számos részletkérdést tisztázni kell még. A vírusterápia biztonságát, az esetleges túlادagolás következményeit, a szervezet egyéb sejtjeire való hatásokat stb. Crystal és munkatársai bizakodnak. Feltehetően minden kérdésre megtalálják a helyes választ.

Összefogás a transzplantált szervek kilökődésének megakadályozásáért

Immunology Ltd: aiming to overcome rejection in organ transplantation. = Biotechnology Bulletin, 10.k. 10.sz. 1991. p.8. T.OMIKK

Szövetségre lépett az 1989-ben alapított, Cambridge-ben székelő Immunology Ltd és a Baxter Healthcare Corp. azért, hogy mielőbb piacra kerülhessen a veseátültetetteknek használható, a beültetett szerv kilökődését meggátoló gyógyszer.

Ezen túlmenően szélesebb területekre is kiterjed az együttműködésük. Egyrészt a leukociták módosításának felhasználására, másrészt terápiás antigének gyógyászati alkalmazására.

A leukocita-módosítás az alábbi feladatok megoldására terjed ki:

- a szervátültetések utáni kilökődés megakadályozására használható monoklonális ellenanyag alapú szer, az anti-CD45 továbbfejlesztése, -autoimmun betegségekben szerepet játszó

aktivált T-sejt antigének terápia alkalmazása,

- leukocita migrációban szerepet játszó eptéllás és endotéllás sejtek felületi szerkezetének vizsgálata.

A másik területen a következőket tervezik: -egyes agydaganatok kezelésére használható antigénterápia, amely a beteg citotoxikus sejtjeinek aktiválására épül;

- a Herpes Simplex Virus II. típusú fertőzésével összefüggő betegség antigénterápiája.

magát a szervet lehet előzetesen kezelni, és így csökkenteni a kilökődés veszélyét. A gyógyszer valójában két monoklonális ellenanyag keveréke, amelyek inaktíválják a beültetendő szerv azon sejtjeit, amelyekkel szemben a befogadó szervezet ellenanyagokat termelhet.

Immunterápia interleukin-2-vel

Kaplan,G.; Zarvil,A. stb.: Rational Immunotherapy with interleukin 2. = Bio/Technology, 10.k. 2.sz. 1992. p.157-162. á:2, t:2, h:44. T.OMIKK

Az anti-CD45 kezelés előnyei

A szervátültetéseknél jelenleg elsősorban olyan megközelítést alkalmaznak, amelynél az akut kilökődést az immunrendszer általános gyengítésével próbálják meg megelőzni. Itt viszont





Etanol in situ kinyerése fermentációs közegből hidrofób adszorbenssel

Einicke, W.D.; Gläser, B.; stb.: In-situ recovery of ethanol from fermentation broth by hydrophobic adsorbents. = *Acta Biotechnologica*, 11.k. 4.sz. 1991. p.353-358. á:4, t:2, h:14. T.OMIKK

Ellenanyagtermelés biotechnológiai úton *E.coli*-ban

Piückthum, A.: Biotechnological aspects of antibody production in *E.coli*. = *Acta Biotechnologica*, 11.k. 5.sz. 1991. p.449-456. á:3, h:30. T.OMIKK

Etanol és nagy szénatomszámú alkoholok képződése immobilizált *Zymomonas mobilis*-szal folytonos tenyésztésben

Oaxaca, V.A.: Formation of ethanol and higher alcohols by immobilized *Zymomonas mobilis* in continuous culture. = *Acta Biotechnologica*, 11.k. 6.sz. 1991. p.523-532. t:4, h:36. T.OMIKK

Nagy teljesítményű fermentálás acidofil baktériumot felhasználó metanollal

Pöhland, H.D.: High performance fermentation process using methanol utilizing acidophilic bacteria. = *Acta Biotechnologica*, 11.k. 6.sz. 1991. p.533-539. á:4, t:4, h:8. T.OMIKK

Csőves bioreaktor rekombináns *Escherichia coli*-ból kiválasztott fúziós fehérje folytonos kinyerésére

Hammarberg, B.; stb.: Utilizing the tubular bioreactor for continuous recovery of secreted fusion protein from recombinant *Escherichia coli*. = *Bioprocess Engineering*, 7.k. 4.sz. 1991. p.145-149. á:5, t:1, h:13. T.OMIKK

***Saccharomyces cerevisiae* fed-batch tenyésztetek kalorimetriás szabályozása**

Carsson, C.; stb.: Calorimetric control of fed-batch cultures of *Saccharomyces cerevisiae*. = *Bioprocess Engineering*, 7.k. 4.sz. 1991. p.151-155. á:3, t:1, h:17. T.OMIKK



FPC-ICAD: Intelligens CAD a fermentációs folyamat szabályozására

Dahhou, B.: FPC-ICAD: an Intelligent CAD for fermentation process control. = *Bioprocess Engineering*, 7.k. 4.sz. 1991. p.157-163. á:4, h:9. T.OMIKK

Reaktortervezés glükóz enzimatisz izomerizálására fruktózzá

Illanes, A.: Reactor design for the enzymatic isomerization of glucose to fructose. = *Bioprocess Engineering*, 7.k. 5.sz. 1992. p.199-204. á:4, t:2, h:23. T.OMIKK

Diagnosztikai enzimek tisztítása: optimalizált eljárás laktát dehidrogenáz és piruvát kináz szimultán szeparálására és tisztítására nyúlizomból

Tsamadls, G.: Downstream processing of diagnostic enzymes: optimized protocols for the simultaneous separation and purification of lactate dehydrogenase and pyruvate kinase from rabbit muscle. = *Bioprocess Engineering*, 7.k. 5.sz. 1992. p.213-218. á:1, t:1, h:23. T.OMIKK

Hibridómasejtek fed-batch tenyésztésének optimalizálása dinamikus programozással egy és több alapanyag esetén

Tremblay, M.: Optimization of fed-batch culture of hybridoma cells using dynamic programming: single and multi fed cases. = *Bioprocess Engineering*, 7.k. 5.sz. 1992. p.229-234. á:6, t:2, h:10. T.OMIKK

Hibridómasejtek elektrofúzióval

Production of hibridomas by electrofusion. = *Blotech News*, 10.k. 12.sz. 1991. p.6. T.OMIKK

A Blo-Rad Gene Pulser új alkalmazásáról adtak hírt. A készülék alkalmas egy új módszerrel, az avidin közvetítette elektrofúzióval történő hibridómasejt-előállításra.

Az antigén-specifikus monoklonális limfocitasejteket biotinilált antigénnel inkubálják, majd streptavidin-híd segítségével fizikai közelségbe hozzák biotinilált mielómasejtekkel. A sejtek fúzióját elektromos impulzusokkal segítik elő. Ezzel a módszerrel a specifikus antigénnel szemben képződő ellenanyagtermelő sejteket a korábbinál nagyobb hányadban lehet előállítani.

Vírus eltávolítása fehérjeoldatból egyedi szerkezetű membrán segítségével

Dileo, A.J.; Allegranza, A.E.stb.: High resolution removal of virus from protein solutions using a membrane of unique structure. = *Bio/Technology*, 10.k. 2.sz. 1992. p.182-188. á:6, h:27. T.OMIKK

Mikrocélzás: Nagy hatékonyságú géntranszfer a mikrolövedék gyorsításának újszerű megoldásával

SSautter, C.; Waldner, H.; stb.: Micro targeting: high efficiency gene transfer using a novel approach for the acceleration of micro-projectiles. = *Bio/Technology*, 11.k. 9.sz. 1991. p.1080-1085. á:7, t:2, h:25. T.OMIKK

Moduláris integrált fluidágyas bioreaktor technológia

Reiter, M.; Blüml, G.; stb.: Modular Integrated fluidized bed bioreactor technology. = *Bio/Technology*, 9.k. 11.sz. 1991. p.1100-1102. á:4, t:1, h:24. T.OMIKK

Életképes sejtek immobilizálása

Dervaus, G.A.; Webb, C.: On the merits of viable-cell immobilization. = *Biotechnology Advances*, 9.k. 4.sz. 1991. p.559-612. á:5, t:4, h:450. T.OMIKK

Növényi sejt szuszpenziók hozamának és fenntartási együtthatójának értékelése

Schnapp, S.R.; Curtis, W.R. stb.: Estimation of growth yield and maintenance coefficient of plant cell suspensions. = *Biotechnology and Bioengineering*, 38.k. 10.sz. 1991. p.1131-1136. á:5, h:31. T.OMIKK

Új membrános bioreaktor gázátadási jellemzői

Beeton, S.; Millward, H.R. stb.: Gas transfer characteristics of a novel membrane bioreactor. = *Biotechnology and Bioengineering*, 38.k. 10.sz. 1991. p.1233-1238. á:7, h:30. T.OMIKK



Üvegesszálás kapilláris reaktor L-alanin előállítására koenzimregenerálással: modellezés

Fujii T.; Miyawaki, O. stb.: Modelling of hollow-fiber capillary reactor for the production of L-alanine with coenzyme regeneration. = *Biotechnology and Bioengineering*, 38.k. 10.sz. 1991. p.1166-1172. á:10, t:1, h:13. T.OMIKK

Folyamatos baktériumtenyészetek metabolikus szabályozása 1.r.

Baloo, S.; Ramerishna, D.: Metabolic regulation in bacterial continuous cultures: I. = *Biotechnology and Bioengineering*, 38.k. 11.sz. 1991. p.1337-1352. á:8, t:1, h:31. T.OMIKK

Escherichia coli K-12 sejtek képződésének entalpiája

Battley, E.H.: On the enthalpy of formation of Escherichia coli K-12 cells. = *Biotechnology and Bioengineering*, 39.k. 1.sz. 1992. p.5-12. t:4, h:39. T.OMIKK

Szálas mikroorganizmusok morfológiai fejlődésének mérése és szimulálása

Yang, H.; Reichl, U. stb.: Measurement and simulation of the morphological development of filamentous microorganisms. = *Biotechnology and Bioengineering*, 39.k. 1.sz. 1992. p.44-48. á:7, h:7. T.OMIKK

Xantántermelés buborékoszlopban és air-lift reaktorban

Sutt, L.S.; Schumpe, A. stb.: Xanthan production in bubble column and air-lift reactors. = *Biotechnology and Bioengineering*, 39.k. 1.sz. 1992. p.85-94. á:9, t:1, h:27. T.OMIKK

Enzimes reakció vizsgálata folyadékemulziós membrántechnikával

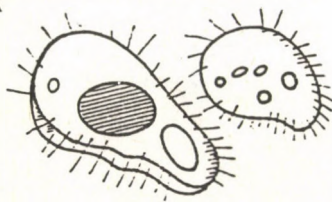
Ha, H.Y.; Hong, S.A.: A study on enzymatic reaction using a liquid emulsion membrane technique. = *Biotechnology and Bioengineering*, 39.k. 2.sz. 1992. p.125-131. á:10, t:4, h:14. T.OMIKK

Dipeptidok kétlépcsős enzimes szintézise

Scwarz, A.; Wandrey, C. stb.: A two-step enzymatic synthesis of dipeptides. = *Biotechnology and Bioengineering*, 39.k. 2.sz. 1992. p.132-140. á:9, t:4, h:13. T.OMIKK

Subtilisin E stabilizálása szerves oldószerekben helyírányított mutagenézissel

Martinez, P.; Van Dam, M.E.; stb.: Stabilization of Subtilisin E in organic solvents by site-directed mutagenesis. = *Biotechnology and Bioengineering*, 39.k. 2.sz. 1991. p.141-147. á:3, t:1, h:35. T.OMIKK



Magas szintű kifejeződés Escherichia coliban és kétértékű humanizált ellenanyag fragmens előállítása

Carter, P.; Kelley, R.F. stb.: High level Escherichia coli expression and production of a bivalent humanized antibody fragment. = *Biotechnology and Bioengineering*, 10k. 2.sz. 1992. p.163-167. á:3, t:1, h:45. T.OMIKK

Penicillin G hidrolízise immobilizált penicillin aciláz és elektrodialízis kombinációjával

Ishimura, F.; Suga, U.I.: Hydrolysis of penicillin G by combination of immobilized penicillin acylase and electro dialysis. = *Biotechnology and Bioengineering*, 39.k. 2.sz. 1992. p.171-175. á:6, h:14. T.OMIKK

Alginát mint immobilizációs anyag: diffúziós tulajdonságok

Martinsen, A.; Storro, I.; stb.: Alginate as immobilization material: III. Diffusional properties. = *Biotechnology and Bioengineering*, 39.k. 2.sz. 1992. p.186-194. á:9, t:3, h:22. T.OMIKK

Rekombináns humán interleukin-2 termelése fluidágyas bioreaktorban

Kratse, R.B.; Wagner, R.: Evaluation of production of recombinant human interleukin-2 in fluidized bed bioreactor. = *Biotechnology and Bioengineering*, 39.k. 2.sz. 1991. p.233-242. á:6, t:3, h:40. T.OMIKK

Alkalikus proteázok kinyerése membrán szűréssel

Santos, J.A.: Recovery of alkaline proteases by membrane filtration. = *Bioprocess Engineering*, 7.k. 5.sz. 1992. p.205-211. á:6, t:6, h:14. T.OMIKK

Organellák közötti monoklonális ellenanyagszállítás és kiválasztás modellje egér hibridómasejtek esetén

Bibila, T.A.; Flickinger, M.C.: A model of interorganellar monoclonal antibody transport and secretion in mouse hybridoma cells. = *Biotechnology and Bioengineering*, 38.k. 7.sz. 1991. p.767-780. á:10, t:1, h:47. T.OMIKK

Szomatikus embriogenezis beavatkozás nélküli értéklése

Harrell, R.C.; Blenier, M. stb.: Noninvasive evaluation of somatic embryogenesis. = *Biotechnology and Bioengineering*, 39.k. 4.sz. 1992. p.378-383. á:4, t:1, h:8. T.OMIKK

Az ammónia és laktát hatása a hibridóma növekedésre, metabolizmusra és ellenanyagtermelésre

Ozturu, S.S.; Riley, M.R.stb.: Effect of ammonia and lactate on hybridoma growth, metabolism and antibody production. = *Biotechnology and Bioengineering*, 39.k. 4.sz. 1992. p.418-431. á:6, t:6, h:26. T.OMIKK

A populációdinamika vizsgálata rekombináns baktériumra folytonos tenyésztésben: adatszűrés és kiegyenlítés

Nancib, N.; Mosratti, R. stb.: Study of population dynamic for a recombinant bacterium during continuous cultures: application of data filtering and smoothing. = *Biotechnology and Bioengineering*, 39.k. 4.sz. 1992. p.398-407. á:5, t:1, h:20. T.OMIKK

Sejtimmobilizáció bórsavval térhálósított poli (vinil-alkohol)-on

Wu, K.Y.; Wisecarver, K.D.: Cell immobilization using PUA crosslinker with boric acid. = *Biotechnology and Bioengineering*, 39.k. 4.sz. 1992. p.447-449. á:1, t:1, h:9. T.OMIKK

Új bioreaktorok Agrobacterium rhizogenes által transzformált gyökerek termesztésére

Whitney, P.J.: Novel bioreactors for the growth of roots transformed by *Agrobacterium rhizogenes*. = *Enzyme and Microbial Technology*, 14.k. 1.sz. 1992. p.13-17. á:5, t:1, h:7. T.OMIKK

Monoklonális ellenanyagok termelésének szabályozása és előrejelzése üregesszálás bioreaktorban

Handa-Corrigan, A.; Nikolay, S.; stb.: Controlling and producing monoclonal antibody production in hollow-fiber bioreactors. = *Enzyme and Microbial Technology*, 14.k. 1.sz. 1992. p.58-63. á:6, t:1, h:10. T.OMIKK

Szűk keresztmetszet a folytonos biológiai eljárások alkalmazása során

Heiner, J.F.; Scheltinga, V. stb.: Fundamental bottlenecks in the application of continuous bioprocesses. = Journal of Biotechnology, 22.k. 1,2.sz. 1992. p.3-20. á:8, t:8, h:21. T.OMIKK

Állati sejtenyésztés - folytonos vagy szakaszos eljárással?

Griffiths, J.B.: Animal cell culture process - batch or continuous? = Journal of Biotechnology, 22.k. 1,2.sz. 1992. p.21-30. á:2, t:7, h:21. T.OMIKK

Folytonos hibridómaszuszpenziós tenyésztések sejtvisszatartással és anélkül

Schmid, G.; Wilke, C.R.: Continuous hybridoma suspension cultures with and without cell retention: kinetics of growth. = Journal of Biotechnology, 22.k. 1,2.sz. 1992. p.31-40. á:2, t:2, h:24. T.OMIKK

A fajlagos növekedési sebesség hatása a termelékenységre folyamatos nyitott és részleges sejtvisszatartással állati sejtenyésztő bioreaktorban

Robinson, D.K.; Widmer, J. stb.: Effect of specific growth rates on productivity in continuous open and partial cell retention animal cell bioreactors. = Journal of Biotechnology, 22.k. 1,2.sz. 1992. p.41-50. á:4, t:3, h:11. T.OMIKK

A folytonos emlős sejtenyésztés biztonsági és gazdasági kérdései

Wemer, R.G.; Walz, F. stb.: Safety and economic aspects of continuous mammalian cell culture. = Journal of Biotechnology, 22.k. 1,2.sz. 1992. p.51-68. á:9, h:29. T.OMIKK

Élesztők kemosztátos tenyésztése, a folytonos tenyésztés alapjai, egyszerű nem-strukturált matematikai modellek

Stockar, U.V.; Auberson, L.C.M.: Chemostat cultures of yeasts, continuous culture fundamentals and simple unstructured mathematical models. = Journal of Biotechnology, 22.k. 1,2.sz. 1992. p.69-88. á:14, t:3, h:17. T.OMIKK

Adaptív on-line szabályozás: anaerob lebontás bioreaktorban

Ryhiner, G.; Dunn, I.J.: Adaptive on-line optimal control of bioreactors: application to anaerobic degradation. = Journal of Biotechnology, 22.k. 1,2.sz. 1992. p.89-106. á:13, t:2, h:12. T.OMIKK

Immobilizációs sejtes bioreaktor tervezése szakaszos recirkulációs üzemmódban

Lakhwala, F.; Sofer, S.: Design considerations for an immobilized cell bioreactor operating in a batch recirculation mode. = Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 52.k. 4.sz. 1991. p.499-509. á:9, h:10. T.OMIKK

A szubsztrátvesztésé köve- tése fagyasztva szárításkor Escherichia coli segítségével

Adams, G.D.: The loss of substrate from a vial during freeze-drying using Escherichia coli as a trace organism. = Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 52.k. 4.sz. 1991. p.511-518. á:1, t:3, h:11. T.OMIKK

Sejtek szorpciós immobilizá- lásának fizikai - kémiai alapjai

Kozljak, E.I.; Jakimov, M.M.; stb.: Fiziko - khimicheskie osnovy immobilizacii kletok metodom sorpcii. = Prikladnaja Biokhimiija i Mikrobiologija, 27.k. 6.sz. 1991. p.788-803. á:2, t:2, h:111. T.OMIKK

Makroporozus aeroszilogéltre immobilizált, B-glükozidáz alapú hatékony biokatalizáto- rok

Guszakov, A.V.; Sinicyan, A.P.; stb.: Éffektivnye biokatalizatoru na osnove B-glukozidazy, immobilizovannoj na makroporistom aerosiloge. = Prikladnaja Biokhimiija i Mikrobiologija, 27.k. 6.sz. 1991. p.804-808. á:2, t:1, h:13. T.OMIKK

Proteinázok kovalens immo- bilizálása epoxicsoportot tar- talmazó polimer mátrixon

Cherkasova, T.A.; Vonskijj, V.E. stb.: Kovalentnaja immobilizacija proteinaz na polimernykh matricakh sz epoxigruppami. = Prikladnaja Biokhimiija i Mikrobiologija, 27.k. 6.sz. 1991. p.809-813. á:7, t:3, h:9. T.OMIKK

Pseudomonas putida-ból származó L-lizin-2-monok- szigenaz kinetikai tulajdonsá- gai és használata bioszenzor- ban, L-lizin meghatározására

Karjakin, A.A.; Strakhova, A.K.; stb.: Kineticheskie svojstva L-lizin-2-monokszigenazy iz Pseudomonas putida i ee ispol'zovanie v biosensore na L-lizin. = Prikladnaja Biokhimiija i Mikrobiologija, 27.k. 6.sz. 1991. p.825-832. á:5, h:14. T.OMIKK

Sztirol bontása Pseudomonas sp.Y2 tenyésztettel

Utkin, I.B.; Jakimov, M.M.; stb.: Degradacija stirola kul'turoj Pseudomonas sp. Y2. = Prikladnaja Biokhimiija i Mikrobiologija, 27.k. 6.sz. p.833-837. á:4, h:11. T.OMIKK

Poliovírus sejtmentes, de no- vo szintézise

Akhteruzzaman, M.; Paul, V.A.; stb.: Cell-free, de novo synthesis of poliovirus. = Science, 254.k. 5038.sz. 1991. p.1647-1651. á:4, t:1, h:36. T.OMIKK

Az ipar új kedvencei, a lipázok

Björkling, F., Godtfredsen S.E., és mtsai: The future impact of industrial lipases. = Trends in Biotechnology, 9.k. 1991. p.360-363. á:4, h:25. T.OMIKK

A biotechnológia új területe van kibontakozóban. Az élő szervezetek által termelt különféle lipázok egyre szélesebb körű felhasználására kerül sor napjainkban.

A lipázokat régebb óta alkalmaz-
zák a zsírok és olajok módosítására,
ipari transzteszterifikációra, hiszen igen
specifikusak. Az első kereskedelmi
készítmény a Lypozyme™, a Mucor
michel gombából izolált lipáz volt. To-
vábbi jelentős előrelépést jelentett a
detergens lipázok ipari felhasználása.
A rekombináns-DNS módszerek fejlő-
désével lehetőség nyílt a nagy haté-
konyságú fermentációval előállított li-
pázokra. Így termeltetik az Aspergillus
orizae-ben az alfa-amilázgén promó-
tere és a glukozilázgén terminátor
felhasználásával a triglicerid lipázgént.

A lipázok alkalmazási területei

Lipázok a papírgyártásban

A cellulázok és ligninázok mellett
egyre jelentősebb szerepet töltenek
be a lipázok. Segítségükkel gyorsab-
ban, jobb minőségű papírt lehet előállít-
tani.

Lipázok az élelmiszeriparban

Több, az élelmiszeriparban megfor-
duló olajos termék minőségét lehet ja-
vítani lipázok segítségével. Ezek közül
kiemelkedik a szójaolaj módosítása,
amely így könnyebben metabolizáló-
dik. Az eljárás lényege, hogy a hosz-

szabb zsírsavláncok hidrolízisével
trigliceridekben dús oldalláncokat ala-
kítanak ki.

Lipázok a szerves kémiában

A vegyipar számára igen vonzó le-
hetőség, hogy enyhe körülmények kö-
zött, lipázok felhasználásával igen spe-
cifikus vegyületeket képesek szintetizá-
lni.

Az egyik alkalmazási terület olyan
vegyületek szintézise, amelyek ha-
gyományos módszerekkel igen körü-
lményesen állíthatók csak elő. Ezek kö-
zé tartoznak a glükozidészterek, ame-
lyek szintézisét könnyedén kivitelezni
lehet a Candida antartica B lipázzal.

Másik fontos terület a peroxikarbo-
xilsavak előállítása. Nemrégiben is-
merték fel, hogy a lipázok képesek ka-
talizálni a karbonsavak és a hidrogén-
peroxid közötti reakciót, amelynek
eredményeképpen peroxikarbonsa-
vak képződnek.

Nyilvánvaló, hogy a lipázok nem el-
sősorban a hagyományos ipari enzi-
mek felhasználási területén haszno-
sak. Új lehetőségeket jelentenek, eddig
feltáratlan területeken vár rájuk nagy jö-
vő.





ÉLELMISZERIPAR

Borosüvegbe zárt biotechnológia

Biotech In a bottle. = European Blotechnology Newsletter,
120.sz. 1991., október., p.4 OMIKK

Új borászati biotechnológiai társaságot alakított a Novo Nordisk, SARCO és a Lallemand. A társaság célja, hogy meggyorsítsa a biotechnológiai eredmények, ismeretek gyors alkalmazását a borászatban. Végső céljuk, hogy kizárólag biotechnológiai módszereket használva, természetes bort állítsanak elő. Szélesíteni kívánják a klinidulási anyagok körét, valamint a termékek íz- és aromaskáláját.

A gyártási eljárásban elsősorban az enzimeket, élesztőket és baktériumokat kívánják a korábbiaknál jóval szélesebb körben hasznosítani. Az enzimeket például bevethetik az aromaésszínanyagok extrakciójánál, a levek szűrésénél. A béta-galaktózidáz enzim képes az előanyagból a szabad aroma hasítására, így a muskotály és hasonló borok bukéja javítható. A derítéseknel jelenleg bentonitot és Kieselguhrt alkalmaznak, ezekből sok káros anyag felszabadul. A helyettes koordinátor, Garrigues, véleménye szerint ezt 5-10 éven belül proteázokkal fogják végez-

ni. Az élesztő törzsek az egyes borfajták jellegzetességelt, egyéni vonásait bővíthetik. Az élesztő törzsek genetikai módosításával kiterjeszhető a választék.

A transzformált élesztő törzsekkel azt is el lehet majd érni, hogy erjedés közben, in situ, proteázokat válasszanak ki.

A terület legsikamlósabb vetülete, a megfelelő szabályozók hiánya. Jelenleg engedélyezett a manipulált élesztő törzsek alkalmazása, de nem a génszintetileg transzformáltaké. Az enzimeket illetően mindössze két, kizárólag *Aspergillus niger* törzsből izolált enzim alkalmazható. (Pektinázok és béta-glukonázok). Garrigues nem vár jelentős előrelépést a szabályozásban legalább 10 évig az enzimek felhasználhatósága terén. Reménykedik viszont, hogy mielőbb engedélyezik a génszintetileg módosított élesztő törzseket.

A társaság elnevezés valójában félrevezető. Elvben szívesen látják egyéb cégek, társulatok csatlakozását, de csak abban az esetben, ha azok csatlakozása nem sérti az alapítók pénzügyi érdekeit. Így tulajdonképpen helyesebb lenne a szövetkezet elnevezés.

KÖRNYEZETVÉDELEM

havonta kétszer megjelenő
információs kiadvány

Több mint

3000 külföldi folyóiratból

válogatott legjelentősebb szakcikkek részletes ismertetése
közvetlenül felhasználható formában:
számonként mintegy 15 cikk,
összesen 60 oldal terjedelemben.

Az évi 24 szám előfizetési ára: 9000,-Ft

Megrendelhető:

ORSZÁGOS MŰSZAKI INFORMÁCIÓS KÖZPONT ÉS KÖNYVTÁR
értékesítési osztályán,
Budapest VIII., Múzeum u. 17. Levélcím: 1428 Budapest, Pf. 12.



NÖVÉNYTERMESZTÉS

A mezőgazdasági biotechnológia frontvonalai

Altman A.: Frontiers of biotechnology in agriculture. = Trends in Biotechnology, 9.k. 1991. p.373-374. T.OMIKK

Míg a közvélemény szemében a biotechnológia legfontosabb vívmányának a gyógyászatban betölthető szerepetűnik, valójában az egész emberiséget tekintve a mezőgazdaságban kamatoztatható előnyök hozhatják a valódi áttörést. Becslések szerint 2050-re 10 milliárdra nő az emberiség. A jelenlegi termelés mellett félelmetes méretű éhínség és alultápláltság vár a földlakosságára. A döbbenetes klátások ültették egymás mellé 15 országból érkezett 150 kutatót, hogy megvitassák a biotechnológia alkalmazását a mezőgazdaságban. (A szimpóziumot 1991 augusztusában tartották Izraelben). A megvitatott kérdések középpontjában a mezőgazdasági termelés hatékonyságának fokozása, a növényi kártevők elleni védekezés, a háziállatok tenyésztésében alkalmazható és a tenger nyújtotta lehetőségek kiaknázásában hasznosítható biotechnológiai módszerek állottak.

A növénytermesztés hatékonyságának fokozása

A konferencia egyik szesszójában a növénynevelésben elért és elérhető eredményeket vitatták meg a kutatók.

Schell, Jeff, a kölni Max Planck Intézet professzora azokról az eredményekről számolt be, amelyekkel az *Agrobacterium tumefaciens* T-DNS szakszának felhasználásával fokozható a növények növekedése. A transzgenikus növényekben az aktív citokinin növekedési hormonok szintézisében szerepet játszó enzimek szintje fokozható. Az ilyen gének működésének manipulálása lehetővé teszi a mezőgazdaságilag fontos növények növekedésének tudatos alakítását.

Peacock, James az ausztráliai CSIRO Mezőgazdasági Intézet professzora szerint a jövő egyik legnagyobb lehetősége a szintetikus promóterekben rejlik, amelyek szabályozhatják a transzgenikus növényekben az egyes gének transzkripcióját. A felvetést kísérleti adatokkal támasztotta alá, amelyek során stresszhatásokra válaszolva indult meg bizonyos gének transzkripciója; pl. kukorica gyökérben vagy más növényben anaerob körülmé-

nyek között. A génkifejeződés szabályozásának másik útja a dimetilálással történő szabályozás (ez történik a valószínűleg hideg kezeléssel történő virágzás-szabályozásnál). Fluhr, Robert, (Welzmann Intézet, Rehovot) a PR (pathogenesis related) fehérjének a virágzásban és a kártevők elleni védekezésben játszott szerepüket elemezte. Rámutatott, hogy ezek a fehérjék specifikusan glükozilált fehérjék, amelyek a citrusfélék sejtkultúráiban kiválasztódnak, és fontos szerepet tölthetnek be a szomatikus embriogenezisben.

A növények egyedfejlődése során kitért szerepet betöltő másik fehérjét, egy prolinegazdag fehérjét tanulmányoztak Salts, Yahi'am, laboratóriumában. Ez a gén igen aktív a fiatal paradicsom termésben.

A szomatikus hibridizáció változatlanul egyik legfontosabb eszköz a növények genotípusának javítása terén. A Kievdben dolgozó Gleba, Jurij, olyan nukleáris szomatikus hibridekről adott hírt, amelyek részint szimmetrikusak, részint aszimmetrikusak (normális szomatikus sejteknek és gamma-sugárzással inaktívált sejteknek a hibridje). Az aszimmetrikus hibrideknél az eredeti genom jelentős része inaktíválódik, így egyetlen hibridizációs lépésben kivitelezhető a szelektív génátvitel.

Növényi kártevők ellenőrzése

A növényi kártevők elleni védekezés új molekuláris biológiai lehetőségeit tekintette át Beachy, Robert (La Jolla, Calif), aki az egyik legígéretesebb módszernek a "köpeny (coat)-fe-

hérjék" segítségével elérhető rezisztenciát tartja. Ez a megközelítés eddig több mint 10 különböző víruscsoportnál bizonyult hatékonynak, különösen gazdaságilag jelentős trópusi növényeknél. Hírt adott arról az új tudományos eredményről is, hogy az epidermális sejtekben megvalósított dohánymozalk-vírus köpeny-fehérje szintézis fokozta a növény ellenállóképességét a vírussal szemben. Loebenstein, Gad, Izraeli biológus a jövő egyik megoldását vázolta. Kísérleti adatokkal bizonyította, hogy a dohánymozalk-vírus lokalizációja összhangban van egy gátlóanyag (IVR - inhibitor of virus replication) egyidejű felhalmozódásával. A kutatócsoport megkezdte a megfelelő gén izolálását és jellemzését.

A fitopatogén gombák elleni küzdelem két új módját vázolta Broglio, Richard (Du Pont de Nemours & Co., Wilmington). Kiemelte a kitináz gének szerepét a patogén gombák elleni védelemben. A génnek két promotere van; az egyik konstitutív, a másik pedig etilénnel reagáló, indukálódó promóter. Babnövényben módosították a kitináz gén promotérét, és így a természetes, indukálható promotert egy erős, konstitutív promoterré alakították. Ez a promóter olyan génszabályozást tett lehetővé, ami biztosította a transzgenikus dohány nagyfokú rezisztenciáját a *Rhizoctonia solani* ellen.

Végül, a Monsanto Társaság kutatója, Fischhoff David elemezte a gyapot és a burgonya Lepidoptera kártevő elleni védekezés lehetőségeit. Hatékony védekezést jelenthet a *Bacillus thuringiensis* toxinja, amely viszont a növé-

nyekben elterjedt kodonhasználattól eltérő lehetőségekkel él, továbbá több A-T gazdag régiót tartalmaz. A Bt toxin-gén módosításával (mintegy 3%-nyl nukleotid-cserével) elérhető a növényekhez jobban hasonlító génkifejeződés. Az ily módon módosított génnel fokozott rezisztencia valósítható meg a transzgenikus növényekben.

Transzgenikus házlállatok

A harmadik szekcióban a transzgenikus házlállatoknak mint biofermentoroknak a lehetséges hasznosításáról esett szó. Clark, Anthony, edinburghi kutató a transzgenikus birkákról és egerekről szól, amelyek két emberi, gyógyászati fehérjét termelnek; a vér-alvadásgátló IX.faktort és az alfa-1-antitripsint. A tejmirigyekben végbemennő emberi fehérjék termeléséhez a marha tejfehérje, a béta-laktoglobulin promóterszekvenciát használták fel. Egy másik alternatív stratégiát most dolgoznak ki. Ebben más, expressziót fokozó szekvenciákat kívánnak felhasználni.

A "gén-farmerkodás" másik példáját vázolta Barash, Itamar, Izraelből. Ők transzgenikus egerekben emberi szérumalbumint szintetizáltak természetes béta-laktoglobulin promóter felhasználásával. Azt is kimutatták, hogy az idegen gén expresszióját nagy mértékben befolyásolta a gén különböző helyére beépített intron. A Münchenben dolgozó Brem, G. mikroinjekciózással hozott létre transzgenikus állatokat - egereket, nyulakat és sertéseket. Ezekben a transzgenikus állatokban jelentős mennyiségben sikerült

termeltetniük emberi proklimozint és monoklonális egér ellenanyagokat. A tehéntej termelésének fokozására sajátos módszert alkalmaztak Izraelben Gertler, Arlel, és kutatótársai. Tehénemlő epitélis sejtkultúrában in vitro módszerekkel kimutatták, hogy a különböző emlő növekedési faktorok által szabályozott folyamatok részint cAMP függők. Előrevetítették a feltételezett szabályozó faktorok klónozásának a lehetőségét.

Tengeri biotechnológia

Egyre újabb biotechnológiai megoldások körvonalazódnak a tenger által nyújtott lehetőségek jobb hasznosítása érdekében mind étkezési, mind környezetvédelmi célokra. A halakon elvégezhető génátviteli módszereket tekintette át Chourrout, Daniel, francia kutató. A transzgenikus halaknál észlelt két fő problémára hívta fel a figyelmet: az idegen DNS stabilitására és a mozalécizmus fellépésére. Miyashi Shigetoh japán kutató a *Chlorococcum littorale* tengeri alga ipari felhasználásáról szól. Az ipari szennyeződésként keletkező szén-dioxid felesleg könnyen hatástalanítható lehet ezen algák segítségével. Olyan törzseket izoláltak, amelyek 20% szén-dioxid jelenlétében is intenzíven növekednek és fotoszintetizálnak.

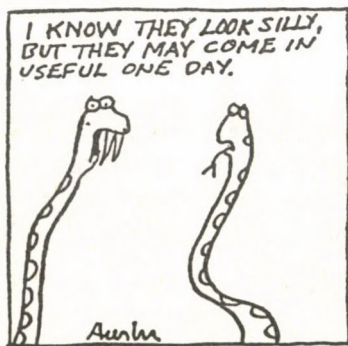
Tengeri makroalgatenyészetek növekedését vizsgálta Kloareg Bernard francia kutató. Phaephyta és Rhodophyta protoplasztok nagy mértékben történő tenyésztési eljárását dolgozták ki, továbbá *Porphyra umbilicalis* vegetatív tenyésztését és kallusz-

Indukcióját. Az izraeli Neori Amir sikerrel hasznosította az *Ulva lactuca*-t halastavak intenzív szennyvíztisztítására, biofiltrációjára.

A jövő mezőgazdasága

A szimpózium végeztével kerekasztal mellett vitatták meg a jövő mezőgazdaságának átfogó képét a résztvevők. Oxender, Dale (USA) a sejtreceptorok jelentőségére és a gyógyászati termékek biotechnológiai előállítására helyezte a fő hangsúlyt. Schell, Jeff, (Köln) két gyorsan fejlődő területre hívta fel a figyelmet: az *Arabidopsis* genom feltérképezésére és szekvenálására valamint a "Gene-tagging" hasznosíthatóságára. Sasson, Albert, sürgette, hogy a biotechnológiai eredmények mielőbb hasznosulhassanak a fejlődő, harmadik világban, ahol a közeljövőben különösen nagy szerep vár a mezőgazdaságra.

Végezetül Askril Amram kiemelte, hogy a gazdasági szempontból fontos növényi tulajdonságok többsége poligénikus, így csak igen kifinomult biotechnológiai módszerekkel lehet azokat módosítani. Éppen ezért kiemelte a jövő szakemberképzésének javítását, a fokozott tudományos együttműködés fontosságát.



Az oroszlánszáj kalcion szintáz promoter egyedfejlődés és ultraibolya fény által történő szabályozása

Fritze, K., Stalger, D., stb.: Developmental and UV light regulation of the snapdragon chalcone synthase promoter. = *The Plant Cell*, 3.k. 1991. p.893-905 á.7 t.1 hiv.43 T.SZ

Az 1.1 kilobázis hosszú oroszlánszáj kalcion szintáz /CHS/ promotert a béta-glükuronidáz riportter génhez kapcsolták és kifejeződését vizsgálták dohány növényben. Az eredmények azt mutatják, hogy a CHS promoter szerv- és szövetspecifikus módon szabályozott. A legmagasabb mértékű kifejeződést az éretlen magvakban figyelték meg. A szerzők deléciós analízissel próbálták meghatározni a transzgenikus növényekben a gyökérben, a szárban, a levelekben, a magvakban és a szilomlevelekben a kifejeződéshez szükséges promoter szekvenencia méretét.

Az EP2 lipid szállító fehérjét kódoló sárgarépa gén sejt-specifikus kifejeződése

Sterk, P., Booij, H., stb.: Cell-specific expression of the carrot EP2 lipid transfer protein gene. = *The Plant Cell*, 3.k. 1991. p.907-921. á:6, h:68. T.SZ

Az EP2 10 kilodalton molsúlyú lipid-szállító fehérjét kódoló cDNS klónt izolálták. Az EP2 fehérje elsősorban a sejt-falakban és a szövettenyészetben tartott sejtek tápfolyadékában fordul elő. A Northern analízis világosan igazolta, hogy az EP2 gén főként az embriógén

sejttenyészetekben fejeződik ki. In situ hibridizációval kimutatták, hogy az EP2 gén a szomatikus és zsigóitkus embriók protoderma sejtjeiben ill. a levél és virág primordium sejtjei epidermisz sejtjeiben fejeződik ki. Valószínűnek látszik, hogy a növényi lipid szállító fehérjék a kutin monomereket a kutin szintézis helyére szállítják.

Egy kukorica lipid szállítást elősegítő fehérjét kódoló gén tér- és időbeli kifejeződése

Sossountzov, L., Rulz-Avila, L., stb.: Spatial and temporal expression of a maize lipid transfer protein gene. = *The Plant Cell*, 3.k. 1991. p.923-933. á:6, h:29. T.SZ

A szerzők a lipid szállítást végző gén (LTP) kifejeződését és a fehérje elhelyezkedését vizsgálták kukoricában. A magvak érése folyamán az LTP mRNS az embrióban és az endospermiumban halmozódik fel. A csírázás után az LTP mRNS mennyisége a sziklevelekben növekszik, míg a gyökérben alacsony szinten marad. Az LTP gén főleg a külső sejtrétegekben és a levélerek mentén fejeződik ki. Az LTP fehérje főként a koleoptil külső epidermiszében és a levélerek mentén található. Az eredmények azt bizonyítják, hogy az LTP génkifejeződés nemcsak szerv- de sejtspecifikus.



Egy bakteriális lizin dekarboxiláz gén kifejeződése és a fehérje kloroplasztokba történő szállítása transzgenikus dohány növényben

Herminghaus, S., Schreier, P.H., stb.: Expression of a bacterial lysine decarboxylase gene and transport of the protein into chloroplasts of transgenic tobacco. = *Plant Molecular Biology*, 1991 k.17 p.475-486 á.6 t.3 h.46. T.OMIKK

A Hafnia alvei bakteriális lizin dekarboxiláz /ldc/ génjét az Agrobacterium tumefaciens TI-plazmid Tr promotorének szabályozása alá helyezték vagy a burgonya rbcS promotoréhez kapcsolták. Mindkét ldc gént dohány növénybe vitték be Agrobacterium tumefaciens transzformációval. Csak az rbcS promotor szabályozása alá helyezett növényekről íródik át mRNS és mutatható ki LDC aktivitás. Ezekben a növényekben az LDC fúziós fehérje a tranzit peptid segítségével a kloroplasztokba is eljutott. A bakteriális fehérjét szintetizáló növényekben a kádaverin szint 0,3-1,0%-ra nőtt.

A vastartalmú raktározó fehérjét, a ferritint kódoló egyik bab cDNS szerkezete

Spence, M.J., Henzl, M.T., stb.: The structure of a Phaseolus vulgaris cDNA encoding the iron storage protein ferritin. = *Plant Molecular Biology*, 1991 k.17 p.499-504, á.2 h.28. T.OMIKKK

A vastartalmú vas raktározó ferritin fehérjét kódoló cDNS-t izoláltak Phaseolus vulgaris cDNS génbankból. A ferritin fehérjét tisztították fiatal levelekből és szár merisztéma szövetekből, majd

egerekbe injekciózva antiszérumot készítették ellene. A polI/A/ RNS-t magvából kivonták és lambda cDNS génbankot készítettek, amelyet az egér antiferritin szérummal vizsgáltak át. Az egyik 1,2 kilobázis hosszú immunológilag reaktív klónt izolálták és szekvenciáját meghatározták. A szekvencia alapján megállapított aminosav sorrend jól egyezik az ismert ferritin szekvenciákkal.

A sebzés hatása az etilén bioszintézisre és az eltávolított spenótlevelek öregedésére

Philosoph-Hadas,S., Meir,S., stb.: Effect of wounding on ethylene biosynthesis and senescence of detached spinach leaves. = *Physiologia Plantarum*, 1991. k.83 p.241-246 á.6 h.25. T.OMIKK

Az öregedés és etilén bioszintézis paramétereit vizsgálták eltávolított spenótlevelekben és kivágott levélkorongokban. Az öregedést elősegíti az 1-aminociklopropán-1-karbonsav /ACC/ adagolása és gátolja az aminotoxivinilglicin /AVG/ kezelés. Az etilén fokozza a levelek öregedését és ez az etilén mennyiségétől és a sebzés mértékétől függ. A sebzés hatására az 1-malonilamino-ciklopropán-1-karbonsav /MACC/, mennyisége növekedett, majd az öregedés későbbi szakaszában csökkent. Valószínűnek látszik, hogy az öregedést elsősorban a sebzés segíti elő, és az etilén csak szabályozza a folyamatot.



A nukleáz fehérjék sejten belüli elhelyezkedése az árpa aleuron szövetben

Holstein,S.E.H., Kobert,B.,stb.: Subcellular localization of nuclease in barley aleurone. = *Physiologia Plantarum*, 1991 k.83p.255-265 á.7 h.47. T.OMIKK

Az egyik endonukleáz fehérje/nukleáz I/ sejten belüli elhelyezkedését vizsgálták az árpa aleuron szövetében különböző módszerekkel. A sejtstruktúrákat az aleuron szövetekből és a protoplastokból is izolálták, míg immunofixálást csak a protoplastokkal végeztek. A nukleáz elsősorban az endoplazmatikus retikulumban és a Golgi szerv membránjában halmozódott fel. A két sejtstruktúra vékony metszetekben közvetett immuno-arany módszerrel is jelölődött. A nukleáz fehérjék a kialakuló vakuolumokban is felhalmozódnak, és így más növényekhez hasonlóan az enzim szintén vakuoláris elhelyezkedésű.

Az egyik növényi sejtben található lektin gén 5'-végi flanking régiójában található mitokondriális intron szekvenciája

Knoop,V. és Brennicke,A.: A mitochondrial intron sequence in the 5'-flanking region of a plant nuclear lectin gene. = *Current Genetics*, 20.k. 1991. p.423-425. á:2, h:19. T.SZ

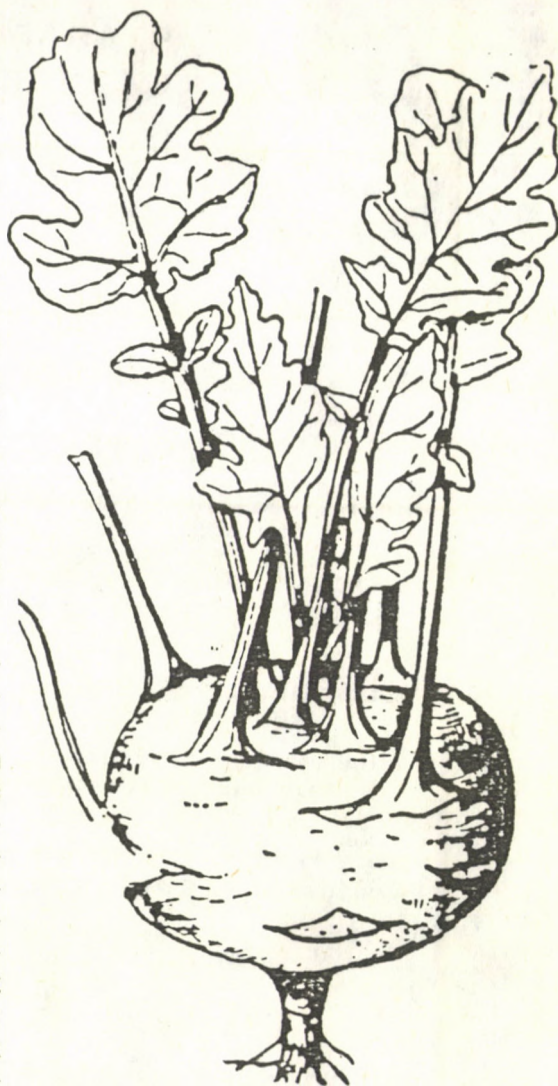
A növényi mitokondriumokban található NADH-dehidrogenáz alegység gén (nad5) a és b intronjai között található intron szintén megtalálható az egyik sejtben lévő *Dolichos biflo-*

rus növényfaj lektin génjében. A két újabban leírt növényi gén között az a különbség, hogy az egyikben megtalálható ez a 116 bázispár hosszú DNS szekvencia. A DB58 szár és levél lektinben nincs meg ez a szekvencia, ami a mag lektinben előfordul. A szár és levél III. mag lektin gének között egyébként szekvenciaszinten legalább 90% a hasonlóság.

A szövettenyészetben végbemenő örökletes metilációs mintázat változás hatására egy inaktív Ac elem újra aktívulódik

Brettell, R.L.S. és Dennis, E.S.: Reactivation of a silent Ac following tissue culture is associated with heritable alterations in its methylation pattern. = *Molecular and General Genetics*, 229.k. 1991. p.365-372. á:4, t:3, h:36. T.SZ

Az Ac elem inaktív változatát hordozó egyik mutánsból szövettenyésztet hoztak létre és a regenerált növényekben megfigyelték az Ac elem nagy mértékű aktiválódását. Az Ac elem aktiválódása együtt jár a transzpozon 5' végén található citozinok metilációjának csökkentésével. Az Ac aktivitás vizsgálata és az Ac elemek metiláltsága a regenerált növények utódaiban a megváltozott genotípus két szexuális generáción keresztül adódik át. Az eredmények arra utalnak, hogy a megváltozott metilációs mintázat a csírvonalon keresztül öröklődik.



ONLINE SZABADALOMKERESÉS AZ OMIKK-BAN

Felhívjuk tisztelt ügyfeleink szíves figyelmét az alábbi lehetőségekre az online szabadalomkeresés körében:

TÉMA SZERINTI KERESÉS

a dokumentumban előforduló jellemző kulcsszavak,
szakkifejezések és a Nemzetközi Szabadalmi Osztályozás jelzetei szerint
bármilyen témakörben
előzetes (nem hivatalos) újdonságvizsgálatra,
marketing vizsgálatokhoz,
fejlesztési stratégia kidolgozásához,
licencvásárlás előkészítésére stb.

SZABADALMAS SZERINTI KERESÉS

FELTALÁLÓK SZERINTI KERESÉS

SZABADALOMCSALÁD-KERESÉS

Ekvivalens szabadalmak kikeresése 52 országra.

JOGÁLLÁS-KERESÉS

a legfontosabb országokra.

SZABADALMI IDÉZETTSÉG KIKERESÉSE

USA- és Európa-szabadalmakra.

MŰANYAGOK és más **VEGYÜLETEK** szabadalmi információinak feltárása
speciális, erre a célra kifejlesztett kódrendszer alkalmazásával.



Importon alapuló szolgáltatásunkért Ön forintban fizet!

Felhasználóinknak 1991-ben átlagosan 40% kedvezményt adunk,
ha a keresést a **WORLD PATENTS INDEX** adatbázisban végezzük.



OMK
SZÁMÍTÓGÉPES IRODALOMKUTATÁS
Budapest, Múzeum u. 17. lételelet 57.
Levélcím: 1428 Budapest, Pf. 12
Telefon: 138-4963
138-2300/156, 119, 153
Fax: 118-0109
Telex: 22 4944 omikk h



Szakértőink: Roboz Péter, Válas György, Pjeczka Etelka



ÁLLATTENYÉSZTÉS

Transzgénikus gyógyszer-gyárak

Glover, James F.: Pharmaceutical production in transgenic livestock. = The Genetic Engineer & Biotechnologist, 11.k. 5.sz. 1991. p.18-20. á:1, t:2, h:20. T.OMIKK

A háziállatok nemesítése a jégkorszak óta folyik. A klasszikus módszerek kezdenek elérkezni végső határukhoz. Ugyanakkor a molekuláris biológia fejlődése számtalan új lehetőséget tárt fel a háziállatok tulajdonságainak javítása terén. A géntranszfer módszereivel módosítani lehet az állatok genetikai sajátságait és új "termékek" termelésére lehet őket készíteni. Ezúttal a gyógyászati termékek előállításának lehetőségeit tekintti át a szerző.

Transzgénikus állatok létrehozása

A transzgénikus állatok létrehozása több lépést igénylő, komplex folyamat.

A következő alapvető lépésekből áll:

A. a kívántgénizolálása és klónozása,

B. fúziós gén kialakítása, ahol a kifejeződés lehetőség szerint szövetspecifikus és időben szabályozható legyen,

C. a kívánt DNS-szakasz bejuttatása megtermékenyített embrióba, majd az embrió beültetése átlagos nevelőanyába,

D. a hosszú távú termelés érdekében a megfelelő transzgénikus állatok szelekciója és tenyésztése.

Génizolálás és módosítás

Ma már klasszikusnak tekinthetők azok a molekuláris biológiai módszerek, amelyekkel különböző géneket izolálni, klónozni lehet. A sikeres kiméra-gén kialakításánál a legkritikusabb lépés a megfelelő, szövetspecifikus promóter régió megtalálása, beépítése a génbe. Vagyis azoknak a szabályozó régióknak a megjelölése, amelyek az idegen gén kifejeződését biztosítják a megfelelő helyen és a megfelelő időben.

Szövetspecifikus génkifejeződés

Napjaink egyik legközvetlenebb promótere a metallothionin promóter,

amely a vérben történő kiválasztódást biztosítja. Ennek a promóternek a segítségével már több komoly eredményt tudtak elérni: pl. a növekedési hormon fokozott szintjét a vérkeringésben. Ennek a rendszernek az az egyik hátránya, hogy a nagy mennyiségben képződő "Idegen" anyagot az állat maga is hasznosítja, felhasználja.

Ezért kerestek más olyan promótereket, amelyek külső kiválasztódásra kerülő géntermékek szintézisét szabályozzák. Ezek közé tartoznak a bélben, emlőkben vagy az epehólyagban kiválasztódó gének promóterei. Mindezek közül a legtöbb eredmény az emlőmirigyekben végbemenő kiválasztódáshoz fűződik.

A tejmirigyben történő kiválasztódáshoz sikeresen használták az alfa-kazein és a marha béta-laktoglobulin gének promótereit. Először egér kísérletekben bizonyították a rendszer használhatóságát, de már újabb eredményekről is hírt adtak. Birkákban a béta-laktoglobulin promóterrel sikerült nagy mennyiségben termeltetni és a tejben kiválasztatni két gént, az emberi IX. véralvadást gátló faktort és az anti-tripszint. Mindezeknek a megvalósításában a Pharmaceutical Proteins Ltd. kutatói jártak az élen.

A nukleinsav bejuttatása az embrióba

A valóban sikeresnek tekinthető transzgenikus háziállatokat mindmáig embriók mikroinjekciójával sikerült létrehozni. A beviendő gén többszáz példányát embriók pronukleuszába injektálták.

A módszer legnagyobb hátránya, hogy a DNS fizikai tulajdonságai (viszkozitás) miatt az így bejuttatható DNS nagysága limitált. Maximum 40-50 kb-nyi DNS-gén alkalmas a mikroinjekciózásra. Néhány fontos, gyógyászati fehérje - pl. a VIII. anti-hemofília faktor meghaladja ezt a méretet. A nehézség áthidalására kidolgozták az ún. minigén módszert, ahol az óriási méretű genomikus DNS-szekvencia helyett az adott gén jóval kisebb, cDNS-másolatát juttatják be megfelelő szabályozó szekvenciák társaságában.

A mikroinjekción kívül más módszerekkel is próbálkoznak a kutatók. Így a spermiumok által közvetített génátvitellel, vagy a liposzómákkal történő génátvitellel, illetőleg a retrovírusok alkalmazásával.

A transzgenikus állatok jellemzése és tenyésztése

A mikroinjekciót követően számos módszert dolgoztak ki az embrió beültetésére és az utódok elemzésére. A transzgenikus utódok száma nagyon sok tényezőtől függ: a bejuttatott idegen DNS méretétől, tisztaságától, az embriótenyésztés körülményeitől stb. Egereknél a transzgenikus, életképes utódok aránya 10-30%, a másik legjobban ismert rendszerben, a szarvasmarhánál pedig 5-10%.

A gyakorlati hasznosítás tekintetében a legfontosabb szempont, hogy a kívánt gyógyászati anyag a megfelelő szövetben, megfelelő mennyiségben és könnyen kinyerhető alakban legyen jelen. A Pharmaceutical Proteins Ltd., bizonyos tejfehérjék esetében 99%-

nál nagyobb tisztaságú végterméket tudott előállítani. Az eddig létrehozott transzgenikus állatok megfelelő továbbtenyésztésének ma még számos buktatója van. A beültetett gének stabil öröklődésének további jellemzőjét fel kell deríteni. A gyors szaporodású ege-
reknél már több generációra kiterjedő adatokat tudnak feldolgozni a kutatók, míg a hosszabb szaporodási ciklusú transzgenikus birkáknál még csak két generáció öröklődési vonásait tudják elemezni.

A jövő

A gyógyászati célokra használatos plazmafehérjék előállítása transzgenikus háziállatokkal ma már realitás, de a részletek kidolgozása még hosszú időt igényelhet.

Az állati sejt kultúrákban és baktérium-
tenyészetekben véghezvihető "gyógyszertermelés" továbbra is a kutatók érdeklődésének, erőfeszítésének a középpontjában van.

A baktériumok által termeltetett emlősfehérjék esetében a legjelentősebb gondot az jelenti, hogy a megfelelő poszttranszlációs módosítások nem mehetnek végbe. Ugyanakkor mindmáig így módon lehet a legolcsóbban, legnagyobb mennyiségben előállítani egyes emberi vagy állati gyógyterméket.

A jövőben a transzgenikus emlős állatok komoly szerepet tölthetnek be a vakcinatermelésben.

További lehetőségeket jelenthetnek az új módszerek az állati eredetű élelmiszerek minőségének javítása te-

rén. A különböző anyagcsere-betegségekben szenvedők (diabétesz, allergia, cisztikus fibrózis stb.) részére kedvező összetételű termékek kialakítása várható.

Mindezek alapján remélhetjük, hogy a XXI. század farmerrel nemcsak hústenyésztők, hanem "gyógyszer-gyárosok" is lesznek.

Humán alfa-1-antitripszin magas szintű kifejeződése transzgenikus juh tejében

Wright, G.; Carver, A. stb.: High level expression of active human alpha-1-antitrypsin in the milk of transgenic sheep. = *Bio/Technology*, 9.k. 9.sz. 1991. p.830-834. á:3, t:3, h:24. T.OMIKK

Humán szöveti típusú plazminogén-aktivátor variáns transzgenikus termelése kecsketejben: transzgenikus kecske létrehozása és a kifejeződés elemzése

Ebert, K.; Selgrath, J. stb.: Transgenic production of a variant of human tissue-type plasminogen activator in goat milk: generation of transgenic goats and analysis of expression. = *Bio/Technology*, 9.k. 9.sz. 1991. p.835-838. á:4, t:1, h:19. T.OMIKK



Humán szöveti típusú plazminogén aktivátor transzgenikus kifejeződése kecsketejben: a rekombináns enzim tisztítása és jellemzése

Denman, J.; Hayes, M.stb.: Transgenic expression of a variant of human tissue type plasminogen activator in goat milk: purification and characterization of the recombinant enzyme. = *Bio/Technology*, 9.k. 9.sz. 1991. p.839-843. á:3, t:2, h:25. T.OMIKK

Transzgenikus tehén létrehozása in vitro embriótenyésztéssel

Krimpenfort, P.; Rademakers, A. stb.: Generation of transgenic dairy cattle using "in vitro" embryo production. = *Bio/Technology*, 9.k. 9.sz. 1991. p.844-847. á:1, t:1, h:32. T.OMIKK

Aktív szarvasmarha somatotropin kiválasztása E.coli-ban

Klein, B.; Hill, S.; stb.: Secretion of active bovine somatotropin in *Escherichia coli*. = *Bio/Technology*, 9.k. 9.sz. 1991. p.869-872. á:4, h:29. T.OMIKK

Transzgenikus atlanti-óceáni lazac növekedésének elősegítése "minden halra jó" kimérra növekedési hormon gén segítségével

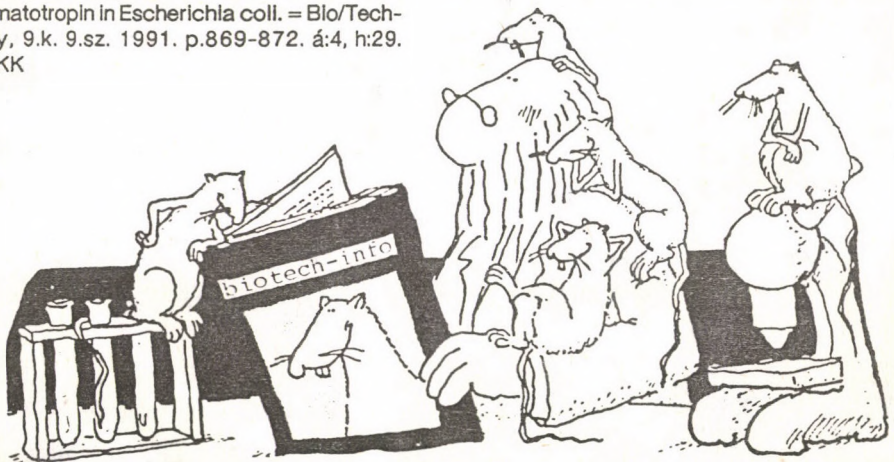
Shao, J.D.; Gong, Z.; stb.: Growth enhancement in transgenic atlantic salmon by the use of an "all fish" chimeric growth hormone gene construct. = *Bio/Technology*, 10.k. 2.sz. 1992. p.176-181. á:4, t:1, h:26. T.OMIKK

Beültetés előtti embriófejlődés BALB/C ByJ egérben

Pakrasi, P.: Pre-implantation embryo development in BALB/C ByJ mouse. = *Indian Journal of Experimental Biology*, 29.k. 12.sz. 1991. p.1091-1094. t:3, h:11. T.OMIKK

Sikeres, nem-sebészeti embriókinyerés kecskéből

Agrawa L, K.P.; Goel, A.K. stb.: Successful non-surgical embryo recovery from a goat. = *Indian Journal of Experimental Biology*, 29.k. 12.sz. 1991. p.1144. h:6. T.OMIKK



A FOLIA BIOTECHNOLOGICA sorozatban megjelent füzetek

1984

1. National Biotechnology Program, 1985–1990.
2. Национальная программа по биотехнологии, 1985–1990.

1985

3. A magyar biotechnológusok névjegyzéke *(dr. Kállai László)*
4. Restrikciós endonukleázok és felhasználásuk *(dr. Venetianer Pál)*
5. A fermentációs folyamatok anyag- és hőmérlege *(Sevella Béla)*
6. Az áramlási citometria alapjai *(Trón Lajos)*
7. Az áramlási citometria alkalmazásai *(Trón Lajos)*
8. Transzpozíciós mutagenézis *(Bánfalvi Zsófia–Kondorosi Ádám)*
9. A fermentációk szabályozása, anyagcsere-szabályozás *(Pólya Kálmán)*

1986

10. A fizikai térkép készítése számítógéppel *(Polner Gábor)*
11. A monoklonális ellenanyagok *(Rajnavölgyi Éva–Gergely János)*
12. Embriódarabolás *(Kovács András)*
13. Biológiai anyagok szétválasztása folyadékkromatográfias módszerekkel *(Haskó Ferenc)*
14. Biológiai anyagok szétválasztása polimer membránokkal *(Haskó Ferenc)*

1987

15. Partenogenezis *(Nagy András)*
16. A növekedési hormon gyakorlati felhasználásának lehetőségei az állattenyésztésben *(Kutas Ferenc)*
17. Génsebészet magasabb rendű növényekben *(Heszky László)*
18. Állatállományok fertőzésmentesítésének lehetősége embrióátültetés révén *(Seregi Lajos–Varga János–Bereczky Elemér)*
19. Az új biotechnológia hasznosítása a gazdasági emlősállatok tenyésztésében *(Dohy János)*

1988

20. A fermentációs technológia fejlődési irányai
(*Nyeste László–Kirchknopf László–Pécs Miklós–Ballagi P. András*)
- 21–22. Sörgyártás és új-biotechnológia (*Tóth Mihály–Maráz Anna*)
23. A fermentációs folyamatok mérés technikája
(*Pécs Miklós–Nyeste László–Szigeti László*)
24. Bendő- és bélflóra és a géntechnika (*Fekete Sándor*)
25. Sejtszaporítás mikrohordozón
(*Masek Istvánné–Szegetes Edit–Szalontai Andrea*)
26. Génebézés ABC (*Sain Béla*)
27. Információellátás a biotechnológiában (*Csorba József–Szilágyi Zsolt*)
28. Alternatív módszerek: in vitro eljárások állatkísérletek helyettesítésére
(*Madarász Emília–Kiss János*)

1989

29. Embriómélyhűtés (*Cseh Sándor*)
30. A magyar biotechnológusok névjegyzéke, 2. átdolg. kiad. (dr. *Kállai László*)
31. rDNS törzsek plazmidstabilitása (*Ballagi-Pordány András–Illeni T.–Sevella Béla–Rajkai György–Nyeste László*)
32. Baktériumok genetikai módosítása szteroidgyógyszerek előállítására céljából
(*Jekkel Antalné*)
33. Kanszűzők hízalálása és a kanszag
(*Ender, K.–Lieberenz, M.–Siegl, O.–Steinberg, M.*)
34. Bioreaktor elrendezések a szennyvíztisztításban
(*Jobbágy Andrea–Nyeste László*)
35. Az AIDS molekuláris biológiája (*Fehér Ferenc*)
36. A biotechnológia és a tej – A hagyomány és a jövő között (dr. *Helmuth Foissy*)
37. A mikrobacejtek feltárása (*Pécs Miklós–Nyeste László*)

1990

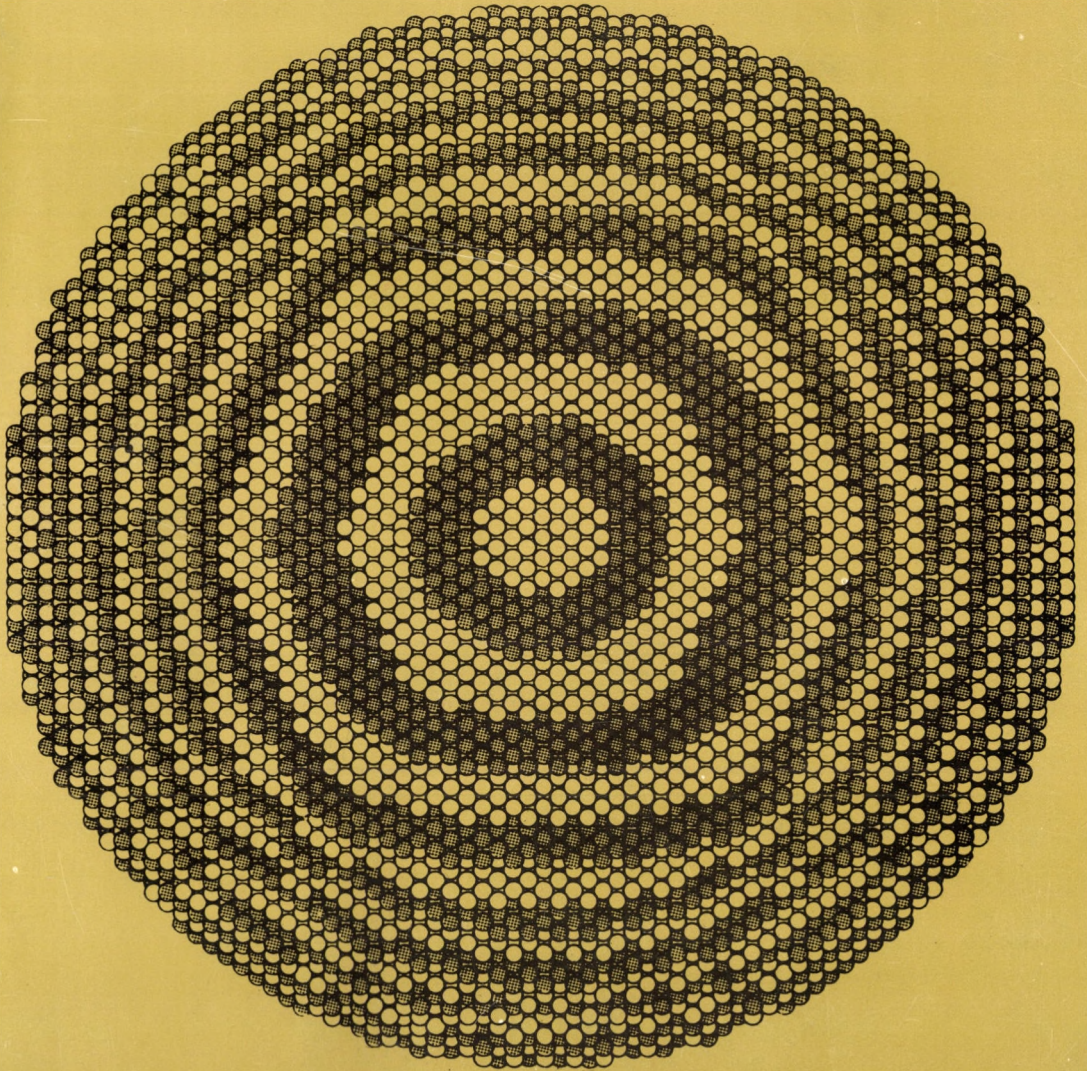
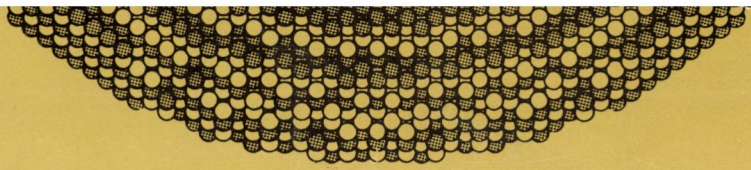
38. A vegetatív mikroszaporítás elmélete (*Heszky László*)
39. A növényi mikroszaporítás gyakorlata (*Mészáros Annamária*)
40. Embrióátültetés juhon (*Cseh Sándor*)
- 41–42. Embrióátültetés szarvasmarhán (*König, I.–Rommel, P.*)
- 43–44. Szintetikus membránok és ipari alkalmazástechnológiájuk
(*Hideg Miklós–Zsirai István*)

1990

45. Orvosi biotechnológia – Molekuláris immunológia (*Balogh Péter–Bebők Zsuzsa–Berki Tímea–Németh Péter–Szekeres György*)
46. A monoklonális ellenanyagok kifejlesztésének, termelésének elve, módszere és felhasználási lehetőségei (*dr. Rajnavölgyi Éva*)

1991

47. Az orvosi pióca hatóanyagainak előállítás biotechnológiával (*Bagdy Dániel*)
48. Az Európa Tanács irányelvei a genetikailag módosított mikroorganizmusok ellenőrzött felhasználásáról és környezetbe juttatásáról (*Szarka Ernő*)



56325

56325

300

2000-06-09



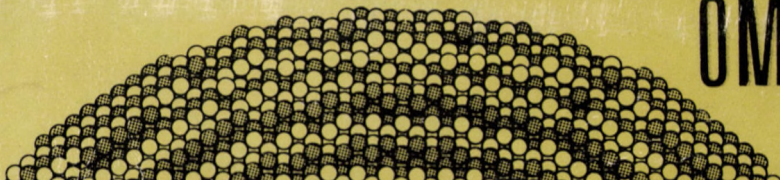
biotech-info



IX. évf. 2-3. sz. 1992.

ISSN 0237-0115

OMIKK



BIOTECH-INFO

Készül az **MTA Könyvtára** és a **Szegedi Biológiai Központ**
munkatársainak közreműködésével

Szakszerkesztő:
FAZEKASNÉ HORVÁTH ZSUZSA

Technikai szerkesztők:
HARMANN TIBOR
HORVÁTH ENIKŐ
BAUMGARTNER ZOLTÁN
SALI ÁGNES

Kiadja az
Országos Műszaki Információs Központ és Könyvtár
Bp. VIII. Múzeum u. 17.
Postacím: Bp. pf. 12. 1428

A szerkesztőség telefonszáma: **1-382-915**

A kiadásért felelős: Jánszky Lajos
Készült az OMIKK nyomdájában
1011 Bp. Gyorskocsi u. 5-7.
Felelős vezető: Tóth Károly



TARTALOM

ÚJ BIOTECHNOLÓGIAI TERMÉKEK	3	Rovarirtás bakulovírusokkal
	9	A biotechnológia szerepe a gyógyszeripari kutatásokban

GAZDASÁGI ÉS JOGI KÉRDÉSEK	15	Hírek a nagyvilágból
	23	Törvény- biztonság- információ

KUTATÁS ÉS TECHNIKA	25	Géntechnika
	55	Bioengineering
	59	Bioelektronika
	67	Orvostudomány

GYAKORLATI ALKALMAZÁS	75	Vegyipar
	89	Gyógyszeripar
	91	Növénytermesztés

Tisztelt Olvasóink!

Az OMFB-támogatás megszűnése és az előfizetők korlátozott köre miatt változtatásra kényszerülünk. A biotechnológiai információ feltárása és magyar nyelvű közreadásának folytatása érdekében úgy döntöttünk, hogy kétrokon témájú lapunkat, a Biotech-Info-t és a Műszaki Információ sorozatban megjelenő Biotechnológia című, tömörítvényeket tartalmazó kiadványunkat az 1992. 4. áprilisi számtól kezdve összevontan, kb. 50%-kal növelt terjedelemben jelentetjük meg, változatlan áron. Ha Ön mindkét lapra előfizetett, akkor az előfizetői díj visszajáró részét átutaljuk.

A Biotech-Info 1992. 2-3. száma tehát az utolsó füzet a Biotech-Info sorozatnak. Közben már bizonyára kézhez kapták a "folytatást", a Biotechnológia 4. számát.

Úgy gondoljuk, hogy ezzel a döntésünkkel a T. Olvasó (megrendelő) érdekeit nem sértjük (sőt!) és továbbra is hasznos információkkal szolgálunk.

A szerkesztők

Rovarirtás bakulovírusokkal

Fuxa, J.R.: Insect control with baculoviruses. = Biotechnology Advances, 9k. 3.sz. 1991. p.425-438.

A bakulovírusok rovarölő hatásával kapcsolatos első adatok az 1890-es évekre nyulnak vissza, vagyis a vírusok felfedezését megelőzően már 40 évvel ezelőtt ismerték ezt a rovarbetegséget. A bakulovírusokon folytatott kutatások jelentőségét növelte, hogy gyakran okoznak rovarbetegségeket és az elpusztult rovarból kinyert fehérjekristályokban a virionok már fénymikroszkóppal is megfigyelhetők. Az utóbbi években a génebézészet gyors fejlődése korlátlan lehetőségeket biztosított a bakulovírusok rovarölő hatásának gyakorlati alkalmazására.

A jellemző tulajdonságok és a hatásmechanizmus

Jellemző tulajdonságok

A bakulovírusok pálcika alakúak és kovalensen zárt kettősszálú DNS-t hordoznak. A nukleokapszidot egy külső lipoprotein burok veszi körül. A Baculoviridae családnak három alcsoportja ismert: az alcsoportba a sejtmagi polihedrózis vírusok (NPV), a B alcsoportba a granulózis vírusok (GV), míg a C alcsoportba az *Oryctes* bakulovírusok tartoznak. Az NPV burkában egy vagy több nukleokapszid található, míg a B és C alcsoport esetében a burok csak egyedi virionokat vesz körül. Az NPV és GV virionjai a parakristályos fehérje matrixban találhatóak. Az NPV kristályokban több virion helyezkedik el, ezeket polihedrális inkluziók testeknek (PIB) hívják. A GV kristályokban egyedi virionok találhatóak, ezeket granuláknak nevezik. A PIB és GV kristályok a virionokat védik az egyik gazdából a másikba való átterülés során, de a napfényvel szemben nem adnak védelmet.

A vírusbetegség jellemzői

A fertőzés legegyszerűbb módja, hogy a rovarok a táplálékkal veszik fel a vírust, de a vertikális átvitel és a parazitoidok injekciójása is lehetséges. A középbélben a PIB vagy a granulák gyorsan feloldódnak és a virionok kiszabadulnak. A középbélben sok virion elpusztul, de néhány megmarad és behatol a bélsejtekbe. A lepkénél az NPV és GV a fertőzött bélsejtekben replikálódnak, majd ezidáig ismeretlen módon a testnedvbe kerül. A legyekben és hártyásszárnyúakban a virionok a fertőzött középbél sejtek magvaiban maradnak. A lepkékben a fertőzés gyorsan terjed és a vírusok más szövetekbe és sejtekbe is eljutnak. A fertőzés általában csak a sejtmagot érinti, de a GV virionok a sejtmag membránjának felszakadása után a citoplazmába jutva is tovább szaporodnak. A vírussal fertőzött sejtek és szövetek elhalnak és ez a rovar pusztulását eredményezi.

A bakulovírusok gazdaspecifitása is jellemző. A legtöbb NPV csak az eredeti gazda állat családjába vagy nemzetségébe tartozó fajokat képes fertőzni. Még a szélesebb gazdaspecifitású vírusok is korlátozott fertőzőképességűek. A legjobban ismert *Autographa californica* NPV a legszélesebb gazdaspecifitású, de ez is csak a különböző lepkécsaládokat képes fertőzni. A GV csoport még szűkebb gazdaspecifitást mutat, és csak a gazda rovar családjának fajaiban hatékony és csak a lepkékből ismert.

A tünetek a fertőzés után több nappal jelentkeznek csak. Először a rovarok színe és viselkedése változik meg, majd az étvágyuk csökken. A lárvák a betegség későbbi szakaszában a tápnövény csúcsára vándorolnak. A lárvá növekedése megáll és a halál akkor következik be, amikor a belső szövetek lebomlanak és elfolyósodnak. Az NPV fertőzés esetében a halál után a törékeny kutikula felszakad és több milliárd PIB szabadul ki. A GV fertőzött rovarok lassan fejlődnek, jellegzetes fehér színűek, majd megduzzadnak és az állatok elpusztulása után a belső szövetek elfolyósodnak. A pusztulás a fertőzés után 2-5 nappal is bekövetkezhet, de akár 2-3 hetet is igénybe vehet. Az *Oryctes* (orrszarvúbogár) bakulovírus fertőzés esetén a bogarak nem mutatnak észlelhető tüneteket és 25 nappal a fertőzés után is életben vannak.

Mivel ezek a vírusok obligát paraziták, a jelenlegi technológia szerint csak élő rovarsejtekben állíthatók elő és ez jelentős költségnövelő tényező. A viszonylag szűk gazdaspecifitás a szelektivitást és a környezeti biztonságot jelenti, de egyúttal a lehetséges piac méretét csökkenti. A gazdában képződő nagyszámú virion elősegíti a mikrobiális jellegű inszekticid előállítását és a rovarok gyors fertőzését. A vírus viszonylag gyorsan replikálódik, ezért a szer könnyen előállítható, de a betegség csak lassan pusztítja el a rovarokat, és ezek az alkalmazás után több nappal is élnek és táplálkoznak.

A betegség terjedése

A bakulovírusok populáció dinamikájának több olyan jellemzője van, amely lehetővé teszi a rovarok elleni védekezésben való felhasználásukat. Az NPV és GV fő forrása a talaj, amelyben több évig is életképesek maradnak. Mivel sok bakulovírus vertikálisan terjed, a másik lehetséges forrás a rovarpopuláció. A vírusok növényekre kerülését az abiotikus (szél, eső stb.) tényezők is jelentős mértékben befolyásolják. A rövid- és hosszútávú terjedésben a biotikus tényezők (gazda rovar, ragadozók, paraziták, rovar élősködők ill. a növényeket legelő állatok) szerepe a legfontosabb. A rovar tápnövényére került vírusok akkor lehetnek hatékonyak, ha a rovar gyorsan elfogyasztja azokat, mivel a bakulovírusok a levelek felszínén napokon vagy órákon belül inaktiválódnak a nappfény hatására.

A fertőzés folyamata a gazda és patogén populáció kölcsönhatásának a függvénye. A sűrűbb patogén populáció növeli annak az esélyét, hogy nem fertőzött gazda

fertőződik. Közismert tény, hogy sok természetes bakulovírus populáció mérete a gazda sűrűségétől is függ. A gazda és a vírus minősége ill. mennyisége befolyásolja a vírus patogén hatását és a mikrobiális védelem esélyeit. Megfigyelték, hogy a rovarpopulációkban bakulovírus rezisztencia alakulhat ki, és ennek nagyobb mértéke a védekezés lehetőségét csökkentheti. A víruspopuláció laboratóriumi körülmények között is változhat, mivel ezeket a populációkat fokozott virulenciára, ultraibolya sugárzás rezisztenciára és a vertikális átadás mértékének fokozására szelektálják.

A bakulovírusok a haszonnövényeken és a természetes élőhelyeken (legelők, erdők) nagy gyakorisággal fordulnak elő. A talajban és a ragadozók belében való fennmaradásuk is fontos lehet felhasználásuk tekintetében. Az egyik gazdáról a másikra történő átjutásuk nem megy egyszerűen, bár ez a folyamat a vírusoknál hatékonyabb, mint az entomofág baktériumoknál.

A rovarvédelmi felhasználás lehetőségei

Mikrobiális rovarirtó szerek

Ha ezt a módszert választják akkor nagyszámú vírust juttatnak ki a megvédendő területre. Mivel a vírus a természetes környezetben hamar lebomlik, a kezelést alkalmas időben ismételni kell.

A bakulovírusokat élő rovarokban vagy sejttenyészetben állítják elő. Az in vivo technológia alkalmazása esetén a gazda rovar nagy tenyészetben kell fenntartani, majd a tápnövény felületét vírussal kell fertőzni és az elpusztuló rovarokból a vírusokat szűréssel ill. centrifugálással kell kivonni. Ilyen technológiát fejlesztettek ki a *Heliothis* és *Lymantria dispar* NPV-re, bár a hagyományos kémiai rovarirtó szerek még mindig sokkal olcsóbbak. Újabbán a bakulovírusok sejttenyészetben való előállítására is fejlesztettek ki eljárást.

A bakulovírusok formulázása és alkalmazása négy különböző úton befolyásolja mikrobiális rovarirtó szerként való felhasználásukat: a formulázással állandó minőséget kell biztosítani; a vírusnak a raktározás során ill. a gazda környezetében életképesnek kell maradni; a vírust a megfelelő időben a rovar tápnövényére kell juttatni; és a formulázás költségeinek a piaci versenyképességet is biztosítani kell. A virális rovarirtó szerek formulázása még nem megoldott. Ezért a virális rovarirtó szereket általában a kémiai szerekhez hasonlóan juttatják el a felhasználás helyére.

A szabadföldi hatékonysággal kapcsolatos kísérletek a kutatás egyik legfontosabb irányát jelentik. Számos kísérletben igazolták, hogy a víruspopuláció sűrűségének növelése a gazdapopuláció megbetegedésének mértékét is fokozza.

A virális inszekticideken végzett kutatások ellenére ezek az anyagok nem túlzottan versenyképesek a rovarirtó szer piacon. A *Heliothis* NPV az USA-ban gazda-

ságilag nem bizonyult sikeresnek a gyapotföldök védelmében, mivel drága, lassú hatású és gazdaspecifikus. A *Cydia pomonella* GV-t hasonló okokból nem vezették be Európában és az Egyesült Államokban.

Szezonális telepítés

A szezonális telepítés esetén a vírus a szabadföldi környezetben is replikálódhat és több mint egy rovar generáció fejlődését gátolja. Sokszor nem várható a kártevő populáció azonnali elpusztítása és ilyenkor a következő termesztési idényben újabb víruskibocsátásra van szükség. Ezt az eljárást alkalmazva a vírus a költségek tekintetében versenyképesebb, de gazdaspecifitása továbbra is nehézséget jelent, kivéve ha az elpusztítandó rovar egy kulcsfontosságú kártevő. Ezt az eljárást egyelőre a magánkézben lévő kisebb cégek alkalmazzák, és így a termelés, formulázás, alkalmazás és forgalmazás a mikrobiális rovarirtó szerekhez hasonló módon megy végbe.

A bakulovírus szezonális telepítésének sikeressége fajoként változó eredményt ad. A 2 legjelentősebb siker az *Oryctes* bakulovírus felhasználása a Csendes-óceán szigetein a pálma bogarakkal szemben ill. az *Anticarsia gemmatalis* NPV alkalmazása a brazíliai szója vetésterületeken. Az *Oryctes* bakulovírust kevesebb mint egyszer kell alkalmazni évente, sikere a stabil élőhelynek és gazdapopulációnak ill. a betegség vertikális és horizontális terjedésének tulajdonítható. Az *A. gemmatalis* NPV azért bizonyult hatékonynak, mivel egyetlen fontos kártevővel szemben és durva szuszpenzió formájában alkalmazzák. Ezt a vírust Brazíliában több mint 1 millió hektárnyi területen használják sikeresen. A *Lymantria dispar* NPV alkalmazása viszont csak speciális esetekben hatékony: amikor a gyapjas lepke az egyetlen komoly kártevő, a környezetvédelmi szempontok az elsődlegesek, és az azonnali rovarpusztítás nem feltétlenül szükséges. Hasonló módon az *Orgyia pseudo tsugata* NPV-t sem használják széles körben a Douglas fenyőlepke pusztítására, mivel túlzottan fajspecifikus, drága és csak hosszabb idő elteltével hatásos.

Bevezetés, folyamatos fenntartás

Ez a módszer egy állandó kártevőpopuláció korlátozását eredményezi, és ebben az esetben a vírus az ökoszisztéma alkotórészévé válik. Az eljárás előnye, hogy a vírusok csak bizonyos szint alá csökkentik a kártevő populációt és állandóan jelen vannak az élőhelyen. A költségek nem túlzottan magasak, mivel egyetlen víruskezelésre van csak szükség. A bakulovírusok egyes tulajdonságai lehetővé teszik, hogy a sorosan vetett gabonafélék védelmére használják, mivel ezekre a növényekre a biológiai védekezés módszerei a valódi ökoszisztéma hiánya miatt nem bizonyultak hatékonyak. A jövőbeni vizsgálatoknak kell megállapítani, hogy érdemes-e idegen vírus törzseket bevezetni, és ezek hogyan hatnak a benszült vírus törzsekre.

Az előzőleg bevezetett bakulovírus törzsek hatását nehéz felbecsülni. Ugyanígy nem könnyű a bevezetés hatékonyságát tudományos módszerekkel meghatározni. A legfontosabb az alapállapot pontos ismerete egy olyan ökoszisztémában, amelyben a vírus nem fordul elő. Jelenleg 15 sikeres bakulovírus bevezetésről tudunk, ebből 5 gabonafélékre, másik 10 pedig erdei ökoszisztémákra vonatkozik. A legismertebb eset, hogy a *Gylpinia hercynae* NPV gátolja egy eredeti kártevő populáció szaporodását. A vírus eredetileg véletlenül került ebbe a környezetbe, és az ökoszisztéma és a gazda populációk stabilitása ill. a jó horizontális-vertikális terjedés miatt bizonyult hatékonynak.

A környezet megfelelő módosítása

Ebben az esetben a környezetbe nem bocsátanak ki vírusokat, hanem a földművelés módszerét változtatják meg, és így segítik elő a benszültöt bakulovírus populáció elszaporodását és a kártevő fajok kiirtását. Ez a módszer elősegíti a vírus jobb fennmaradását és biztosítja, hogy a vírionok a rovarok által fogyasztott növényi részekre kerüljenek. A megközelítés nagyon ígéretes, mivel gazdaságosan növeli a benszültöt ill. bevezetett vírusok hatékonyságát és lehetővé teszi, hogy a környezeti tényezők révén befolyásoljuk a patogén vírusok jobb hatását.

Erre a módszerre ezidáig csak néhány példát ismerünk. A talajművelés, legeltetés, kaszálás és a kémiai növényvédő szerek megfelelő használata együttesen tette lehetővé egy a *Wiseana* nemzetségbe tartozó lepke kártevő elleni védelmet az új-zélandi legelőkön. A szarvasmarha csordák mozgása hasonló módon segítette elő a *Spodoptera frugiperda* NPV legelőkön való elterjedését.

A bakulovírusok előnyös és kedvezőtlen tulajdonságai a rovarok elleni védekezésben

A legkedvezőbb bakulovírus tulajdonságok a gazdaspecifitás és a környezetre való ártalmatlanság. Ezenkívül lényeges, hogy a bakulovírusok genomja viszonylag egyszerű és rekombináns-DNS technológiával könnyen megváltoztatható. Szintén előnyös, hogy a bakulovírusok szabadföldi alkalmazása viszonylag egyszerű, és a fejlesztési költségek sem túlzottan magasak.

Ezzel szemben problémát jelent, hogy a gazdaspecifitás miatt a lehetséges piac korlátozott, és a termelés csak gazdarovarban mehet végbe. A korlátozott piac miatt a nagy cégek nem végeznek fejlesztést, míg a kisebb vállalkozásoknak erre nincsenek elégséges anyagi forrásai. A vírusok lassú ölő hatásuk miatt nem alkalmasak a nagyobb rovarfajok elleni védekezésben. Az a tény sem kedvező, hogy mind a 4 használt módszer hatékonysága jelentős mértékben függ a környezeti tényezőktől. Ezenkívül a vírusokkal szemben is kialakulhat rezisztencia, bár ez általában sokkal kisebb mértékű, mint a kémiai rovarirtó szereknél.

Jövőbeni kilátások

A jövőben a bakulovírusok jelentősége valószínűleg növekedni fog, mivel a környezet biztonsága az egyik leglényegesebb kérdés lesz. A rekombináns-DNS technológia forradalma az utóbbi 10 évben ismét felébresztette a bakulovírus iránti érdeklődést. A vírusok ölő hatásának sebessége és a virulencia mértéke génszinteti eljárásokkal fokozható. A gazdaspecifitás kiterjesztése és a természetes viszonyok közötti fennmaradás időtartamának növelése is javíthatja a bakulovírusok rovarellenes hatékonyságát. A természetes törzsekre alapozott virális rovarirtó szerek valószínűleg nem számíthatnak komoly sikerre az iparilag fejlett országokban. A kisebb piacokon a természetes vírus törzsek nem versenyképesek a *Bacillus thuringiensis* toxinokkal, melyek szélesebb gazdaspecifitásúak, gyorsabban hatnak és olcsóbbak.

A természetes bakulovírus törzsek jövője ígéretesebb a szezonális telepítés és a bevezetés - folyamatos fenntartás módszereinek alkalmazása esetén. Különösen előnyös lehet a rekombináns DNS vírusok alkalmazása, de ez a közeli jövőben nem várható. Az ilyen fejlesztéssel szemben az okoz ellenérzést, hogy a genetikailag módosított szervezetek szabadföldi kibocsátása nagy kockázattal járhat.

A biotechnológia szerepe a gyógyszeripari kutatásban

Biotech takes a leaf out of pharmacology's R and D. = European Chemical News, 57.k. 1507.sz. 1992. febr. 17. p.25,26-32. T.OMIKK

Az évtized végére minden új gyógyszer valamilyen módon kapcsolatban lesz a molekuláris biológiai tudományokkal. 10 évvel ezelőtt a figyelem az olyan fehérjékre irányult, amelyeknek fontos fiziológiai hatásuk van, pl. az inzulinra, növekedési hormonokra, majd a fehérjeterápiák kifejlesztésével kezdtek elfoglalkozni, mint pl. a tPA (vérrögoldó) és az interferonok (rákterápia) kutatásával.

Az újabb megközelítés farmakológiai jellegű. Biotechnológiai módszerekkel igyekeznek megérteni a folyamatok biokémiáját. A mechanizmus ismeretében könnyebb a terápia kidolgozása.

A piacra bevezetett első ilyen fehérjék az inzulin és a humán növekedési hormon voltak. Az új terápia pedig a géntechnikai módszerekkel jellemzett fehérjéken alapult. A génexpresszió fejlődésével a prokarióta rendszerekről az emlős szövetenyészetekben való kifejeződés felé tolódott el a hangsúly.

Ebben a fejlődési szakaszban azt jósolták, hogy a 80-as évek végére a gyógyszerfehérjék lesznek az élen. Úgy várták, hogy a Genentech tPA-ja, Activase-a milliárd dolláros gyógyszerek lesznek. A tPA azonban csalódot okozott. Először is számos szabadalmi vitát váltott ki. Másodsor alkalmazásának klinikai előnyei nem kompenzálják a többi terápiához képest viszonylag magas költségét. Harmadszor, forgalma csak 200 millió dollárt ért el évente.

A fény azután a vörösvértesteken áthatolni képes fehérjére, az eritropoietinre esett. Szakértők szerint 1995-re az első 50 gyógyszer közé juthat. 1990-ben majdnem elérte ezt a rangot évi 200 millió dolláros forgalmával.

Az utóbbi időben nő a szerepe az ellenanyagokon, ezek közül is a harmadik generációs termékeken alapuló terápianak.

Az első generációs ellenanyagokat állatok célantigénnel való injekciójával nyerik, diagnosztikai vagy terápiás (globulin hepatitisz ellen) célra. A második generációs, monoklonális ellenanyagokat hibridómatechnikával állították elő. Ilyen a szeptikus sokk kezelésére szolgáló monoklonális ellenanyag, amelynek forgalma valószínűleg meghaladja a 300 millió dollárt. A harmadik generációs ellenanyagok most vannak feljövőben. A kutatók "barkácsolnak" az ellenanyaggal a hatás növelése érdekében. A Genentech az egér ellenanyag régióit humán ellenanyagba ülteti be, kiméra ellenanyagot nyerve.

Az eritropoietin és más hemopoietikus hormonok (pl. a granulocita kolóniasztimuláló faktor és a granulocita makrofág stimuláló faktor) képesek a fehér és vörösvértestpopulációk növelésére, ami fontos az anémia kezelésében, és hasznos a gerincvelősejt-átültetésben. Más citokinek, pl. az interferonok és interleukinok fontos szerepet játszanak több leukémiatípus, vírusos fertőzések és egyes daganatok kezelésében. A citokineket szintén az első 50 gyógyszer közé várják.

A biológiai gyógyszerek szélesebb körű elterjedésének egyik akadálya a jó beviteli módszer. A fehérjék nem adagolhatók szájon át, mert a proteolitikus enzimek lebontják őket az emésztőrendszerben.

Ígéretes megoldás a nem fehérje analógok előállítása, mivel ezek orálisan adagolhatók. A fehérjéket tehát nem gyógyszerként, hanem gyógyszer célpontként kezelik.

A biotechnológusok meg tudják határozni a fehérjék működési helyét, amely rendszerint egy receptor, és a géntechnika és molekulamodellezés segítségével felépíthetők vagy megtervezhetők olyan kémiai vegyületek, amelyek utánozzák a fehérje működését. Az eredmény lehet egy kis móltömegű termék, amely ösztönöz bizonyos tevékenységeket a receptorok kábe kapcsolásával.

Mindez még igen kezdeti stádiumban van, de már folyik olyan gyulladásgátlók fejlesztése, amelyek enzimgátlókon alapulnak.

A betegség megtámadása fehérje szinten ma a kutatási programok fő témája, a következő fokozat pedig a DNS szint lesz.

Az egyszálú DNS-ből készített antiszensz (ellenértelmű) gyógyszerek, amelyek képesek a génexpresszió megakadályozására, most vannak fejlesztés alatt. Ezek irreverzibilisen megkötik az mRNS-t, így a sejtek nem készítenek bizonyos fehérjéket. Nagy előny, hogy a DNS szegmens rendkívül specifikus a cél mRNS-re.

Bár az első antiszensz gyógyszerek már a klinikákra kerültek, ebben a században nem jutnak a piacra. Meg kell még oldani a stabilitás, enzimes lebontás elleni védelem és az immunrendszer elől való elrejtés problémáját. A nukleinsavra adott immunválasz ugyanis kapcsolatba hozható a szisztémikus bőrfarkas nevű halálos betegséggel.

A biotechnológia eredményei tetet öltének a génterápiában is. A szakértők szerint lehetővé vált a genetikai anyag hibáinak kijavítása.

A génterápia során a hibás génrészecskéket eltávolítják a beteg sejtéből és a helyes információval helyettesítik. Az első kísérletet az USA Állami Egészségügyi Intézetben (National Institutes of Health) végezték, adenzin deamináz hiányban szenvedő kislánynon.

A kutatók megpróbálnak tumorelleses fehérje gént adni a rákbeteg immunsejtjeibe, hogy növeljék az immunrendszer védelmi képességét.

Néhány biotechnológiai úton kapott gyógyszer helyzete és jövője

Fehérje	Javallat	Cég (kifejlesztő/licencvásárló)
Alfa-interferon	Szűrősejtes leukémia, hepatitisz, rosszindulatú melanóma, Kaposi szarkóma, krónikus mielocitikus leukémia, gége papillóma, genitális szemölcs, genitális herpesz, AIDS, vesesejtkarcinóma, bőr T-sejt limfóma, trombocitémia	Hoffman-Laroche, Takeda, Biogen/Schering-Plough, Ciba-Geigy, Amgen, Sidus, Cheil Sugar, Yeda/Serono, Viragen, Exovir, Kabi, Boehringer-Ingelheim
Gamma-interferon	Vesesejtkarcinóma, Kaposi szarkóma, AIDS, bőrrák, reumás artritisz, bakteriális fertőzések	Biogen/Shionogi/ Rentschler, Genentech/Boehringer-Ingelheim/Toray, Takeda, Transgene, Roussel, Suntory/Schering-Plough, Kyowa Hakko, Yeda/Serono
Interleukin-2	AIDS, rák, vesekarcinóma, vírusos fertőzések, reumás artritisz, limfokin-aktivált ölüsejtes terápia	Immunex/Roche/Cetus, Ajinomoto/Roche, Cetus/Roche, Takeda, Collaborative Research, Biogen/Shionogi, Roussel/ Transgene, Sanofi, Abi/Genelab, Amgen/ J&J
Alfa tumor nekrozis faktor	Rák és vírusos fertőzések	Phillips Petroleum, Asahi Chemical, Dainipon/ Genentech, Biogen/ Knoll/ Suntory, Cetus/ Cellular Products, Genentech/Boehringer-Ingelheim
Eritropoietin	Anémia	Amgen/J&J/ Sankyo, Genetics Institute /Chugai/

		Upjohn, Genzyme /Toyobo, Hoechst, Snow Brand/ Fuso, Boehringer-Mannheim
Granulocita kolónia stimuláló faktor	Krónikus neutropénia, rák, égések, AIDS, leukémia, septicémia, gerincvelő-átültetés, kemoterápiával kombinálva	Amgen /Roche/ Sankyo /Kirin Brewery, Kyowa Hakkō, Chugai/ /Rhone-Poulenc / Upjohn
Granulocita makrofág stimuláló faktor	Aplasztikus anémia, neutropénia kemoterápiával kombinálva	Genetics Institute /Sandoz/ Schering-Plough, Amgen/ Kirin Brewery, Immunex / Hoechst, Biogen/ Sumitomo
Makrofág kolónia stimuláló faktor	Rák, gerincvelő-átültetés kemoterápiával kombinálva	Genetics Institute /Morinaga Milk, Cetus/ Cellular Products
Human inzulin	Cukorbetegség	Genentech/Ely Lilly, Novo Nordisk, Hoechst
Human növe- kedési hormon	Növekedési hormon hiány, gerinctörések, égések, osztooporózis, sebgyógyítás	Genentech /Kabi, Novo Nordisk/Wellcome/ Nycomed, Biotechnology General / SmithKline Beecham/ Scitech Medical Products / JCR Pharmaceutical
Szuperoxid diszmutáz	Veseátültetés, miokardiális infarktus, oszteoarthritis	Chiron /Gruenenthal/ Takeda, Yeda /Bio-Technology General/Bristol Myers Squibb, Nippon Kayaku, Ube/ Fujisawa
Hepatitisz B vakcina	Hepatitisz B vírus elleni védelem	Chemi Sero, Chiron / Merck & Co., Rhone-Poulenc, Takeda, SmithKline Beecham, Bio-Technology General/ Green Cross Corp. /Scitech Medical Products, Amgen/ J&J, Hexal, Biogen/SmithKline Beecham/ Merck & Co., Immuno, Meiji Milk, MicroGeneSys, American

AIDS vakcina

AIDS elleni védelem

Home Products,

**MicroGeneSys/AHP, Chiron/
Ciba-Geigy, Genentech,
Immuno, Alpha One Biomed,
Immune Response, British
Bio-technology**

**Műszaki vezetők! Főmechanikusok!
Gépészmérnökök! Üzemfenntartási dolgozók!**

Az OMIKK Műszaki Információ

ÜZEMFENNTARTÁS– KARBANTARTÁS

című kiadványa a témakör legújabb külföldi
eredményeiről ad tájékoztatást
a szakembereknek közvetlenül
felhasználható lényegére rövidített fordításban,
évi 80 ív terjedelemben.

Az évi 12 szám előfizetési ára: 6000,— Ft.

Megrendelhető:
ORSZÁGOS MŰSZAKI INFORMÁCIÓS
KÖZPONT ÉS KÖNYVTÁR
MGKSZ szerkesztősége
Budapest, Postafiók 12.
1428



HÍREK A NAGYVILÁGBÓL

Az USA biotechnológiai irányzatainak követése

Dibner, M.D.: Tracking trends in U.S. biotechnology = BIO/TECHNOLOGY, 9.k. 1991.december, p.1334, 1336-1337. T.OMIKK

A biotechnológia virágzik az USA-ban. 1991 közepén 742, általában kis-méretű vállalkozás működött, melyeket a technológia fejlesztésére hoztak létre. Ezenkívül 142 nagyvállalat folytatott je-

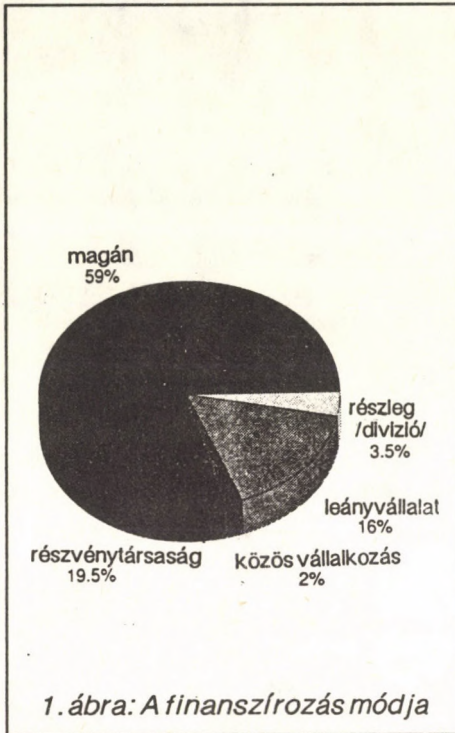
lentős K+F munkát a biotechnológia területén. Ugyanakkor 100 körül van azoknak az elmúlt 20 év során alapított biotechnológiai vállalatoknak a száma, amelyek mint önálló vállalatok különböző okoknál fogva már nem léteznek.

A 742 biotechnológiai vállalat zöme magánkézben van (1. ábra). Egy átlagos vállalat jellemzőit az 1. táblázat mutatja.

1. táblázat

Átlagos biotechnológiai vállalat

	Alapítási év	Alkalmazottak száma	K+F költségvetés /mill.USD/	Bevételek /mill. USD/
Magán	1983	44,7	2,0	7,1
Részvénytársaság	1982	187,4	11,2	25,0
Leányvállalat/ Részleg	1978	172,2	4,0	25,4
Összes vállalat	1982	98,0	4,9	16,3



A különböző biotechnológiai vállalatoknak tehát alapvetően eltérő mutatóik vannak. A 742 vállalat összességében 73 000 főt foglalkoztat, a bevételeik eléri a 12 milliárd USDt és a K+F ráfordításaik a 3,6 milliárd USDt. Megjegyzendő, hogy ezek közül 142 nagyvállalat, amely jelentős K+F munkákat végez a biotechnológiai területeken. Ezek összegükben 250szer annyi főt foglalkoztatnak, K+F költségvetésük átlagosan 100-szor, és bevételük 400-szor akkora, mint a biotechnológiai vállalatoké átlagosan.

A biotechnológia terén foglalkoztattak számának növekedése szempontjából hatalmas különbség van a biotechnológiai vállalatok és a nagyvállalatok között.

latok között. 1987 és 1990 között az előbbieknél a növekedés csaknem négy-szeres volt, míg az utóbbiaknál csak 80%.

Érdekes az összehasonlítás az USA és Japán vonatkozásában ezen a téren. Így a legújabb közlések szerint 500, de lehet, hogy akár 800 vállalat foglalkozik Japánban ezzel a technológiával, viszont jóformán nincs kis biotechnológiai vállalat náluk.

Az USA biotechnológiai iparának különböző szegmensei különböző gyártmányokra összpontosítanak (2. táblázat).

Az adatokból látszik, hogy a gyógyszeripari terméket gyártó csoport a legnagyobb. Ide tartoznak olyan nagyvállalatok, mint a Genentech, az Amgen, a Centocor és a Chiron. A csoport K+F költsége több mint kétszerese a többiekének. Ennek egyik oka, hogy a gyógyszerek jóváhagyása az USA Élelmiszer és Gyógyszer Hivatala által rendkívül költséges. Hozzá képest egy diagnosztikai szer piacra hozatalának költsége eltörpül. A bevételek terén is hasonló a különbség, hiszen csak az USA-ban forgalmazott inzulin értéke az elmúlt évben 450 millió USD volt, a szöveti plazminogén aktivátor és az eritropoietin értékesítés volumene 200 és 300 millió USD között volt. Ugyanakkor egy nagy volumenben értékesített diagnosztikai szeren a bevétel csak 1-5 millió USD. A gyógyszeripari vállalatok számára nagy bevételi forrást jelentenek még a különböző cégek részére végzett szerződéses kutatásaik.

Az ipari ágazatok közül a legnagyobb növekedést mutató gyógyszer-

Biotechnológiai vállalatok adatai

Összes vállalat	Gyógyszerek	Diagnosztikai szerek	Mezőgazdaság	Készülékek/reagensek	Környezetvédelem	
Vállalatok száma	742	206	162	127	88	29
Alapítási év	1982	1984	1982	1978	1984	1984
Létszám	98	135	97	124	66	43
K+F költségvetés /millió USD/	4,9	12,3	1,9	4,2	1,3	1,7
Bevétel /millió USD/	16,3	32,2	6,6	25,8	11,5	19,3

Ipar mellett bővül a hulladékok kezelése, az analitikai szolgáltatások, oltóanyagok, gyógyászati eszközök, valamint a gyártás, ill. fermentálás területe; csökkenést mutatnak viszont a diagnosztikai szerek és reagensek, a speciális vegyszerek.

Az egyes államok közül továbbra is Kaliforniában van a legtöbb (185) biotechnológiai vállalat. A cégalapítások száma csökken, így 1989-ben csak 39 új céget alapítottak, míg a 80-as évek közepén, évente átlag 60-at (2. ábra).

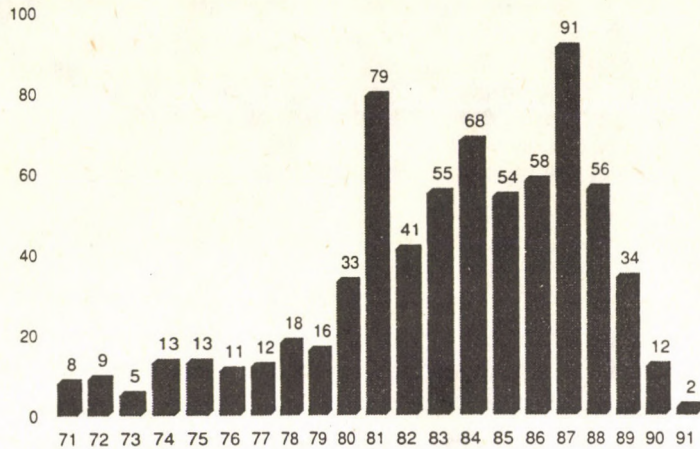
Az USA a legnagyobb szállítója a biotechnológiai eljárásoknak, így 1985 és 1989 között a 834 egészségvédelemmel kapcsolatos biotechnológiai stratégiai szövetség közül 28%-ot európai és japán vállalatokkal kötöttek, 63% USA vállalatok között jött létre. A biotechnológiai vállalatok felsővezetése általában elégedett ezekkel a szövetségekkel, szerintük a legfontosabb szükséglet, amit kielégítenek, a piacokra való bejutás lehetősége és a bevétel. Megál-

lapítható, hogy ezen a téren a kezdeményezők a kis biotechnológiai vállalatok.

Fontosak még az egyetemekkel létesített kapcsolatok. Így az USA biotechnológiai vállalatainak 70%-a USA egyetemekkel, 40%-a európai egyetemekkel és 12%-a japán egyetemekkel tart fenn kapcsolatot.

Az USA biotechnológiai termék piaca bizonyára nagymértékben fog bővülni, 1990 évi 2 milliárd USD-ről 2000-re kb. 23 milliárd USD-re. 1990-ben az értékesített biotechnológiai termékek 75%-át kb. egy tucat gyógyszer képezte, 2000-re a gyógyszerek csak a felét fogják képezni az összes értékesítésnek. A többit az új termékek fogják adni, így a különböző mezőgazdasági és környezetvédelmi termékek, valamint a vegyi anyagok.

Világviszonylatban a biotechnológiai termékek piaca 2000-re előreláthatólag eléri a 70 milliárd USD-t. Az olyan vállalatok, mint a Cetus és a Centocor, amelyek már létesítettek leányvállalatokat Európában, kedvező helyzetben



2. ábra Vállalat alapítások 1971-1991

lesznek ezeken a piacokon. Ugyanakkor csak kevés USA céglétesített leányvállalatot Japánban; helyette inkább stratégiai szövetségek formájában működnek együtt japán vállalatokkal.

A biotechnológiai téren aktív tevékenységet folytató japán és európai nagyvállalatoknak kiváló lehetőségek vannak viszont, hogy behatoljanak az USA piacra a meglévő és az új amerikai leányvállalataikon keresztül.

Az amerikai biotechnológiai ipar helyzete

Reports on US biotechnology Industry. = Biotech News, 11.k. 1.sz. 1992. január p.5. T. OMIKK

Az előrejelzések szerint a biotechnológiába fektetett részvények az 1990-

es 8,7 milliárd \$-ról 2000-re 37,9 milliárd \$-ra nőnek.

A termékek egyre bővülő skálája fokozza a befektetési kedvet. Így a humán betegségek diagnosztizálásának reagensei, műszerei; az emberi gyógyászatban alkalmazható bioterápiikumok; a biotechnológiai mezőgazdaság fejlődése -állatgyógyászati termékek, biopesticidok, rekombináns állati növekedési hormonok, génszintetizált módosított növények.

A vállalkozók vevőket keresnek

Entrepreneurs look for customers. = Nature, 355.k. 6359.sz. 1992. p.390. MTAK

"Nem olyan típus vagyok, aki arra vár, hogy a pénz az égből hulljon," mond-

Ja Anna Podhajska a Gdanskí Egyetem mikrobiológiai tanszékéről, miközben elmagyarázza, hogyan érték el, hogy kutatási eredményeit az Ipar hasznosítja. Kaliforniában természetes dolog, hogy egy molekuláris biológus egyben vállalkozó is, de Lengyelországban az ilyen ritkaságszámba megy. Még a kommunista rendszer utolsó időszakában kezdtek nyugati biotechnológiai cégek érdeklődni Podhajska kutatócsoportjának termékei iránt, azonban a megoldhatatlan pénzügyi problémák megakadályozták az üzlet létrejöttét. Mostanra azonban az egyetem egy magánalapítványt hozott létre, és ez volt az első alkalom, hogy a kutatócsoportnak saját bevétele van. Első vevőik a francia Appligene és a marylandi Life Technologies.

Génterápia Olaszországban

Abbot, A.: ITalians first to use stem cells. = Nature, 356.k. 6369.sz. 1992. ápr. 9. p.465.

Egy olasz kutatócsoport elvégezte az első humán géntranszfert egy ritka betegség gyógyítása céljából. Ilyen kísérletet 1990-ben kezdtek az USA-ban: adenzin deamináz hiányban szenvedő betegek limfocitáit ADA génnel transzfektálták, majd visszainjektálták a páciensbe. Míg a limfociták pár hónapig élnek, a csírasejtek korlátlan ideig, ami előnyös a gyógyítás szempontjából.



Biotechnológia: hogyan tovább?

Gilbert, D.: Biotechnology: What now? = Bio/Technology, 10.k. 3.sz. 1992.márc. p.242-243. T.OMIKK

Az elmúlt 1991. év volt a biotechnológiai ágazat tízéves történetében a legkedvezőbb. Az idetartozó 50 vállalat minden eddigi rekordot megdöntött az árak alakulása, az új gyógyszerek jóváhagyatása, alaptőke-emelés és új részvénytársaságok alapítása terén. 1992 is erős évnak ígérkezik, 1993/1994-ben azonban időleges elmaradás várható az új termékek jóváhagyatása terén, amit azután 1995-ben egy hatalmas hullám követ ezen a téren.

Az 1991. év vonatkozásban a San Francisco-i Smith Barney cég Biotechnológiai Ipari Árindexe november 12-én érte el a csúcst, 170%-ot és az év végén 144% volt. A vállalatok egy harmada, amelyek az előzetes becslés szerint a 90-es évek közepén lesznek nyereségesek, 1991 végére 203%-ot értek el.

Az elmúlt évben 5 új, biotechnológiai úton előállított terméket hagyott jóvá az USA Élelmiszer és Gyógyszer Hivatala (FDA). Így az Amgen cég granulocita kolónia stimuláló faktorát, a Biogen cég alfa Interferonját a hepatitis C ellen, a Genzyme cég Ceredase és Provisse nevű termékeit, valamint az Immunex granulocita makrofág kolónia stimuláló faktorát.

Ma már nyilvánvaló, hogy a biotechnológia nemcsak a rekombináns DNS módszeren alapul, hanem számos új, hasonlóképpen hatékony biotechnológiai eljárást is magában foglal. Ilyenek pl. az érzékenység elleni és egyéb oligo-

nukleotid molekulák, a szénhidrátkémia, a számítógép segítségével végzett gyógyszertervezés és a kispeptidalapú gyógyszerek.

A potenciális új gyógyszerek már túl léptek az egyszerű molekulahelyettesítésekben (pl. inzulin, eritropoietin) a nagy hatású molekulák irányába, amelyek magukba foglalják az egész betegségi folyamat megértését és lefolyásának módosítását (mint pl. az adhézió elleni molekulák, vagy a trombininhibitorok).

Az 1992. évre várható jóváhagyások száma biztató, mert eddig már 7 gyógyszer kapta meg az FDA tanácsadó bizottságától az ajánlást a jóváhagyásra, úgy hogy ezek nagy valószínűséggel 1992-ben meg is fogják azt kapni. Ezek a Centocor cég Centoxinja és Myoscint-je, a Chiron cég IL-2-je, a Cyto-gen cég OncoSeint-je, a Genentech cég Factor VIII-a, a Genetics Institute Factor VIII-a és a Xoma cég CD5 Plus nevű terméke.

Ami a biotechnológiai vállalatok egyesülését, ill. felvásárlását illeti, az 1990/91-ben tapasztaltak valószínűleg folytatódnak 1992-ben is, sőt esetleg intenzívebbé válnak. Ilyen nagyobb tranzakció volt az American Home Products által a Genetics Institute 60%-ának megvásárlása 66 millió USD-ért, a Chiron cég egyesülése a Cetus céggel (600 millió USD), és a Systemix cég 60%-ának megvásárlása a svájci Sandoz cég által 400 millió USD-ért.

A gyógyszeripari fejlesztés nagy tökeigényessége miatt várható, hogy ez az irányzat tovább erősödik és több egyesülésre és megvásárlásra fog sor

kerülni 1992-ben, valamint biotechnológiai közös vállalatok alapítására.

A vállalatok értékelése továbbra is gondot okoz. A legtöbbjük nem rendelkezik olyan hagyományos felértékelési adatokkal, mint az értékesítés és nyereség, hanem csak a jövőben várható értékkel számolnak. Ha bármilyen garancia volna arra, hogy egy vállalat végül is sikeres lesz az 1991. évi árértékelés ellenére is, akkor az 50 biotechnológiai részvénytársaság mindegyikét "olcsó"-nak tartanák. Hogyan lehet azonban számolni azzal a kockázattal, hogy ezeknek a vállalatoknak jelentős része nem marad fenn, és hogy számos beruházó nem tud 5-8 évig várni a lebonyolítással.

Az egészségvédelmi ráfordításokkal kapcsolatos aggályok 1992-ben valószínűleg növekedni fognak. Nem várhatók ugyanhatározott rendeleti megoldások, de a gyógyszerárakat továbbra is tervezni fogják. Azok a vállalatok, amelyek olyan piacokat céloznak meg, amelyeknek nincs alternatívájuk és azok, amelyek külön erőfeszítéseket tesznek annak demonstrálására, hogy a többlet gyógyszerköltség révén megtakaríthatók a sokkal nagyobb kórházi költségek, és amelyek hatékonyabb gyártási eljárások kialakítására töreksenek a gyógyszerárak leszorítása érdekében, valószínűleg helyesen járnak el.

A szerző 1992 vonatkozásában azt ajánlja, hogy óvakodjunk az általánosításoktól, mert a biotechnológiai ágazat sokrétűsége miatt ez veszedelmes lehet. Nem minden termék fog bevélni, nem mindegyik szerzi meg 100%-ig a

vonatkozó piacot és nem minden vállalat tud fennmaradni. Egyik módja a biotechnológiai beruházások okozta kockázatokkal szembeni biztosításnak az, ha vegyes profilra törekszünk, különböző piacok megszerzése, különböző technológiák kifejlesztése révén. Olyan piacokat kell megcélozni, amelyek elég nagyok, hogy lehetővé tegyék a versenyt, amelyeken a technológia a betegségek teljesen újszerű megközelítéséhez vezet és olyanok, amelyek igénylik az új terápiai módszereket. Ilyenek a kardiovaszkuláris megbetegedések, a fertőző betegségek, a gyulladáshoz vezető betegségek és a neurológiai rendellenességek.

Biotechnológiai ipar. A Biotech lobby nyomást gyakorol az Európai Közösségre

Aldhous, P.: Biotechnology industry. Biotech lobby pressure EC. = Nature, 355.k. 6358.sz. 1992. p.289. T.MTA

Európa biotechnológia vállalatai erőteljesen felléptek az Európai Közösség azonkáros politikájával szemben, amelyet a biotechnológiai iparral szemben folytat. Az 1989-ben kilenc vezető európai nagy kémiai céggel megalapított SAGB (Senior Advisory Group on Biotechnology) kibővült, és így mintegy 28 vezető európai biotechnológiai konzern a tagja. A szervezet klemell, hogy az EC politikájának igen jelentős szerepe van az európai biotechnológiai iparra. A Tanácsadó Testület expanzióját egy másik ipari lobby megalakulása (European Secretariat of National Biolin-

dustry Associations) követte, mely tervek szerint Irodát nyit Brüsszelben.

A Genom project és az üzleti szempontok

Anderson, C., Aldhous, P.: Genome project faces commercialization test. = Nature, 355.k. 6360.sz. 1992. p.483-484. á.1 T.MTA

Tíz millió dollárral felfegyverezve, egy magán befektető megtette az első ajánlatot, hogy üzleti vállalkozássá alakítja át a Humán Genom Projectet. Frederick Bourke, egy gazdag vállalkozó az egész világra kiterjedve keresi azokat a kiemelkedő, genetikával foglalkozó szakembereket, akik bekapcsolódhatnak annak az új cégnek a munkájába, amelyet Seattle-ben kíván létrehozni. Két olyan kutatócsoportnak a vezetője, amelyek vezető szerepet játszanak a nematodák szekvenciakutatásában (Caenorhabditis ekegans), már tárgyalásokat folytat Bourkével, hogy csatlakozzanak az új céghez.



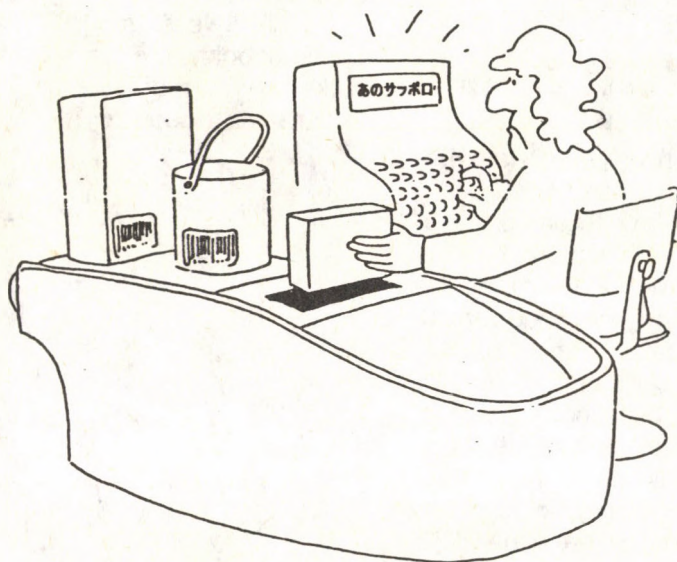
Piacszervezés Értékesítés

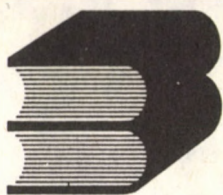
(Nemzetközi Marketing)

kiadványunk havonta mintegy 3 szerzői ív összterjedelemben friss külföldi szakfolyóiratokból válogatott cikkeket közöl közvetlenül felhasználható, rövidített fordítások – tömörítmények – formájában.

Évi előfizetési ára: 3600,- Ft.

ORSZÁGOS MŰSZAKI INFORMÁCIÓS
KÖZPONT ÉS KÖNYVTÁR
kiadói igazgatósága





TÖRVÉNY – – BIZTONSÁG – INFORMÁCIÓ

A Roche csökkentette a vitás PCR illetékeket és a vizsgálati határokat

Anderson,C.: Roche cuts controversial PCR fees, testing limits. = Nature, 355.k. 6359.sz. 1992. p.379. MTAK

A kutatók és a diagnosztikai cégek nyomására a svájci tulajdonú gyógyszergyár, a Hoffmann-La Roche az elmúlt héten beleegyezett abba, hogy a polimeráz láncreakció (PCR) technológiát alacsonyabb áron forgalmazza és alkalmazásánál csökkentse a korlátozásokat. Ez a lépés felszabadította azt a technológiát, mely a biotechnológiai ipar egyik sarokköve és széleskörben alkalmazzák apasági, genetikai és fertőzőbetegség tesztelésekben. Habár a PCR egy olyan módszer, mellyel a DNS sokszorosítható, és melyet az 1980-as évek közepe óta elterjedten használtak a kutatólaboratóriumok, mégis a kutatók azt állítják, hogy a magas árak erősen csökkentették annak diagnosztikai alkalmazását.

A Közös Piac biotechnológiával kapcsolatos politikája. Haladás az állatszabadelmeken területén.

Aldhous,P.: EC biotechnology policy. Progress on animal patents. = Nature, 355.k. 6359.sz. 1992. p.382. MTAK

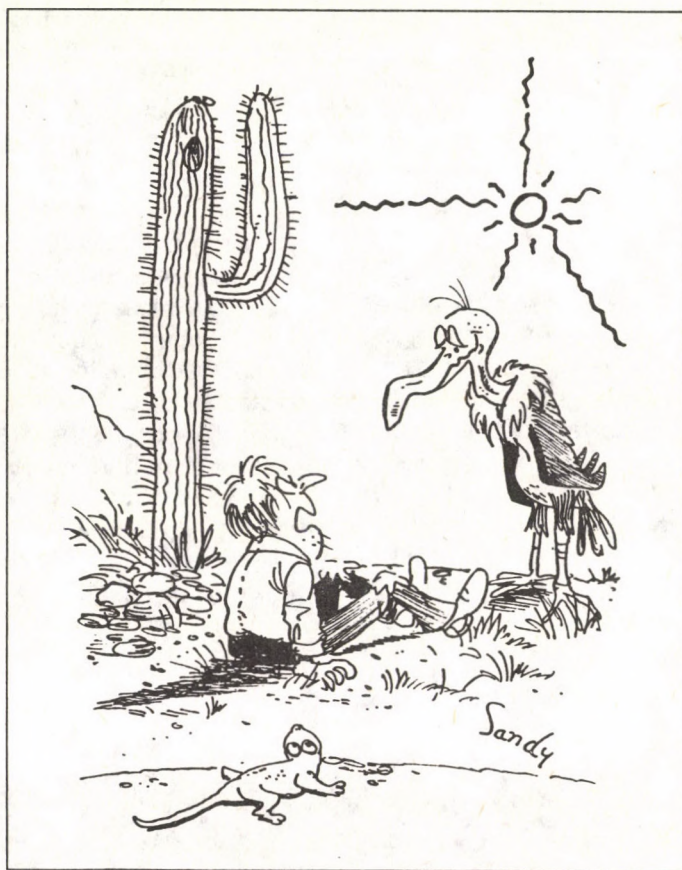
A Közös Piac új irányelve rámutatott arra, hogy a transzgenikus állatokkal kapcsolatos szabadelmi elvek mennyire akadályozták az eddigi helyzetet. Közel három éves passzívítás után az Európa Parlament jogi bizottsága elhatározta, hogy a transzgenikus állatok "feltalálói" is szabadelmi oltalmat kérhetnek a Közös Piac területén. Az Európa Tanács biotechnológiai hivatala azonban úgy gondolja, hogy ez a direktíva, melyet először 1988-ban javasoltak, csak 1993 után kerül elfogadásra az Európai Közösség tagállamaiban. A direktívát komolyan támadta a Zöldek és az állatvédők mozgalma.



Biotechnológiai szabadalmak Ausztráliában

Lawson, M.: Australia says yes. = Nature,
356.k. 6368.sz. 1992. ápr.2. p.372.

Egy ausztrálai parlamenti bizottság szerint a kormánynak engedélyeznie kellene az élő szervezetek szabadalmaztatását. Meg kell állapítani az ilyen szervezetek felhasználási feltételeit.



Ez hazugság! Te nem a boldogság
kék madara vagy.



Molekuláris biológia. recA: a lokusztól a rácsig

McEntee, K.: Molecular biology. recA: from locus to lattice. = Nature, 355.k. 6358.sz. 1992. p.302-303. h:10. T.MTA

Csak kevés fehérje veheti fel a versenyt a biokémiai sokoldalúsággal rendelkező recA enzimmal, mely az *Escherichia coli*-bantalálható. Bár igen kis méretű (352 aminosavból áll), rendkívül széleskörű az aktivitása a homológ rekombinációtól kezdve a mutagenézisig és a génextpresszió ellenőrzéséig. Steltz és mtsai adták az első részletes ismertetést erről a nem-szokványos szerkezetű fehérjéről. Szerzők a szerkezeti adatokat kiegészítették genetikai információkkal.

Az *E.coli* recA fehérje monomer és polimer szerkezete

Story, R.M., Weber, I.T.: The structure of the *E.coli* recA protein monomer and polymer. = Nature, 355.k. 6358.sz. 1992. 318-325. á:6, t:1, h:67. T.MTA

Az *Escherichia coli*-ból származó recA fehérje kristályszerkezetében nagymértékű terület található, mely ADP-hez kötődik, és valószínűleg egyes- vagy

kettőspirálú DNS. Két kisebb alterület az N és C végpontokon kinyúlik a fehérjéből, és stabilizálja a fehérje alegységek helikális szerkezetét és az interpolimer kötegeket. A polimer szerkezetét elektronmikroszkóppal vizsgálták. A recA fehérjében lévő mutációk, melyek megnövelik a koproteáz, a DNS-kötő és/vagy spirál-váltó aktivitást, szabályozó mechanizmussal magyarázhatók *in vivo*.

A Herpesvirus saimiri kódolja a G-fehérje-kapcsolt receptorek és ciklinek homológjait

Nicholas, J., Cameron, K.R.: Herpesvirus saimiri encodes homologues of G-protein-coupled receptors and cyclins. = Nature, 355.k. 6358.sz. 1992. p.362-365. á:3, t:1, h:36. T.MTA

A Herpesvirus saimiri (HVS) olyan T-limfotropikus gammaherpesvirus, mely aszimptomatikus fertőzéseket okoz természetes gazdaállatában, a mókusmajomban (*Saimiri sciureus*), de más főemlősöknél fatális limfoproliferatív betegségeket hoz létre. A szekvencia vizsgálatok azt mutatták, hogy a HVS szoros rokonságban van a humán Epstein Barr (EBV) vírussal, de a HVS tartalmaz olyan géneket, melyek nem találhatóak meg az

EBV-ben, illetve más herpesvirus genomokban. Szerzők két gént azonosítottak, melyek az EBV és a HVS eltérő régióban fordulnak elő, ugyanakkor celluláris homológiát mutatnak. Ezek közül az egyik, az ECRF3 homológ avval a génnel, mely a humán citomegalovírust és a fehérjéknek a celluláris G-fehérjekapcsolt receptor családját kódolja. A másik, az ECLF2 a sejt ciklineket kódoló génekkel homológ. A fentiek azt sugallják, hogy ezek a gének fontosak lehetnek a vírus- és sejtfolyamatok szabályozásában a gazdasejtek produktív és/vagy latens fertőzése alatt.

Az S-fázisú visszacsatoló kontroll a sarjadó gombákban független a p34cdc28 tirozin foszforilációjától

Sorger,P.K.,Murray,A.W.: S-phase feedback control in budding yeast independent of tyrosine phosphorylation of p34cdc28. = Nature, 355.k. 6358.sz. 1992.p.365-368. á:4, h:23. T.MTA

Szomatikus sejteknél a mitózisba történő belépés a DNS szintézis befejezésének függvénye. Ezt a függőséget az S-fázisú visszacsatolás kontrollja határozza meg. A Schizosaccharomyces pombe esetében a mutációk a p34cdc2 15 tirozin (Y15) foszforilációjával vannak kapcsolatban. Mivel a p34cdc2 tirozin foszforiláció konzervált az S.pombeben, a Xenopus-ban, a csirkében és a humán sejtekben a foszforiláció szabályozása egységes mechanizmusú lehet, melyet az S-fázisú visszacsatolás kontroll közvetíthet és szabályozhatja a mitózis kezdetét. Szerzők ezt a jelenséget

Saccharomyces cerevisiae sarjadzó gombában tanulmányozták.

S.cerevisiae-ben a mitózisba történő belépéshez nem szükséges a p34cdc28 tirozin foszforiláció szabályozása

Amon,A.,Surana,U.: Regulation of p34cdc28 tyrosine phosphorylation is not required for entry into mitosis in S.cerevisiae. = Nature, 355.k. 6358.sz. p.368-371. á:4, h:23. T.MTA

Eukariótáknál, a G2 fázisból az M fázisba történő átmenetbe szükség van egy p34cdc2/cdc28 tartalmú protein kináz aktiválódásra, mely rokon a G1 specifikus ciklinnel. Néhány szervezetnél a kináz aktiválódás a G2/M határvonalnál azon defoszforiláció követelménye, mely a cdc2 fehérje 15-ös pozíciójának reziduumánál jön létre. Szerzők beszámolnak arról, hogy a Saccharomyces cerevisiae-ben a p34cdc28 aláveti magát egy sejtciklus szabályozott defoszforilációnak. Azonban, ellentétben az utóbbi megfigyeléssel, az S. pombe-ben a Xenopus-ban és az emlős sejtekben a cdc28/ciklin kináz aktiválódáshoz nem szükséges az Y19 defoszforilálódás.

A T4 lizozim üreges mutánsát "rejtett" benzol stabilizálja

Eriksson,A.E.,Baase,W.A.: A cavity-containing mutant of T4 lysozyme is stabilized by buried benzene. = Nature, 355.k. 6358.sz. 1992. p.371-373. á:1, t:3, h:24. T.MTA

A fehérjék hidrofób magját általában néhány üreg borítja. Bizonyos mutációk képesek arra, hogy a magon lévő üre-

geket létrehozzák. Ezeknek az üregeknek az alakja és mérete különböző faktoroktól függ (helyi geometria, már meglévő üregek stb.). Szerzők krisztallográfiai és termodinamikai elemzéssel mutatták ki, hogy a T4 lizozimban a Leu99-Ala áthelyezéssel létrehozott üreg elég nagy, hogy berzolt kössön meg, illetve megnövelje a fehérje olvadáspontját. Az eredmények azt mutatták, hogy az üregek tervezhetők a fehérjékben és az üregek specifikus ligandkötő képesége is konstruálható.

A recA fehérje-ADP komplex szerkezete

Story, R.M., Steitz, T.A.: Structure of the recA protein-ADP complex. = Nature, 355.k. 6358.sz. 1992. p.374-376. á:3, h:30. T.MTA

A recA fehérje katalizálja az ATP irányított homológ párképzést és a DNS molekulák szálainak cseréjét. Ez egy alloszter enzim: az ATPáz aktivitás DNS-függő, és az ATP-kötött recA fehérje nagyfokú aktivitással rendelkezik a DNS iránt, ugyanakkor az ADP-kötött pedig alacsony affinitású. ATP hidrolízis hiányában a recA még serkentheti a homológ párképzést hármasszálú közti termék képződésén keresztül. Az ATP hidrolízis pontos szerepe nem tisztázott. Szerzők meghatározták a kötött, recA kristályba beáramlott ADP pozícióját, illetve vizsgálták a folyamat során fellépő mechanizmusokat.



III-as típusú restrikciós enzimeket igényel a DNS bontáshoz szükséges két inverz orientáltóságú felismerő hely

Meisel, A., Bickle, T.A.: Type III restriction enzymes need two inversely oriented recognition sites for DNA cleavage. = Nature, 355.k. 6359.sz. 1992. p.467-469. á:4, h:12. T.MTA

III-as típusú restrikciós/módosító enzimek ismerik fel azokat a rövid, nem-palindromikus szekvenciákat, melyek csak az egyik száron lehetnek metilézettek. Szerzők kimutatták, hogy a restrikcióhoz két nem-módosított felismerő hely szükséges, melyeket két inverz orientáltóságú távolság különíthet el. Az újonnan replikált DNS minden nem-módosított helye ugyanolyan orientáltóságú. Az eredmények relevánsak lehetnek a kettős-spirálú DNS-ekben lévő anizotrópiák más megjelenésére is, mintegy genetikai lenyomatként.

A fül, a koponya idegek és a hátsóagy olyan fejlődési rendellenességei, melyek az egér Hox-1,6 homeobox gén célzott törésének eredményei

Chisaka, O., Musci, T.S.: Developmental defects of the ear, cranial nerves and hindbrain resulting from targeted disruption of the mouse homeobox gene Hox-1,6. = Nature, 355.k. 6360.sz. 1992. p.516-520. á:6, h:31. T.MTA

Olyan géneket használtak egérembrió képzésre, melyeknek a célpontja az egérben lévő embrióderivált gyöksejtek voltak. Ezek az egérembriók a Hox-1,6 homeobox génben egy töréssel rendelkeznek. A Hox-1,6 helyell

rendelkező egér heterozigota normál megjelenésű, míg a Hox-1,6/Hox-1,6 egér röviddel a születése után meghal. Ezek a homozigoták rendellenességre utalnak a külső-, középső- és belső fülben ugyanúgy, mint a hátsóagy magban, a koponya idegekben és a gangliában. A rendellenességek együttese kapcsolatban van a Hox-1,6 törésével.

Instabil DNS régió és fenotipusos variáció expansziója a miotonikus disztrófiában

Harley,H.G.,Brook,J.D.: Expansion of an unstable DNA region and phenotypic variation in myotonic dystrophy. = Nature, 355.k. 6360. 1992. p.545-546. á:2, t:2, h:24. T.MTA

A miotonikus disztrófia a felnőttkori izomdisztrófia legközönségesebb formája, melynek blokémiai alapja ismeretlen. Szerzők olyan humán genom klónt izoláltak, amely a miotonikus disztrófiával rendelkező betegre specifikus új restrikciós fragmentumokat detektálta. Egy két allélos EcoR1 polimorfia található normál egyedeknél, de a beteg egyedeknél a normál allél egyikét egy nagy fragmentum helyettesíti, mely instabil természetű. Az a második polimorfia, amely ezen a locuson található, megerősíti azokat az eredményeket, miszerint az esetek legnagyobb része egy mutációból származik.



Miotóniás disztrófiában szenvedők DNS-e instabil fragmentumának detektálása

Buxton,J.,Shelbourne,P.: Detection of unstable fragment of DNA specific to individuals with myotonic dystrophy. = Nature, 355.k. 6360.sz. 1992. p.547-548. á:2, h:27. T.MTA

A miotóniás disztrófia (DM) a felnőttkori izomdisztrófia legáltalánosabb formája. A betegség jellemzője a progresszív izomgyengesség és az elhúzódó izomösszehúzódás, gyakran társulva egyéb szimptomáival. A klinikai különbözőségeik ellenére, a domináns az, hogy 19q13,3 kromoszómánál egy egyedülálló locus különbözik. Szerzők egy olyan szekvenciát izoláltak, melyet ebből a régióból választottak ki, és amely detektál egy olyan DNS fragmentumot, mely nagyobb azoknál az egyedeknél, akik ebben a betegségben szenvednek.

Az esszenciális miotóniás disztrófia régió klónozása és a feltételezett rendellenesség feltérképezése

Aslanidis,C.,Jansen,G.: Cloning of the essential myotonic dystrophy region and mapping of the putative defect. = Nature, 355.k. 6360.sz. 1992. p.548-551. á:4, h:25. T.MTA

A miotóniás disztrófia egy olyan gyakori rendellenesség, mely különböző szimptomákkal jár együtt, úgy mint izomsorvadás, miotónia és hályog. A molekuláris hiba meghatározásához klónozták a 19q13,3 kromoszóma alapvető régióját, azon belül azokat a markereket, amelyeket az átfedő kozmidok

és az élesztő mesterséges kromoszómái (YAC) képeznek. Két genom mintát izoláltak a kozmidok felhasználásával. Ezek egy instabil genom szegmentumot detektáltak a miotóniás disztrófiában szenvedő betegekénél. A fizikai térkép lokáció és a genetikai jellemzők közvetlen szerepet játszanak a betegség patogenezisében.

A RAD14 élesztő és a humán xeroderma pigmentosum A DNS javító géncsoport homológ fehérjéket kódol

Bankmann, M., Prakash, L.: Yeast RAD14 and human xeroderma pigmentosum group A DNA-repair genes encode homologous proteins. = *Nature*, 355.k. 6360.sz. 1992. p.555-558. á:4, h:23. T.MTA

A xeroderma pigmentosum (XP) egy olyan humán autoszomális recesszív rendellenesség, mely a napfényvel szembeni túlzott érzékenységben és a bőr rák iránti nagyfokú fogékonyságban nyilvánul meg. Az XP sejtek hibásak a DNS kímetszés javításának bemetsző lépésében, ha azt ultrabolya fény károsítja. A sejtfüziós tanulmányok hét XP komplementációs csoportot határoztak meg. Hasonló genetikai komplexitást figyeltek meg a *Saccharomyces cerevisiae*-ben is. Azok a mutációk, melyek az öt élesztő gén valamelyikében (RAD1, RAD2, RAD3, RAD4 és RAD10) található, teljes hibát okoznak a bemetszésben, illetve túlérzékenységet az ultrabolya sugarakkal szemben. Szerzők a RAD14 gént jellemezték.

A humán trombint kötő és gátló egyes-spirálú DNS molekulák szelekciója

Bock, L.C., Griffin, L.C.: Selection of single-stranded DNA molecules that bind and inhibit human thrombin. = *Nature*, 355.k. 6360.sz. 1992. p.564-566. á:3, t:1, h:15. T.MTA

Az aptamerek olyan kettős spirálú DNS-ek vagy egyes spirálú RNS-ek, melyek specifikus molekuláris célpontokat kötnek meg. Nagyméretű, találmásra keletkezett populációk dúsulhatnak fel az aptamerekben *in vitro* szelekcióval vagy polimeráz láncreakcióval. Szerzők egyes spirálú DNS aptamerekről számolnak be. Ezek az aptamerek a véralvadás proteáz trombinjához tartoznak, és kötő affinitásuk a 25-200 nM tartományba tartozik. 32 trombin aptamer szekvencia adatait gyűjtötték össze. Ezeknek az aptamereknek egy része nanomoláris koncentrációban gátolta a trombin-katalizált fibrinrögzéződést *in vitro*. A kísérlet során vagy tisztított fibronogént, vagy humán plazmát használtak.

Az ofloxacin citoplazmatikus légzésben hibás élesztő mutánsokat képes indukálni

Obernauerová, M., Subík, J. stb.: Ofloxacin induces cytoplasmic respiration-deficient mutants in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. = *Current Genetics*, 21.k. 1992. p.443-446. á:3 t.2 h.29 T.Sz

Az ofloxacin, antibakteriális hatású vegyület élesztővel szemben is hatékonyan bizonyult. Viszonylag magas koncentrációban és közepesen bázil-

kus pH mellett az ofloxacin gátolja az élesztő sejtek növekedését glükóz tartalmú táptalajon, és megakadályozza a növekedést, ha a glicerint egyetlen szén-forrás. Az ofloxacin jelenlétében növekvő sejtekben a sarjadzás abnormális, a sejtek életképessége csökken, és a citoplazmikus légzésben hibás mutánsokhoz hasonlít a fenotípusuk. A mutáns fenotípusú törzsekben a mitokondriális DNS kisebb-nagyobb deléciókat hordoz.

Az *Aspergillus flavus* gombafaj transzformációja: urát oxidáz fehérjében hibás mutánsok előállításának roncsolással

Chevalet, L., Tiraby, G. stb.: Transformation of *Aspergillus flavus*: construction of urate oxidase-deficient mutants by gene disruption. = *Current Genetics*, 21.k. 1992. p.447-453. á.2 t.2 h.26 T.Sz

Egy nitrát-reduktáz enzimben hibás *Aspergillus flavus* mutáns segítségével dolgoztak ki egy genetikai komplementáción alapuló transzformációs rendszert. A kezdeti transzformációs gyakoriságot különböző genetikai faktorok rekombinációjával 40-szeresére növelték. A transzformáció hatékonyságának növelését kis mértékben elősegítette, ha az urát oxidáz fehérjét kódoló gént /*uaZ*/ mutációval inaktívták. Az *uaZ*- törzs nem képes az urinsavat mint egyedül nitrogénforrást hasznosítani, de ez a hatás visszafordítható, ha az urát oxidáz fehérjét kódoló gént hordozó vektort transzformációval beviszik a a sejtekbe.

A *Cryphonectria parasitica* gombafaj endotiapepszin fehérjét kódoló génjének klónozása és mutációja

Razanamparany, V., Jara, P. stb.: Cloning and mutation of the gene encoding endothiapsin from *Cryphonectria parasitica*. = *Current Genetics*, 21.k. 1992. p.455-461. á.5 t.1 h.26 T.Sz

Az endotiapepszin fehérjét a *Cryphonectria parasitica* gombafaj választja ki, és tejjalvasztó hatását a sajtélesztésnél használják fel. A fehérjét kódoló *eapA* gént klónozták, és szekvenciáját meghatározták. A 419 kodonból álló ORF szekvencia 89 aminosavval hosszabb, mint az érett fehérje. Az *eapA* génben három intron található. Az endotiapepszin fehérjében hibás mutáns úgy állították elő, hogy polimeráz láncreakcióval két non-szensz kodont hoztak létre a kódoló szekvencia elején. A mutáns DNS fragmentumot transzformációval vitték be egy benomil-rezisztens plazmidba, és így sikerült *eapY*-fenotípusú törzset előállítani.

Az *Agrocybe aegerita* kalaposgombafaj mitokondriális genomja: molekuláris klónozás, fizikai térképezés, és a gén elhelyezkedése

Moelinier, T., Barroso, G. stb.: The mitochondrial genome of the basidiomycete *Agrocybe aegerita*: molecular cloning, physical mapping and gene location. = *Current Genetics*, 21.k. 1992. p.499-505. á.2 t.2 h.19 T.Sz

Az *Agrocybe aegerita* kalaposgombafaj vad típusú törzséből tisztították a mitokondriális DNS-t. A DNS-ből gén-

bankot készítették *E.coli* baktériumban és az *Idegen* DNS-t a pBR322 plazmid *HindIII* klónozó helyére építették be. A gombafaj mitokondriális DNS fizikai térképét is elkészítették különböző restrikciós endonukleáz enzimekkel. A *Cox1*, *Cox2*, *Atp6* és *Atp8* gének pontos helyét is meghatározták élesztő mitokondriális gének homológ oligonukleotid próbáival. Az *Aaegerita* mitokondriális DNS-ének szerveződését összehasonlították közeli és távoli gombafajok mitokondriális genomjának szerveződésével.

Egy kloroplasztisz által kódolt groEL hőszok gén homológ szerkezete és kifejeződése egy termofil, egyszelű, vörösmozzat fajban

Maid, U., Steinmüller, R. stb.: Structure and expression of a plastid-encoded groEL homologous heat-shock gene in a thermophilic unicellular red alga. = *Current Genetics*, 21.k. 1992. p.521-525. á.5 t.1 h.32 T.Sz

Az *Escherichia coli* groEL lokusszal homológ gént azonosítottak az egyszelű, *Cyanidium caldarium* vörösmozzat kloroplasztisz genomjában. A gén teljes nukleotidszekvenciáját meghatározták, és összehasonlították a bakteriális, ill. magasabbrendű növényekből származó homológ génnel. Az aminosav szinten a *C.caldarium* gén 70%-ban hasonlít a *Synechococcus* kékmozzathoz és 52 %-ban a magasabbrendű növények kromoszómáisan kódolt homológ génjéhez. A génről származó mRNS és fehérje hőszok függését is megvizsgál-

ták különböző molekuláris módszerekkel.

A Cln3-Cdc28 fehérje kináz komplex képződését az élesztőben a proteolízis és a foszforiláció szabályozza

Tyers, M., Tokiwa, G. stb.: The Cln3-Cdc28 kinase complex of *S.cerevisiae* is regulated by proteolysis and phosphorylation. = *The EMBO Journal*, 11.k. 5.sz. 1992. p.1773-1784. á.9 t.2 h.62 T.Sz

Az élesztőben a Cln3 fehérje a Cdc28 fehérjéhez kapcsolódik, és egy aktív kináz komplexet képez, és ez a Cln3 fehérjét foszforilálja, és együtt csapható ki a 45 kilodalton mólusúlyú szubsztráttal. A *cdc34-2* mutáns allél jelenléte erősen megnöveli a Cln3-hoz kapcsolódó kináz aktivitást, de nem befolyásolja a Cln3 fél-életidejét. A Cln3-Cdc28 komplex nem specifikus foszfát kezeléssel inaktiválható, de a defoszforilált komplex kináz aktivitása ATP inkubáció hatására helyreáll. Valószínűnek látszik, hogy a foszfát csoportok autokatalitikusan kapcsolódnak a Cln3-Cdc28 komplexhez.



A kazein kináz II fehérje foszforilálja a topoizomeráz II fehérje eukarióta-specifikus C-terminális doménjét in vivo állapotban

Cardenas, M.E., Dang, Q. stb.: Casein kinase II phosphorylates the eukaryote-specific C-terminal domain of topoisomerase II *in vivo*. = *The EMBO Journal*, 11.k. 5.sz. 1992. p.1785-1796. á.9 t.2 h.57 T.Sz

A foszforiláció *in vitro* elősegíti a topoizomeráz II aktivitását. A topoizomeráz II élesztőben egy foszoprotein és a beépített foszfát mennyisége a mitózisban magasabb, mint a sejtciklus G1 fázisában. A foszforilációs helyeket *in vivo* állapotban elsősorban a kazein kináz II fehérje támadja meg. Az egyik kondicionális kazein kináz II mutánsban a nem permisszív hőmérsékleten a foszfát nem épül be a topoizomeráz II fehérjébe. A kazein kináz II által módosított helyek a topoizomeráz II fehérje C-terminális doménjében találhatóak.

Az emberi cdc2 gén sejtciklustól függő szabályozása

Dalton, S.: Cell cycle regulation of the human cdc2 gene. = *The EMBO Journal*, 11.k. 5.sz. 1992. p.1797-1804. á.5 h.59 T.Sz

Az emberi cdc2 gén csak az osztódó sejtekben fejeződik ki, és főleg a sejtciklus S és G2 fázisában. Az emberi cdc2 gén 5'-végl flankingszakaszát izolálták, és megállapították, hogy *in vivo* növekedés szabályozott promoterként viselkedik a kloramfenicol acetil-transzferáz /CAT/ riporter génnel összekapcsolva. A primer fibroblaszt sejtekben a sejtek növekedésének leállása esetén a pro-

moter sem működőképes, és ezt a hatást az UNC szakasz eredményezi. A promoter negatív szabályozásához a retinoblasztóma érzékeny géntermék /Rb/ is szükséges.

A vírussal fertőzött Chlorella-szerű moszatokban előforduló leggyakoribb in vitro transzlációs terméket kódoló gén jellemzése

Graves, M.V. és Meints, R.H.: Characterization of the gene encoding the most abundant *in vitro* translation product from virus-infected *Chlorella*-like algae. = *Gene*, 113.k. 1992. p.149-155. á.5 h.24 T.Sz

A PBCV-1 *Chlorella* vírus 33 kilodalton molsúlyú fehérjét kódoló gént klónozták, és nukleotid szekvenciáját meghatározták. A fertőzés után 20 perccel ennek a génnek az *in vitro* transzlációs terméke a leggyakoribb a *Chlorella* sejtekben. A 717 nukleotid hosszú ORF szekvencia egy 238 aminosavból álló fehérjét kódol és a 26 613 dalton molsúlyú fehérjét kódoló DNS-t egy 2752 bázispár hosszú HindIII DNS fragmentumra térképezték. Az ORF transzkripció analízise azt mutatta, hogy a gén a vírusban állandóan kifejeződik, és az mRNS mérete, ill. előfordulási gyakorisága is állandóan növekszik.



A poliubikvitin fehérjét kódoló gén /ubq-1/ kifejeződése transzgenikus *Caenorhabditis elegans* fonálféregben

Stringham, E.G., Jones, D. stb.: Expression of the polyubiquitin-encoding gene /ubq-1/ in transgenic *Caenorhabditis elegans*. = *Gene*, 113.k. 1992. p.165-173. á.5 h.48 T.Sz

A poliubikvitinfehérjétkódoló gén kifejeződését vizsgálták a lacZ riporter gén segítségével *Caenorhabditis elegans* fonálféreg fajban. A 938 bázispár hosszú ubq-1 promotert hordozó állatok szöveteiben a kapcsolt lacZ riporter gén mindenhol kifejeződött az embrionális állapotban. A későbbi életciklusban a gén főként az izomsejtekben fejeződik ki, és a promoter nagyobb deléciója kifejeződést csak kisebb mértékben befolyásolja. Az eredmények arra utalnak, hogy a gén kifejeződéséhez szükséges promoter elemek vagy az átfíródo szakaszban vagy sokkal távolabbi upstream, ill. downstream irányban találhatóak.

Az ornitin dekarboxiláz antizim fehérjét kódoló egyik patkány gén klónozása és jellemzése

Miyazaki, Y., Matsufuji, S. stb.: Cloning and characterization of a rat gene encoding ornithine decarboxylase antizyme. = *Gene*, 113.k. 1992. p.191-197. á.4 t.1 h.20 T.Sz

A szerzők az ornitin dekarboxiláz /Oaz/ fehérjét kódoló gént klónozták patkány májból készített genomikus génbankból. A teljes gént egy 4367 bázispár hosszú EcoRI DNS fragmentumra térképezték, és megállapították a cDNS klónok segítségével, hogy 5 exont tar-

talmaz. Az Oaz mRNS transzkripció start helye 75-76 bázispár távolságra upstream irányban helyezkedik el az első ATG kodontól. A gén 5'-végi flanking szakaszában azonosították a TATA szekvenciát és az Sp-1 fehérje kötőhelyeket. Ezenkívül azonosítottak egy Oaz pszeudogént is, amelyről nem képződik aktív fehérje.

Az élesztő és egér DNS primáz fehérjét kódoló alegység fehérjék fokozott mértékű termelődése és funkcionális vizsgálata

Santocanale, C., Locati, F. stb.: Overproduction and functional analysis of DNA primase subunits from yeast and mouse. = *Gene*, 113.k. 1992. p.199-205. á.5 t.1 h.34 T.Sz

Az eukarióta DNS primáz fehérjék két különböző alegységből /48-50 és 58-60 kilodalton molsúlyúak/ tevődnek össze. A klónozott gének nukleotid szekvenciájából származó aminosav szekvenciákat csak az egér és az élesztő esetében ismerjük, és ezek funkcionális doménjei nagy mértékben hasonlóak. Az egér DNS primáz fehérjék élesztőben kifejeződnek a konstitutív ADH1 és GAL1 promoterekről, de az egér fehérje nem képes az élesztő PLI1 és PRI2 gének letális és hőmérséklet-érzékeny fenotípusának komplementációjára. Ezért valószínű, hogy a fehérjék fontos faj-specifikus kölcsönhatásban játszanak szerepet a DNS replikáció során.



Egy rövid, ill. teljes hosszúságú savanyú kémhatású emberi fibroblaszt növekedési faktor fehérje nagymértékű szintézise E.coli baktériumban és vizes oldatban stabil változatának tisztázása

Zazo, M., Lozano, R.M. stb.: High-level synthesis in *E. coli* of shortened and full-length human acidic fibroblast growth factor and purification in a form stable in aqueous solutions. = *Gene*, 113.k. 1992. p.231-238. á.7 t.1 h.29 T.Sz

Az emberisavanyú fibroblaszt növekedési faktor/aFGF/fehérjétkódoló gén erősen hatékony kifejeződése lehetővé teszi a rövidített, ill. teljes hosszúságú aFGF fehérjeszintézisét. A teljes hosszúságú aFGF-154 formát eddig nem állították elő *E. coli* baktériumban génebeszeti módszerekkel. A magas termelékenységet fordított fázisú kromatográfiával sikerült elérni, de egyúttal kiderült, hogy ez az eljárás az előállított rekombináns aFGF fehérje kémiai és fizikai tulajdonságait kedvezőtlen módon befolyásolja.

A *Tilapia nilotica* halfaj növekedési hormon fehérjét kódoló génjének szerkezete és szekvenciája

Ber, R. és Daniel, V.: Structure and sequence of the growth hormone-encoding gene from *Tilapia nilotica*. = *Gene*, 113.k. 1992. p.245-250. á.6 h.26 T.Sz

A *Tilapia nilotica* halfaj növekedési hormon/GH/fehérjét kódoló génje erősen hasonlít a lazacfélék hasonló génjéhez, mivel 6 exont és 5 intront tartalmaz.

Ennek ellenére a *T. nilotica* GH gén elsődleges transzkriptuma /1666 nukleotid/ lényegesen rövidebb, mint az eddig ismert halfajokban. A transzkripció start helytől upstream irányba eső szakaszban jellemző TATA szekvencia található. A hasonlóság nem terjed túl ezen a szakszon a különböző hal- és emlős fajokkal való összehasonlítás esetén. Sikerült azonosítani a szövet-specifikus kifejeződésben szerepet játszó DNS szekvenciákat is.

A házimacska legfontosabb allergén fehérjéjét kódoló FDI gén kifejeződése és genomikus szerveződése

Griffith, I.J., Craig, S. stb.: Expression and genomic structure of the genes encoding FdI, the major allergen from the domestic cat. = *Gene*, 113.k. 1992. p.263-268. á.5 t.2 h.26 T.Sz

A házimacska legfontosabb allergén fehérjéjét kódoló gént/Ch1 és Ch2/ vizsgálták különböző molekuláris biológiai módszerekkel. A Ch1 génben két különböző leader szekvenciát /A és B/ találtak. Polimeráz láncreakcióval kimutatták, hogy a Ch1 és Ch2 fehérjéket kódoló gének együtt fejeződnek ki a bőrben és a nyálmirigyekben, és a Ch1 A leader szekvencia mindkét szövetben jobban kihasznált. A Ch2 különböző módon fejeződik ki a két különböző szövet típusban. A hosszabb forma /Ch2L/ 92 aminosav hosszú, és főként a nyálmirigyben képződik, míg a rövidebb változat /Ch2S/ 90 aminosav hosszú, és inkább a bőrben képződik nagyobb mennyiségben.

Az élesztő CDC25 génjének terméke specifikusan kötődik a katalitikusan inaktív Ras fehérjékhez in vivo állapotban

Munder, T. és Fürst, P.: The *Saccharomyces cerevisiae* CDC25 gene product binds specifically to catalytically inactive Ras proteins in vivo. = *Molecular and Cellular Biology*, 12.k. 5.sz. 1992. p.2091-2099. á.7 t.1 h.63 T.Sz

Az élesztő sejtciklust szabályozó CDC25 génje a RAS2 fehérje kifejeződését is szabályozza. Sikertült kimutatni, hogy az élesztő Cdc25 és Sdc25 fehérjék közvetlenül kötődnek in vivo állapotban a Ras1 és Ras2 fehérjékhez. A CDC25 gén terméke specifikusan kötődik a vad típusú Ras2 fehérjéhez, de nem kapcsolódik ugyanezen gén mutáns termékéhez. Az inaktív Ras1 fehérjét szintetizáló élesztő sejtekben a Cdc25 Ras2-höz való kötődése jelentős mértékben csökken. Ezt az okozhatja, hogy a Cdc25 főként a katalitikusan inaktív GDP-hez kötődő Ras2 fehérjéhez kötődik elsősorban.

A bázikus fibroblaszt növekedési faktor növeli az ideg növekedési faktor receptor fehérjét kódoló gén promóter aktivitását a CHP100 emberi neuroblasztóma sejt vonalban

Taiji, M., Taiji, K. stb.: Basic fibroblast growth factor enhances nerve growth factor receptor gene promoter activity in human neuroblastoma cell line CHP100. = *Molecular and Cellular Biology*, 12.k. 5.sz. 1992. p.2193-2202. á.9 h.63 T.Sz

Az emberi CHP100 neuroblasztóma sejt vonalban jól tanulmányozható az

ideg növekedési faktor receptor /NGFR/ fehérjét kódoló gén transzkripcióját szabályozó mechanizmus. A bázikus fibroblaszt növekedési faktor /bFGF/ morfológiail változásokat indukál a CHP100 sejtekben. A bFGF növelte a p75NGFR fehérje immunoreaktivitását és a p75NGFR mRNS mennyiségét. Az emberi NGFR gén 5'-végi 6.7 kilobázis hosszú flanking szakaszát kapcsolták a kloramfenikol acetil-transzferáz /CAT/ riportter génhez és megállapították, hogy a CAT aktivitás transzformáció után 8-szorosára növekedett.

A *Streptomyces coelicolor* bakterium whiB génje egy kisméretű transzkripciós faktor-szerű fehérjét kódol, amely a növekedéshez nem fontos, de a sporulációhoz feltétlenül szükséges

Davis, N.K. és Chater, K.F.: The *Streptomyces coelicolor* whiB gene encodes a small transcription factor-like protein dispensable for growth but essential for sporulation. = *Molecular and General Genetics*, 232.k. 1992. p.351-358. á.5 h.56. T.Sz

A *Streptomyces coelicolor* A3/2/ törzsének egyik sporulációra nem képes mutánsát /whiB218/ egy 87 aminosav hosszú fehérjét kódoló DNS fragmentum komplementáris képes. A fehérje sok tekintetben hasonlít a transzkripciós faktorokhoz és N-terminális végén egy savanyú alfa-hélix, míg C-terminális részén egy bázikus alfa-hélix motívumot hordoz. A whiB70 pontmutáció fenotípusa nem különböztethető meg a whiB218 deléció mutánsától. A közeli rokon *S.lividans* fajból származó whiB ho-

mológ gén csak egyetlen bázisban különbözik a *S.coelicolor* géntől.

A hasadó élesztő DNS reparációs mechanizmusban és mutagenézisban szerepet játszó rad9 génjének molekuláris klónozása és vizsgálata

Lieberman, H.B., Hopkins, K.M. stb.: Molecular cloning and analysis of *Schizosaccharomyces pombe* rad9, a gene involved in DNA repair and mutagenesis. = *Molecular and General Genetics*, 232.k. 1992. p.367-376. á.7 h.44 T.Sz

A *Schizosaccharomyces pombe* élesztőfaj rad9-192 mutáns allélje az ultraribolya és ionizáló sugárzással szemben fokozott érzékenységet mutat. Sikertült genomikus génbankból egy olyan plazmid klónt izolálni, amely helyreállította a mutáns sugárzás rezisztenciáját. A funkcióért felelős gént egy 1278 bázispár hosszú ORF szekvencia kódolja és a génben három kisebb intron található. A gén egy 426 aminosavból álló 47 464 dalton molsúlyú fehérjét kódol. A gén, ill. a fehérje nem mutat hasonlóságot a szekvencia bankokból ismert egyéb szekvenciákhoz.

A párosodási típus MATA gén klónozása a *Yarrowia lipolytica* élesztő fajból

Kurischko, C., Fournier, P. stb.: Cloning of the mating-type gene MATA of the yeast *Yarrowia lipolytica*. = *Molecular and General Genetics*, 232.k. 1992. p.423-426. á.3 h.24 T.Sz

A *Yarrowia lipolytica* élesztőfaj párosodási típus MATA génjét klónozták arra

alapozva, hogy a gén a sporuláció indukciójában játszik fontos szerepet. A B párosodási típusra nézve homozigóta törzset transzformáltak egy A típusú törzs Integratív génbankjából származó klónokkal. Az egyik sporulációra képes transzformánst izoláltak, amelyben egy 11.6 kilobázis hosszú génbankból származó DNS fragmentum található. Deléciós térképezéssel sikerült igazolni, hogy ez a DNS szakasz hordozza a MATA gént, és ebben a fajban nincsenek csendes MATA kópiák.

A *Pseudomonas putida* baktériumból származó egyik dnaA homológ gén kifejeződése és szabályozása

Ingmer, H. és Atlung, T.: Expression and regulation of a dnaA homologue isolated from *Pseudomonas putida*. = *Molecular and General Genetics*, 232.k. 1992. p.431-439. á.4 t.6 h.46 T.Sz

Az *Escherichia coli* dnaA génjével homológ gént izoláltak *Pseudomonas putida* baktériumból, és transzkripcióját vizsgálták mindkét fajban. Mindkét fajban a *P.putida* dnaA gén két promoterről íródik át, de az *E.coli*-ban a gén átíródását az *E.coli* DnaA fehérje fokozott mértékű termelődése jelentős mértékben gátolja. Ha a *P.putida* dnaA génjében az ATP kötőhelyen egy mutációt indukáltak, akkor a fehérje már nem volt képes az *E.coli* dnaA gén kifejeződését gátolni. A különböző baktérium fajokból származó DnaA fehérjék hasonlósága a DnaA szekvenciák felismerésén alapul.

Öt új elem játszik szerepet a hasadó élesztő mitózisának szabályozásában

Warbrick, E. és Fantès, P.A.: Five novel elements involved in the regulation of mitosis in fission yeast. = *Molecular and General Genetics*, 232.k. 1992. p.440-446. á.4 t.3 h.38 T.Sz

A Schizosaccharomyces pombe élesztő mitotikus szabályozásában fontos öt új genetikai elemet azonosítottak a win1-1 weel^{ts}cdc25^{ts} három mutációt hordozó törzs kondicionális letális fenotípusának gátlása segítségével. Az öt különböző gén /wis1⁺-wis5⁺/ egyike sem azonos az eddig azonosított mitózist szabályozó génekkel. Az új gének egyike sem gátolja a cdc25^{ts} törzs cdc fenotípusát, amely egy szerin/treonin protein kináz fehérjét kódol. A wis4⁺ a win1-1 mutáció egyik specifikus szuppresszora, míg a wis2⁺, ill. wis3⁺ különböző mutációk kombinációjából származó cdc fenotípusok gátlását eredményezi.

Hasznosak-e az elkülönített gének?

Kelly, P.D.: Are isolated genes "useful"? = *BIO/TECHNOLOGY*, 10.k.1.sz.1992.január, p.52,55, T.OMIKK

Egy találmány nem szabadalmaztatható, ha nem hasznos. Kérdés azonban, hogy mi tekinthető hasznosnak. Ez a kérdés élesen előtérbe került a Nemzeti Egészségügyi Intézet /NIH, Bethesda, MD/ egy sokszáz cDNS szekvenciára vonatkozó szabadalmi bejelentése kapcsán, melyeket C. Venter csoportja elkülönített el, mielőtt még bárki ismerné

az általuk kódolt fehérjék funkcióját. A "hasznosság" lesben áll, hogy eltöröljön sokszáz, egyébként ártatlan és nagyra értékelt biotechnológiai szabadalmat.

A kutatók nem szabadalmaztathatnak egy vegyületet egyszerűen úgy, hogy elkészítik azt és bizonyítják, hogy létezik, hanem be kell mutatniuk, hogy a vegyület hasznos. A legnagyobb ilyen jellegű legfelsőbb bírósági döntés 1966-ban született. Egy Manson nevű kutató ugyanis megkísérelte szteroid analógok készítési módjának szabadalmaztatását. Ezek ugyanis esetleges rákellenes tulajdonságaik miatt érdekesek lehetnek. Manson analógjainak feltehetően lenne piacuk, kutató laboratóriumok és gyógyszergyarak esetében, akik hajlandóak is megvásárolni ezeket vizsgálati célokra. Manson molekulái azonban még csak kutatások tárgyát képezték, és így nem voltak alkalmasak bármely kutatási célra, úgy hogy Manson módszere nem volt szabadalmaztatható. A Legfelsőbb Bíróság úgy döntött, hogy amíg nem származik belőle kézzelfoghatóan előny, nincs elegendő igazolás, hogy lehetővé tegye egy kérelmezőnek, hogy lefoglalja magának azt, ami esetleg egy széles területnek bizonyulhatna.

A döntés nincs ellene a hasznosság-nak a kutatás területén. Egyes kutatási eszközök, pl. kromatográfok vagy NMR /nukleáris mágneses rezonancia/ készülékek szabadalmaztathatók, ha a felhasználó számára a keletkező haszon specifikus és jelenleg is rendelkezésre áll. Laboratóriumi vizsgálatokra alkalmas módszerek és reagensek szintén szabadalmaztathatók, mivel ezek kutatási eszközök. Különbséget

kell ugyanis tenni a kutatásokhoz használt eszközök és a kutatás tárgyát képező vegyületek között. Így például szabadalmaztatható egy új gyógyszervizsgálati módszer, amely annak eldöntésére szolgál, hogy okoz-e az egy bizonyos fiziológiai reakciót állatokban, és vizsgálatokhoz szükséges reagensek is szabadalmaztathatók. Ezzel szemben a vizsgálat alá vont vegyületek csak akkor szabadalmaztathatók, ha azok kimutathatóan hasznosak farmakológiai szempontból.

Egy reagens vagy egy közbenső termék rendszerint kielégíti a hasznosság követelményét, hogyha fontos szerepe van egy hasznosnak ismert eljárásban, még ha az eljárás értéke minimálisnak tűnik is. Így pl. egy új eljárás során, amelynek a segítségével egy ismert terméket lehet előállítani, de kisebb kizozatal mellett, feltehetően más koncentrációkban keletkeznek a reakcióba nem lépett reagensek, melléktermékek és izomerek; ezen jellemzők közül néhány egy nap értékes lehet. Mivel az új eljárásra adott szabadalom nem állíthat meg senkit, hogy egyik régi eljárással ne állítsa elő azt a vegyületet, nagyobb a lehetséges haszna, mint a kockázata a szabadalom megadásának. A szabadalmi politika egyik fő szempontja, hogy bátorítsa a kutatást és az innovációt, hogy ösztönözze a szabadalom tulajdonosát az új eljárással kapcsolatos kutatások folytatására.

A hasznosság mint követelmény rugalmas és ésszerű, küszöbértéke rendszerint kicsi. Így minden új anyag, eszköz vagy eljárás, melynek segítségével egy ismert hasznosságú vegyület előállítható, általában szabadalmaztatható.

Ezzel szemben ha a kutató egy vadonatúj molekulán dolgozik, amit szintetikusán állított elő, vagy baktériumot különített el, amely egy olyan molekulát választ ki, amelyet még senki sem ismer, akkor az nem szabadalmaztatható, amíg be nem bizonyítja, hogy a molekula hasznos, még akkor sem, ha más laboratóriumok mg-onként akár 10.000,- USD-t is adnának érte.

Két nagy bírósági döntés enyhítette a Manson-féle ügy merev előírását, mégpedig a Campbell-féle 1973-ban és a Nelson-féle ügyben 1980-ban hozott ítélet. Az előbbi szerint kísérleti gyógyszerek szabadalmaztathatók akkor is, ha a vizsgálati eredmények állatkísérletekből eredtek. A Nelson-féle ügyben hozott döntés ezt kiterjesztette még a csak in vitro végzett kísérletek eredményeire is. Ez a döntés kifejezetten biztató a kutatók számára, mert eszerint sokkal gyorsabban és könnyebben lehet a betegségekkel szemben harcolni, ha nagy mennyiségű vegyi anyag áll rendelkezésre, melyeknek jól ismert farmakológiai aktivitásuk van. A Legfelsőbb Bíróság azonban nem helyezte hatályon kívül a Manson-féle döntését, többek között azért sem, mert még senki sem fellebbezte meg.

Mi történik akkor, ha valaki megpróbálja a korábbi rendelkezéseket és döntéseket alkalmazni egy újonnan elkülönített humán gént tartalmazó plazmidra vonatkozó szabadalomra. Így pl. a 4.721.672 sz. USA szabadalom, mely a Harvard Egyetemé, elkülönített génekre, vektorokra és átalakított sejtekre vonatkozik, amelyek az angiogenezis faktort /AGF/ fejezik ki, mely egy vaszkularizációt fokozó hormon. Az AGF-

nek fontos szerepe van a sebek gyógyulásánál és a rák esetében, mivel számos tumor választ ki AGF-et, ami a véredényeket ösztönzi, hogy a tumor irántába növekedjenek.

Az AGF fehérje blokémiail szerepe 1985 szeptemberében már ismert volt, amikor a szabadalmi bejelentés történt. Ezért a hasznosság biztosítása érdekében a bejelentés rögzítette, hogy a találmány szerinti eljárással készített fehérjék hasznosak rosszindulatú betegségek diagnosztizálása szempontjából, a sebek gyógyulásának elősegítésére és egyéb terápiás célokra. Kérdés, hogy ez az állítás 1985 szeptemberében igaz volt-e? A Hivatal elismerte a találmány hasznos voltát és jóváhagyta a bejelentést. Ettől függetlenül a találmány jogi úton megtámadható. Kérdés ugyanis, hogy a rekombináns AGF 1985-ben hasznosabb volt-e, mint a Manson-féle szteroid volt a 60-as években. Amíg a rekombináns fehérjék fejlesztése odáig nem jut el, ahol specifikus előnyt tudnak nyújtani abban a formában, amivel a szabadalom bejelentésekor rendelkeznek, akkor úgy tűnik, hogy megsértik a Legfelsőbb Bíróságnak a Manson-ügyben hozott döntését.

A hasznossággal kapcsolatosan támasztott kételyek természetesen nem teszik automatikusan érvénytelenné a szabadalmakat, hanem előbb egy keresetet kell benyújtani a bírósághoz. A peres eljárás az egyedüli biztos módszer a szabadalmak megbízhatóságának eldöntésére. A NIH által benyújtott cDNS bejelentés éppen azt a fajta bírósági döntést eredményezheti, ami katalizálja a peres eljárást.

Érvelhetünk úgy, hogy a szabadalmak célja a kutatás előmozdítása lévén az, hogy egy újonnan elkülönített gén, amely valamilyen ismert funkciójú humán fehérjét kódol, szabadalmaztatható legyen. Ennek hiányában, különösen a gyógyszeriparban dolgozó kutatók eltitkolhatják az elkülönített gén szekvenciákat. Ezenkívül a gyógyszergyárak bizonyos fokú szabadalmi védetség nélkül nem fognak nagyobb kutatási témákat ellátni. Ezek indokolt érvek, de a Manson-ügyben az ellentétes érvek nyertek, mert a Legfelsőbb Bíróságot nyíltan aggasztotta, hogy egy még ki nem fejlesztett gyógyszer előállításí módszerére adott szabadalom inkább akadályozni fogja az ezekkel a gyógyszerrel kapcsolatos kutatásokat.

Lehet azzal is érvelni, hogy az emberi szervezetben jelenlévő bármelyik fehérje eleve hasznos. Így pl. az AGF fehérje jelentős szerepet tölt be a növekedés szempontjából és elősegíti az emberek sebeinek gyógyulását. Így egy plazmidnak egy AGF génnel eredendően hasznosnak kell lennie. Az igényponatok azonban rendszerint nem a fehérjékre vonatkoznak, hanem a vektorokra és az elkülönített, megtisztított AGF előállításának módszereire. Egy fehérje kismennyiségben bizonyos szövetekben kedvező lehet, de bőr alá, vagy érbe fecskendezve több kárt okoz, mint amennyi hasznot.

Abban az esetben, ha valami csak arra való, hogy tanulmányozzák, akkor annak nincs gyakorlati haszna és ezért nem szabadalmaztatható, szemben azal, ami a használhatóság szempontjából praktikus.

Kérdés, hogy az újabban elkülönített gének praktikusak-e ilyen szempontból? Tény, hogy a fehérjét kódoló, elkülönített humán gének hasznosak, mert korlátlan mennyiségben képesek fehérjéket képezni. Hogy ez praktikus előnye-e, az attól függ, hogy maguk a megtisztított fehérjék nyújtanak-e gyakorlati hasznot. Ha évekig tartó K+F munkákra van szükség, mielőtt egy fehérjét diagnosztikai célokra alkalmazni lehet, és még több idő szükséges, hogy terápiailag célokra való alkalmassága bizonyítható legyen /állatkísérletek keretében/, akkor ismét visszajutottunk az eredeti kérdéshez. Mielőtt a Találmányi Hivatal megkísérli a NIH cDNS kérdés tisztázását, célszerű lenne, ha megoldanák az ismert funkciókkal bíró fehérjéket kódoló gének hasznos voltának kérdését. Ellenkező esetben egy negatív válasz a NIH-nek, ami valószínűnek látszik, a Manson-ügyben hozott döntés merev követelményeinek visszaállításával nagy csapást jelentene a biotechnológia számára.

Az egér belében működő zsírsavat kötő fehérjét kódoló gén: nukleotidszekvenciája, fejlődési stádiumtól és szövettípustól függő kifejeződése és fehérje termékének lehetséges szerkezete

Green, R.P., Cohn, S.M. stb.: The mouse intestinal fatty acid binding protein gene: nucleotide sequence, pattern of developmental and regional expression, and proposed structure of its protein product. = DNA and Cell Biology, 11.k. 1.sz. 1992. p.31-41. á.7 h.41 T.Sz

Az egér bélspecifikus zsírsavkötő fehérjét kódoló génjét /I-FABP/ klónozták és nukleotidszekvenciáját meghatározták. Az egér, emberi és patkány I-FABP gének szekvenciáját összehasonlítva három konzervatív domént azonosítottak az 5'-végi nem átíródó szakaszban. A génről képződő mRNS előfordulását is vizsgálták és megállapították, hogy a tér- és időbeli kifejeződés egérben és patkányban nagyjából hasonló. A specifikus kifejeződési mintázathoz szükséges DNS szakaszokat is azonosították. Az egér I-FABP fehérjében a 69. aminosav a patkánnyal szemben prolin és ez a fehérje ligandumkötő képességét befolyásolja.

Az emberi inzulinszerű növekedési faktor-I receptor gén 5'-végi flanking szakaszának klónozása és jellemzése

Mamula, P.W. és Goldfine, I.D.: Cloning and characterization of the human insulin-like growth factor-I receptor gene 5'-flanking region. = DNA and Cell Biology, 11.k. 1.sz. 1992. p.43-50. á.5 h.38 T.Sz

Az emberi inzulinszerű növekedési faktor-I /IGFIR/ promoterét hordozó klónt izoláltak a 15.kromoszómából készített génbankból. A promoterben nincs TATA és CAAT szekvencia, de megtalálhatók az Spl, AP-2 és az epidermisz növekedési faktor receptor transzkripció faktor /ETF/ kötőhelyei. Ha a promoterszerű szakaszt a kloramfenikol acetil-transzferáz /CAT/ riporter génhez kapcsolták, akkor a heterológ gén megfelelő módon kifejeződött. Delecíós analízissel igazolták, hogy az 5'-

végi nem lefordítódó szakasz is szerepet játszik a promóter aktivitásában.

A neurotrofin-3 fehérje kötődése idegsejti receptoraihoz és kölcsönhatása az ideg növekedési faktoral és az agyi eredetű neurotrofikus faktoral

Rodriguez-Tébar, A., Dechant, G. stb.: Binding of neurotrophin-3 to its neuronal receptors and interactions with nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor. = The EMBO Journal, 11.k. 3.sz. 1992. p.917-922. á.5 h.37 T.Sz

Az embrionális csirke érző neuronokban alacsony és magas aktivitású neurotrofin-3 /NT-3/ receptorok fordulnak elő. A szerkezetileg hasonló ideg növekedési faktoralhoz /NGF/ és agyi eredetű neurotrofikus faktoralhoz /BDNF/ hasonlóan az NT-3 kötődik az alacsony affinitású NGF receptor molekulához /LNR/. Az NT-3 magas affinitású idegsejti receptorokhoz való kötődését nagy túlsúlyban adagolt BDNF vagy NGF segítségével lehet megakadályozni. A LNR három hasonló ligandumhoz azonos affinitással, de különböző sebességgel állandóval képes kötődni.

A ciklin A fehérje két különböző ponton szükséges az emberi sejtek sejtciklusához

Pagano, M., Pepperkok, R. stb.: Cyclin A is required at two points in the human cell cycle. = The EMBO Journal, 11.k. 3.sz. 1992. p.961-971. á.8 h.74 T.Sz

A ciklin fehérjék fontos szerepet játszanak az eukarióta sejtek sejtciklusá-

nak szabályozásában. Az emberi ciklin A fehérjét kódoló gént azonosították a hepatitisz B vírus integrációs helye segítségével rákos máj sejtvonalban. A ciklin A általában az E2F transzkripciós faktoralhoz kapcsolódik és ezt az E1A onkogén terméke szünteti meg. Az anti-ciklin A antitesttel injekciózott emberi sejtekben a DNS szintézis és a mitózis különböző időpontokban gátolható. A ciklin A a cdk2 és cdc2 fehérjékhez kötődve két eltérő ciklin A kináz aktivitást mutat a sejtciklus S, III. G2 fázisában.

Egy átvihető és csillapító hatású domén található a thyroid hormon receptorban, a v-erbA onkogén termékében és a retinálsav receptorban

Baniahmad, A., Köhne, A.C. stb.: A transferable silencing domain is present in the thyroid hormone receptor, in the v-erbA oncogene product and in the retinoic acid receptor. = The EMBO Journal, 11.k. 3.sz. 1992. p.1015-1023. á.6 t.3 h.50 T.Sz

A gén transzkripciójának gátlási mechanizmusát csillapításnak nevezik és jelenleg ezt a folyamatot csak kevéssé tudjuk értelmezni. A szerzők bizonyítják, hogy a thyroid hormon receptor /TR/ és a v-erbA onkogén csillapításért felelős doménjel átvihetők egy heterológ DNS-kötő doménbe. Deléciós analízissel igazolták a domén mindkét végén megtalálható savas és hidrofíll aminosavak fontos szerepét. Ezenkívül még azt is kimutatták, hogy a hasonló szerkezetű retinálsav receptorban /RAR/ is megtalálható egy csillapító domén, amelynek aminosav sorrendje is hasonló az előző két doménhez.

Egy konzervatív szakasz azonosítása, amely a szteroid hormonreceptorok általtörténőhormonfüggő transzkripciók aktiválásához feltétlenül szükséges

Danielian, P.S., White, R. stb.: Identification of conserved region required for hormone dependent transcriptional activation by steroid hormone receptors. = *The EMBO Journal*, 11.k. 3.sz. 1992. p.1025-1033. á.7 t.1 h.82 T.Sz

Az ösztrogén receptorban a transzkripciót az N-terminális TAF-1 és a hormon-kötő doménben található TAF-2 elem aktiválja. A TAF-2 aktivitásához a hormon-kötő domén 538. és 552. aminosavak közötti szakasza is szükséges az egér ösztrogén receptorban. Ez a rövid peptid sok más sejtmagi hormon receptor molekulában is megtalálható. Az ezen a szakaszon indukált pontmutációk jelentősen csökkentették a ligandumtól függő transzkripciót, de nem befolyásolták szteroid vagy DNS-kötő tulajdonságait.

Az emberi immunhiányt okozó vírus reverz transzkriptáz fehérje domén szerkezete

Lederer, H., Schatz, O. stb.: Domain structure of the human immunodeficiency virus reverse transcriptase. = *The EMBO Journal*, 11.k. 3.sz. 1992. p.1131-1139. á.6 t.2 h.43 T.Sz

Az emberi immunhiányt okozó vírus /HIV-1/ p51 és p66 alegységeinek térbeli elrendeződését határozták meg a neutron szóródás módszerével. A reverz transzkriptáz egy viszonylag lapos molekula, amely leginkább ellipszoidra hasonlít és a féltengelyek mérete 5.2, 4.8

és 1.4 nm. A p51 és p66 alegységek centruma egymástól 3.3 nm távolságra található. A p15 domén az ellipszoid hosszú tengelye mentén helyezkedik el 5 nm távolságra a p51d domén centrumától, amely a p66 alegység része és 5.3 nm távolságra van a szomszédos p51s alegység centrumától.

Az *Aspergillus niger* nitrát redukáz fehérjét kódoló *niaD* génupstream nukleotid és aminosavszekvenciájának összehasonlítása

Unkles, S.E., Campbell, E.I. stb.: The *Aspergillus niger niaD* gene encoding nitrate reductase: upstream nucleotide and amino acid sequence comparisons. = *Gene*, 111.k. 1992. p.149-155. á.5 h.34. T.Sz

Az *Aspergillus niger niaD* génjének nukleotidszekvenciáját meghatározták, és megállapították, hogy a 867 aminosavból álló és 97 kilodalton molsúlyú nitrát redukáz fehérjét kódolja. Az *Aspergillus nidulans* fajból származó *niaD* génnel összehasonlítva kiderült, hogy mindkét fajban hat kisebb intron található. A nitrát redukáz kódoló *niaD* gén szorosan kapcsolódik a *niaD*-génhez, de ellenkező irányban íródik át. A gombából származó nitrát redukáz fehérjék jelentős mértékben hasonlítanak a magasabbrendű növények nitrát redukáz fehérjéihez.



A virális glükoproteinek hidrofób doménjeiben létrehozott deléciók növelik a fehérjék mennyiségét az *Escherichia coli* baktériumban

Sisk, W.P., Bradley, J.D. stb.: Deletion of hydrophobic domains of viral glycoproteins increases the level of their production in *Escherichia coli*. = *Gene*, 112. 1992. p.157-162. á.3 t.1 h.33 T.Sz

A virális glükoproteinek kódoló gének túlzott mértékű kifejeződése *Escherichia coli* baktériumban mérgező hatású lehet és a fehérje mennyisége is csökken. Ez a jellegzetesség egy 15-20 aminosav hosszú hidrofób doménnek tulajdonítható. A HIV-1 és HTLV-1 vírusok burok glükoproteinjeit kódoló génekből a hidrofób doméneket kódoló részeket hely-specifikus mutagenézissel eltávolították és megállapították, hogy ezután a gazdasejtekre gyakorolt toxikus hatás csökkent és a rekombináns fehérjék mennyisége igen jelentős mértékben növekedett.

A fagyás elleni védelmet biztosító fehérjéket kódoló gének tandem ismétlődésben fordulnak elő

Davies, P.L.: Conservation of antifreeze protein-encoding genes in tandem repeats. = *Gene*, 112.k. 1992. p.163-170. á.4 t.1 h.29 T.Sz

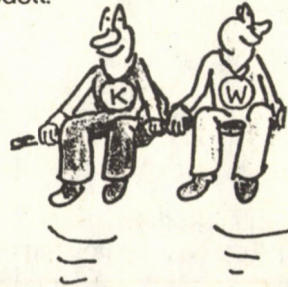
A lepényhal fagyás elleni védelmet biztosító fehérjét kódoló génjeinek egy része tandem ismétlődő egységekben található. A tandem gének szekvenciája egymáshoz sokkal jobban hasonlít, és

ezek kódolják a két legfontosabb fehérjét/HPLC-6 és HPLC-8/. A tandem ismétlődő egységeken kívül AFP gének sokkal jobban különböznek egymástól és a vizsgált 5 gén egy kivételével jelentős méretű inszerciákat, deléciókat és egy-egy átrendeződéseket hordoz. A HPLC-6 és HPLC-8 fehérjéket kódoló gének egymás szomszédjai és a tandem gének 3'-végi flanking szakaszaiban is kisebb eltérések találhatók.

Fagyás elleni védelmet biztosító fehérjék pszeudogénjei

Davies, P.L. és Gauthier, S.Y.: Antifreeze protein pseudogenes. = *Gene*, 112. 1992. p.171-178. á.5 t.1 h.26 T.Sz

Az 1. típusú fagyás elleni védelmet jelentős fehérjéket /AFP/ kódoló 3 gént /11-3, F2 és 5a/ klónozták a *Pseudopleuronectes americanus* lepényhal fajból. Mindhárom gén szorosan kapcsolódik, de a 11-3 és az f2 valójában pszeudogének, mivel az 5'-végi exonjuk vagy hiányzik vagy stop kodont hordoz. A géncsalád egyes tagjainak intron szekvenciáit vizsgálva megállapították, hogy a 11-3 és F2 gének valószínűleg pszeudogén állapot elérése után keletkeztek duplikációval. Az 5a gén is lehet pszeudogén, mivel a TATA szekvenciája mutációt szenvedett.



Az Alzheimer kórbán szerepet játszó amiloid prekursorfehérjét kódoló gén pozitív és negatív szabályozó elemeinek vizsgálata egérben

Izumi, R., Yamada, T. stb.: Positive and negative regulatory elements for the expression of the Alzheimer's disease amyloid precursor-encoding gene in mouse. = *Gene*, 112.k. 1992. p.189-195. á.6 h.38 T.Sz

A szerzők az Alzheimer kórbán fontos amiloid prekursor fehérjét /APP/ kódoló gén egér homológját vizsgálták. A gén promoter szakasza erősen hasonlít az emberi gén hasonló részéhez. A gén promoterét a kloramfenikol acetil transzferáz fehérjét kódoló cat riporter génhez kapcsolták és a hibrid gént transzfekcióval vitték be különböző sejtvonalakba. A promoter deléciós analízisével igazolták, hogy a -153 és -100 bázispárok közötti szakaszra három negatív, míg a -100 és -37 bázispárok közötti részre egy pozitív szabályozó elem térképeződik.

A heterológ fehérjék szintézisének fokozott indukciója epitheliális sejtekben, amelyek egy glükokortikoid-érzékeny vektort tartalmaznak

Hirt, R.P., Poulain-Godefroy, O. stb.: Highly inducible synthesis of heterologous proteins in epithelial cells carrying a glucocorticoid-responsive vector. = *Gene*, 111.k. 1992. p.199-206. á.8 h.30 T.Sz

Egy glükokortikoid-érzékeny vektort írtak le, amely lehetővé teszi a stabi-

lan transzformált emlős sejtvonalak cDNS-ének fokozott kifejeződését. A pLK-neo vektor az egér emlőrák tumorvírus LTR promoterét, egy hormon szabályozó elemet és az SV 40 transzkripciós egységbe épített genetin rezisztenciát kódoló gént tartalmaz. Ezenkívül a heterológ cDNS-ek beépítésére egy polilinker helyet is felhasználtak. Az MDCK sejtekben dexametazon hatására a fehérje szintézis 10-200-szorosára növekedett a rekombináns fehérjétől, ill. a használt sejtvonaltól függően.

Egy DNS klón izolálása, amely az emberi tumor nekrosis faktor receptor fehérjét kódoló gén kifejeződését indukálja

Garret, M., McHendry-Rinde, B. stb.: Isolation of a clone which induces expression of the gene encoding the human tumor necrosis factor receptor. = *Gene*, 111.k. 1992. p.215-222. á.7 h.56 T.Sz

Az emberi nyiroksejtekből készített expressziós génbankból izoláltak egy olyan klónt, amely az emberi tumor nekrosis faktor receptor /TNFR/ fehérjét kódoló gén fokozott kifejeződését indukálta. Ezekben a transzformáns sejtekben 150 000 receptor molekula képződik sejtenként, és a sejtekben az extrakromoszomális plazmidokban több TNFR gén található. A TNFR túltermelő sejtekből izolálták az episzómákat és ezzel *Escherichia coli* sejteket transzformáltak. Az egyik izolált klónban 10 kilobázis hosszú emberi DNS-t találtak, amely a TNFR gén egy részét és több Alu szekvenciát is hordozott.

A csirke növekedési hormon kódoló gén és promoter szakaszának szerkezete

Tanaka, M., Hosokawa, Y. stb.: Structure of the chicken growth hormone-encoding gene and its promoter region. = *Gene*, 112.k. 1992. p.235-239. á.4 h.24. T.Sz

A szerzők a csirke növekedési hormont kódoló gént klónozták és az 500 bázispár hosszú 5'-flanking szakaszt beleértve nukleotidszekvenciáját meghatározták. A csirke növekedési hormon/cGH/ gén 5 exont és 4 intront tartalmaz, mint az emlősök hasonló génjei, de a cGH gén jelentősen hosszabb az intronok nagyobb mérete miatt. A transzkripció start helye az első kodontól upstream irányban 56 bázispár távolságra található. A cGH promoter szakasza nem hasonlít az emlős GH gének hasonló szakaszára egy 24 bázispár hosszú rövid régió kivételével.

A disznó I. típusú kollagenáz a béta-galaktosidáz fehérjével együtt mint fúziós protein képvisződik az *Escherichia coli* baktériumban

O'Hare, M.C., Clarke, N.J. stb.: Production in *Escherichia coli* of porcine type-I collagenase as a fusion protein with β -galactosidase. = *Gene*, 111.k. 1992. p.245-248. á.5 t.1 h.10 T.Sz

A disznó I. típusú kollagenáz fehérjét /Colg-1/ fúziós peptid formájában termeltették *E.coli* baktériumban a pAX5 expressziós vektor segítségével. A fúziós fehérje N-terminális végén egy béta-galaktosidáz szekvencia található, míg

a másik végén egy vér koagulációs faktor Xa hasítóhelyét kapcsolták a Colg-1 génhez. A rekombináns kollagenáz a fúziós fehérje formájában is biológiailag aktív és Xa faktor kezelés hatására pontos N-terminális szekvenciával szabadul fel. A rekombináns Colg-1 fehérje megfelelő térszerkezetet vesz fel, és így röntgenkristallográfiai vizsgálatokra is felhasználható.

Fehérje kötőhelyek az emberi timidin kináz fehérjét kódoló gén promoterében

Arcot, S.S. és Deiniger, P.L.: Protein binding sites within the human thymidine kinase promoter. = *Gene*, 111.k. 1992. p.249-254. á.4 h.26 T.Sz

A HeLa sejtek magyából készített kivonattal és az Spt tisztított transzkripciósfaktorral végeztek DNáz I analízist és meghatározták az emberi timidin kináz fehérjét kódoló gén promoterében található különböző fehérje kötőhelyeket. A promoterben két CCAAT elem és több Spt kötőhely, valamint egy ismeretlen fehérje kötőhely található. A két CCAAT elem egymástól való távolsága fontos a fehérje kötéshez és a transzkripció aktiválásához. A CCAAT elemek egyedül nem képesek optimális promoter aktivitást biztosítani.



A retinoblasztóma fehérje fizikailag kapcsolódik az emberi cdc2 kináz fehérjéhez

Hu, Q., Lees, J.A. stb.: The retinoblastoma protein physically associates with the human cdc2 kinase. = *Molecular and Cellular Biology*, 12.k. 3.sz. 1992. p.971-980. á.8 h.83 T.Sz

A retinoblasztóma érzékenységet biztosító gén fehérje terméke /pRB/ aktivitását a foszforiláció szabályozza. Az emberi pRB fehérjével szemben monoklonális ellenanyagokat készítettek, és ezekkel vizsgálták a fehérje blokmial tulajdonságait. Az ellenanyagokkal sikerült kimutatni, hogy a pRB-hez kapcsolódik a sejtciklust szabályozó p34cdc2 kináz fehérje. Ez a kináz foszforilálja a pRB-t, és így aktivitásának szabályozásában fontos szerepet játszik. A kináz aktivitása nem figyelhető meg a G1 fázis késői szakaszában, de az S fázisban és a sejtciklus további szakaszaiban már jól észlelhető.

Az élesztő hősokk transzkripció faktorhoz kapcsolt egyik heterológ transzkripciót aktíváló domén hőmérsékletfüggő szabályozása

Bonner, J.J., Heyward, S. stb.: Temperature-dependent regulation of a heterologous transcriptional activation domain fused to yeast heat shock transcription factor. = *Molecular and Cellular Biology*, 12.k. 3.sz. 1992. p.1021-1030. á.5 t.6 h.39 T.Sz

Az élesztő hősokk transzkripció faktor /HSF/ alacsony hőmérsékleten csak gyengén indukálja a hősokk gének transzkripcióját. A szerzők a HSF

DNS-kötő doménjét kódoló szekvenciát kapcsolták a herpesz simplex vírus Vp16 gén transzkripciót aktiváló doménjéhez. A hibrid gén alacsony transzkripciót mutat normális hőmérsékleten, míg hősokk esetén transzkripciója nagy mértékben növekszik. A fűzős gén deléciós analízisével térképezték a transzkripció szabályozásban fontos szekvenciákat, és olyan pontmutációkat indukáltak, amelyek konstitutív transzkripciót eredményeztek.

Egy szövetspecifikus enhanszer vizsgálata: az ARF6 szabályozza a zsírszövetek génkifejeződését

Graves, R.A., Tontonoz, P. stb.: Analysis of a tissue-specific enhancer: ARF6 regulates adipogenic gene expression. = *Molecular and Cellular Biology*, 12.k. 3.sz. 1992. p.1202-1208. á.8 h.33 T.Sz

A szerzők egy 518 bázispár hosszú enhanszer elemet azonosítottak a zsírsajt-specifikus P2 génben. Az enhanszeren belül részletesen jellemeztek egy 122 bázispár hosszú szakaszt, amely differenciáltsági állapottól függő génkifejeződést irányít a zsírszöveti sejtekben. A teljes enhanszer aktivitáshoz több cisz-regulátor is szükséges. Az ARE2 és ARE4 elemek kötik az ARF2 sejtmagi fehérje faktort különböző sejt-típusokban. Az ARE6 és ARE7 elemek viszont az ARF6 faktort kötik, amely csak a zsírszövetek magvából készített kivonatban található meg.



A szulfonilurea és imidazolinon rezisztencia egy olyan acetohidroxisav szintáz génnek tulajdonítható, amelyben különböző mutációk biztosítják a szelektív rezisztenciát

Hattori, J., Rutledge, R. stb.: Multiple resistance to sulfonylureas and imidazolinones conferred by an acetohydroxyacid synthase gene with separate mutations for selective resistance. = *Molecular and General Genetics*, 232.k. 1992. p.167-173. á.4 t.1 h.34 T.Sz

Az *Arabidopsis thaliana* növényfaj GH90 imidazolinon rezisztens vonalából klónozták a rezisztenciát biztosító acetohidroxisav szintáz /AHAS/ fehérjét kódoló *imr1* gént. Az AHAS gén karfiolmozzaikvírus 35S promoterről történő kifejeződése transzgenikus dohány növényekben imidazolinon rezisztenciát okozott. Ha az AHAS fehérjét kódoló génbe a *csrl* mutációt is bevitték, akkor a növény a szulfonil-ureá-val szemben is rezisztenssé vált. Az eredmények világosan mutatják, hogy az ugyanazon génben indukált különböző mutációk többszörös rezisztenciát eredményezhetnek.

A *Magnaporthe grisea* patogén gombafaj egyik kutináz fehérjét kódoló CUT1 génjének klónozása és vizsgálata

Sweigard, J.A., Chumley, F.G. stb.: Cloning and analysis of CUT1, a cutinase gene from *Magnaporthe grisea*. = *Molecular and General Genetics*, 232.k. 1992. p.174-182. á.6 t.2 h.46 T.Sz

A *Colletotrichum gloeosporioides* gombafaj cDNS-t heterológ próbaként

használva klónozták a *Magnaporthe grisea* kutináz génjét és nukleotidszekvenciáját meghatározták. A gén a *M. grisea* genomban egy példányban fordul elő, és egy 228 aminosavból álló fehérjét kódol, amely 74 %-ban hasonlít a *C. gloeosporioides* kutináz fehérjéhez. A génen belül két kisebb intron található. A gén csak akkor fejeződik ki, ha a kutin az egyetlen szénforrás, és a kifejeződés mértéke arányos a transzformációval bevitt CUT1 génnek számával.

Az *Azospirillum brasilense* nifH gén transzkripcióját a NifA és NtrA pozitívan, míg a sejt nitrogéntartalma negatívan szabályozza

VandeBroek, A., Michiels, J. stb.: Transcription of the *Azospirillum brasilense* nifH gene is positively regulated by NifA and NtrA and is negatively controlled by the cellular nitrogen status. = *Molecular and General Genetics*, 232.k. 1992. p.279-283. á.2 t.1 h.33 T.Sz

Az *Azospirillum brasilense* nifH-uidA fúziós génjének kifejeződését tanulmányozták a *nifA*, *ntrA* és *ntrC* mutációkat hordozó *A. brasilense* és *Rhizobium meliloti* törzsekben. A gén aktiválódott a vad típusú *R. meliloti* és *NtrC*-törzsekben mikroaerob körülmények mellett, de a *NifA*-, ill. *NtrA*-törzsekben ez nem megy végbe. A fúziós gén vad típusú *R. meliloti*-ban a késői szimbiotikus zónában fejeződik ki, de az *A. brasilense*, nifH gén közvetlenül nem aktiválható az *NtrC* fehérje segítségével. A nifH gén *A. brasilense* fajban csak csökkent nitrogéntartalom esetén működőképes.

A cdc10+ sejtciklus gén irányítja a DNS szintézis géneket az élesztőben

Lowndes, N.F. és McInerney, C.J.: Control of DNA synthesis genes in fission yeast by the cellcycle gene cdc10+. = Nature, 355.k. 6359.sz. 1992. p.499-453. á.3 h.20 T.MTA

A Saccharomyces cerevisiae-ben a sejtciklus kontroll, a DNS szintézisen túl, a koordinált expresszió kerestül, azoknak a géneknek a késői G1 fázisában történik, melyek a DNS szintézishez szükségesek. Szerzők azonosítottak egy kötő aktivitást, a DSC1-t, melyek felismerik ezeket a szekvenciákat egy sejtciklusfüggő módban. A távoli rokon, Schizosaccharomyces pombe élesztőben csak egy ismert DNS szintézis gén, a cdc22+ van, mely kódolja a ribonukleotid redukáz egy alegységét, és periodikusan kiválik a késői G1-ben. Beszámolnak egy olyan kötő aktivitásról, mely hasadó gombákban van, és hasonló a sarjadó gombákban lévő DSC1-hez. A szerzők kimutatták, hogy a cdc10+ gén egy kötő aktivitás egyik alkotóeleme.

A feltételezett szagló receptor gén család tagjainak expressziója emlős csíra sejtekben

Parmentier, M. és Libert, F.: Expression of members of the putative olfactory receptor gene family in mammalian germ cells. = Nature, 355.k. 6359.sz. 1992. p.453-455. á.3 h.12 T.MTA

Genom és komplementer DNS klónok egy olyan szeriálját izolálták, melyek kódolják a G fehérje-összekapcsolt receptorok új feltételezett tagjait. A nem-azonosított receptorok (árva recepto-

rok) között egy humán klónt (HGMP07) jellemeztek azáltal, hogy jelen volt saját másolata, a testisben, illetve azáltal, hogy a gének egy olyan órlás alcsaládjához tartoznak, melyek megosztják az extenzív szekvencia hasonlóságokat. A szekvencia összehasonlítások azt mutatták, hogy ez a gén alcsalád a klónozott feltételezett patkány szagló receptorok humán másolata. A szerzők eredményei arra utalnak, hogy egy közös gének család kódolja a szagló receptorokat és a csíra sejt receptorokat a megtermékenyítés során.

A TFIIIF transzkripciós iniciációs faktor nagyméretű alegységéhez szükséges cDNS jellemzése

Aso, T. és Vasavada, H.A.: Characterization of cDNA for the large subunit of the transcription initiation factor TFIIIF. = Nature, 355.k. 6359.sz. 1992. p.461-464. á.3 h.19 T.MTA

Minimum hat, kromatográfiásan izolálható általános transzkripciós faktor vehet részt abban a pontos iniciációban, melyet a II RNS polimeráz irányít a HeLa sejt rendszerekben. Oldatokban a TFIIIF direkt kötődhet a II RNS polimerázhoz, és csökkenti a II RNS polimeráz affinitását a nem-specifikus DNS-hez. A vizsgálatok megállapították a TFIIIF-ről, hogy az az iniciációs komplex formációjában egy közvetítő állapotban hat. A TFIIIF kis alegységeit (RAP30) klónozták, és kimutattak néhány olyan aminosav szekvenciát, melyek homológok a bakteriális σ faktorokhoz. A szerzők szekvenciavizsgálatot végeztek HeLa sejtekből származó fehérjéből, klónozták

komplementer DNS-ét és kimutatták, hogy kölcsönhatásban van a RAP30-cl in vitro és in vivo is.

A RAP74-t kódoló cDNS

Finkelstein, A. és Konstrub, C.F.: A cDNA encoding RAP74, a general initiation factor for transcription by RNA polymerase II. = Nature, 355.k. 6359.sz. 1992. p.464-467. á.4 h.28 T.MTA

Az RNS II polimeráz által irányított iniciációhoz több különböző általános faktorra van szükség. A RAP30/74 kis RAP30 alegysége direkt kötődik a polimerázhoz és szerkezeti, illetve működési szempontból homológ azokkal a bakteriális faktorokkal, melyek megtalálhatók azok RNS polimeráz kötő régiójában. A szerzők egy olyan komplementer DNS-t izoláltak, mely kódolja a RAP30-at, illetve beszámolnak arról, hogy az izolátum kódolja a humán RAP74-et. A RAP30 és a RAP74, melyet E. coli-ban termeltek, felhasználható a természetes humán RAP30/74 helyett az RNS II polimeráz által irányított transzkripció iniciációhoz in vitro.

A humán multigyógyszer rezisztens P-glikoproteinnel kapcsolatos kloridcsatornák

Valverde, M.A. és Diaz, M.: Volume-regulated chloride channels associated with the human multidrug resistance P-glycoprotein. = Nature, 355.k. 6363.sz. 1992. p.830-833. á.4 h.30 T.MTA

A P-glikoprotein expressziója kapcsolatban van a sejtvonalaknak és a humán tumoroknak kölcsönzött multigyógyszer rezisztenciával. A P-gliko-

protein egy ATP-függő aktív transzporter, mely kipumpálja a hidrofób gyógyszereket a sejtekből, de normális fiziológias szerepe ismeretlen. Tagja a transzporterek ABC szupercsaládjának, melyhez számtalan bakteriális transzport rendszer tartozik, illetve a cisztás fibrózis transzmembrán regulátor (CFTR). A CFTR kapcsolatban van egy ciklikus AMP-szabályozott kloridcsatornával. Legalább még két másik kloridcsatorna található az epiteliális sejtekben. A CFTR és a P-glikoproteinszerkezeti és szekvencia hasonlóságot mutat. A szerzők azt vizsgálták, vajon a P-glikoprotein kapcsolatban van-e más csatornákkal.

Az örökletes ovalocitikus vörös vértetekben lévő 3-as abnormalis köteg defektív anion transzportja

Defective anion transport activity of the abnormal band 3 in hereditary ovalocytic red blood cells. = Nature, 355.k. 6363.sz. 1992. p.836-838. á.2 h.21 T.MTA

Az örökletes ovalocitózis igen elterjedt azokon a területeken, ahol a malária járványos. Ezek a vörösvértetek ellenállnak a malária paraziták inváziójának in vitro és az ovalocitikus egyedekben kevésbé élőködnek, mint a normálisokban. Ez a jelenség az ovalocitikus vörös vértetek nagyobb rigiditásának tulajdonítható, illetve egy megváltozott membrán anion transzporter (3-as köteg) jelenlétének. A szerzők polimeráz láncreakciót használtak az abnormalis 3-as köteg komplementer DNS klónozásához. Kimutatták, hogy az ab-

normális ovalocita 3-as köteg egy lényegesen megváltozott szerkezet és a fehérje defektív az anion transzport aktivitásban. A megváltozott transzport tulajdonságok szerepet játszhatnak az ovalocitikus egyedek redukált parazitátlárában.

A Caenorhabditis elegans unc-4 génben lévő mutációk megváltoztatják a szinaptikus inputot a ventrális szál motor neuronokhoz

White, J.G. és Southgate, E.: Mutations in the *Caenorhabditis elegans unc-4* gene alter the synaptic input to ventral cord motor neurons. = *Nature*, 355.k. 6363.sz. 1992. p.838-841. á.4 h.14. T.MTA

Azoknak a géneknek az azonosítása, melyek összehangolják a neurogenézist, nagyon fontos lenne a folyamat jobb megértése szempontjából. Géneket azonosítottak, hogy specifikálják a neuron típusát és a folyamat elvét. A szerzők a szinaptikus specifikus meghatározására olyan géneket használtak, melyek megváltoztatták a szinaptikus kapcsolódást a motoros körforgásba a *C.elegans* nematodában. A vizsgálathoz elektron mikroszkópot használtak. Leírják az *unc-4* génekben található mutációs fenotípusokat, melyekben egy lokomotor hiba korrelál a szinaptikus inputban lévő specifikus változásokkal.

A *C.elegans unc-4* gén kódol egy homeoterületi fehérjét, amely meghatározza a specifikus motor neuronokra vonatkozó szinaptikus input mintáját

Miller, D.M. és Shen, M.M.: *C.elegans unc-4* gene encodes a homeodomain protein that determines the pattern of synaptic input to specific motor neurons. = *Nature*, 355.k. 6363.sz. 1992. p.841-845. á.4 h.40 T.MTA

A neurális áramkör képződése a neuronok specifikus együttese közötti szinapszis képződésétől függ. Azonban arról a molekuláris mechanizmusról, amely a szinaptikus folyamatot szabályozza, kevés ismeret van. Az *unc-4* génben lévő mutáció megváltoztatja azt a szinaptikus inputot, mely a *C.elegans* ventrális ideg kötegében lévő egyik motor neuron osztályra vonatkozik. Az *unc-4*-ben a VA motor neuronok preszinaptikus partnere visszahelyeződik a VB osztály motor neuronjaihoz. Ez a folyamat nem jár semmiféle detektálható hatással. A szerzők kimutatták, hogy egy funkcionális *unc-4* gén hiánya nem bír fontossággal a mutáns fenotípiára. Az *unc-4* gén egy homeoterületi fehérjét kódol és funkcionális szempontból ez egy transzkripciófaktor.



Az agytumor progresszióval kapcsolatban lévő p53 mutáns sejtek klonális expanziója

Sidransky, D. és Mikkelsen, T.: Clonal expansion of p53 mutant cells is associated with brain tumour progression. = *Nature*, 355.k. 6363.sz. 1992. p.846-847. á.2 t.1 h.14 T.MTA

A tumor progresszió a rákbiológia egy alapvető területe. A rákos sejtek de novo nem végleges formájukban jelennek meg, de már utálnak malignáns voltukra. A szerzők tíz primér agytumor párbanlévő p53 gént elemeztek abból a célból, hogy meghatározzák azokat a genetikai eseményeket, melyek az agytumor progresszió folyamata alatt lejátszódnak. Az agytumorsejtek progressziója kapcsolatban van olyan sejtek klonális expanziójával, melyeknek egy mutációja van a p53 génben és szelektív növekedési előnyt biztosítanak. A szerzők kísérleti tapasztalatai erősítik a Novell-féle klonális evolúciós modellt.

Genetikailag módosított fotoszintetikus antenna komplexek kék-eltolódású abszorpciós kötegekkel

Fowler, G.J.S. és Visschers, R.W.: Genetically modified photosynthetic antenna complexes with blueshifted absorbance bands. = *Nature*, 355.k. 6363.sz. 1992. p.848-850. á.4 h.14 T.MTA

A fényenergiát a fotoszintézis számára egy olyan antenna rendszer gyűjti össze, mely egy gerjesztett állapotot hoz létre, és amely egy energetikai "völgybe migrál". A folyamathoz szükséges egy olyan pigment együttes, mely hatékony

abszorpciós képességgel rendelkezik vörös hullámhossznál. Az abszorbeáló fajokban a változatokat in vivo bioszintetikusán képezték. A szerzők azt a kapcsolatot vizsgálták, amely fennáll az antenna polipeptidok aromás reziduumai és a pigment abszorpció között, miközben vizsgálták a mellékirányú mutagenézis hatását egy bakteriális antenna komplexre. Az eredmények arra utaltak, hogy szoros kapcsolat van a tirozin reziduumok és a bakterioklorofil között, évez javíthatja a vöröseltolódást in vivo.

Specifikus ligandkötő szerkezetekbe becsomagolt egyes-spirálú DNS-molekulák in vitro szelekciója

Ellington, A.D. és Szostak, J.W.: Selection in vitro of single-stranded DNA molecules that fold into specific ligand-binding structures. = *Nature*, 355.k. 6363.sz. 1992. p.850-852. á.2 t.2 h.12 T.MTA

Ligandkötő DNS szekvencia együtteseket izoláltak random szekvenciájú DNS-ek nagyméretű készletéből in vitro szelekció és erősítés felhasználásával, hasonló módszerek alkalmazásával, melyeket ligandkötő RNS-ek izolálásánál alkalmaznak. A ligand-DNS kölcsönhatások szekvencia- és ligandspecifikusak. Az egyes szekvenciák vizsgálata nyilvánvalóvá tette, hogy a ligandkötés DNS-specifikus; az azonosított szekvenciájú RNS-ek nem léphetnek kölcsönhatásba ugyanazokkal a ligandumokkal. A ligandkötő DNS-ek sokkal alkalmasabbak lehetnek, mint potenciális farmakológiai reagensek, összehasonlítva az RNS-sel.

DNS-felismerés GAL-4 által: a fehérje-DNS komplex szerkezete

Marmorstein, R., Carey, M.: DNA recognition by GAL4: structure of a protein-DNA complex. = Nature, 356.k. 6368.sz. 1992. ápr.2. p.408-414. á.6, t.1, h.65. T.OMIKK

HLA-A2 molekulák egy antigénfeldolgozó mutáns sejtben, szekvencia eredetű jelzőpeptidekkel

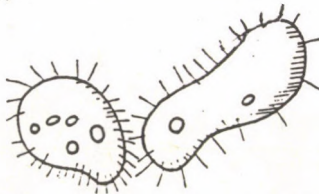
Wei, M., Cresswell, P.: HLA-A2 molecules in an antigen-processing mutant cell contain signal sequence-derived peptides. = Nature, 356.k. 6368.sz. 1992. ápr.2. p.443-446. á.2, t.2, h.29. T.OMIKK

Az irányított mutáció alternatívája a bgl operonban

Mittler, J.E., Lenski, R.E.: Experimental evidence for an alternative to directed mutation in the bgl operon. = Nature, 356.k. 6368.sz. 1992. ápr.2. p.446-448. á.3, h.21. T.OMIKK

A cink GAL4 DNS-kötő doménjének szerkezete

Kraulis, P., Raine, A.stb.: Structure of the DNA-binding domain of zinc GAL4. = Nature, 356.k. 6368.sz. 1992. ápr.2. p.448-450. á.3, h.26. T.OMIKK



A Cd₂-GAL4 DNS-kötő doménjének szerkezete S.cerevisiae-ből való előállításakor

Baleja, J., Marmorstein, R. stb.: Solution structure of DNA-binding domain of Cd₂-GAL4 from S.cerevisiae. = Nature, 356.k. 6368.sz. 1992. ápr.2. p.450-453. á.4, h.26. T.OMIKK

Az alanin-glicin hatása az alfa-spirálban a fehérje stabilitására

Serrano, L., Neira, J.stb.: Effect of alanine versus glycine in helices on protein stability. = Nature, 356.k. 6368.sz. 1992. ápr. 2.p.453-455. á.2, t.2, h.34. T.OMIKK

Antigén kötőhelyek térképezése a fehérje antigénekben

Peterson, Y.: Mapping antibody binding sites on protein antigens. = Nature, 356.k. 6368.sz. 1992. ápr.2. p.456-457. á.2. T.OMIKK

Az ellenanyag-kombinációs helyekkel reagáló fehérje antigének nagy felületi deutérium-cserés jelöléssel és két-dimenziós ¹H NMR-rel meghatározhatók. Ez a technika alkalmazható más fehérje-fehérje kölcsönhatás esetében is az affinitást meghatározó kulcs maradványok azonosítására.

Patkány V1a arginin vazopresszin receptor molekuláris klónozása és kifejezése

Morel, A., Carroll, A.stb.: Molecular cloning and expression of a rat V1a arginine vasopressin receptor. = Nature, 356.k. 6369.sz. 1992. ápr.9. p.523-526. á.3, h.31. T.OMIKK

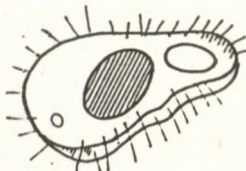
Humán oxitocin receptor szerkezete és kifejezése

Kimura,T.,Tanizawa,O.stb.: Structure and expression of a human oxytocin receptor. = *Nature*, 356.k. 6369.sz. 1992. ápr.9. p.526-529. á.4. h.27. T.OMIKK

Az oktopin szintáz upstream helyzetű aktiváló elemének szubdoménjei szabályozzák a sejtspecifikus kifejeződést transzgenikus dohány növényekben

Kononowicz,H.,Wang,Y.E.stb.: Subdomains of the octopine synthase upstream activating element direct cell-specific expression in transgenic tobacco plants. = *The Plant Cell*, 4.k. 1992. p.17-27. á.5. h.34. T.SZ

Az *Agrobacterium tumefaciens* TI plazmidjának oktopin szintáz /ocs/ génjében egy olyan upstream aktiváló szekvencia található, amely a növényi sejtekben való kifejeződéshez szükséges. A szekvencián belül egy 16 bázispár hosszú palindróm szakasz helyezkedik el, amely transzgenikus dohány kallusokban az ocs promoter működéséhez szükséges. Az oktopin szintáz gén nem konstitutív módon fejeződik ki a különböző növényi szövetekben, hanem fokozott mértékű a levelek edénnyalábjaiban, a levél mezofillum sejtekben és a szár, ill. a gyökér merisztémában.



A növényi vírusok mozgásának felhasználása

Moffat,A.S.: Putting the moves on plant viruses. = *Science*, 255.k. 5040.sz. 1992. Jan.17. p.291. T.OMIKK

A vírusokat az egyik sejtől a másikig fehérjék szállítják át. A növényi vírusok mozgási fehérjét a kutatók új vírusvektorok tervezésére használják fel. Segítségükkel viszik be az új géneket a növénybe, ahol ezek kifejeződnek, miáltal a növény gyógyszerfehérjét, ipari enzimet képes gyártani. Ez igen hasznos eljárás a gabonák esetében, amelyek nehezebben vehetők alá génmanipulációnak a jelenlegi módszerekkel. Az EGK-ban 1 millió dollárt fordítanak a mozgási fehérjék kutatására. Az egyik fő cél az eredmények biotechnológiailag hasznosítása lesz.

DNS replikáció élesztő kromoszóma origójának meghatározása többszörös funkcionális elemekkel

Marahrens,Y.,Stillman,B.: A yeast chromosomal origin of DNA replication defined by multiple functional elements. = *Science*, 255.k. 5046.sz. 1992. febr.14. p.817. T.OMIKK

Bár bebizonyosodott, hogy a DNS replikáció diszkrét origó létezik az eukarióta sejt kromoszómákban, az eukarióta sejt origók részletes szerveződése még nem ismert. Linker helyettesítő mutációt építettek fel a teljes *S.cerevisiae* kromoszóma origó mentén /ARS1/. E mutások funkcionális vizsgálata során találtak egy lényeges elemet /A/, amely magában foglal az ARS konszenzus

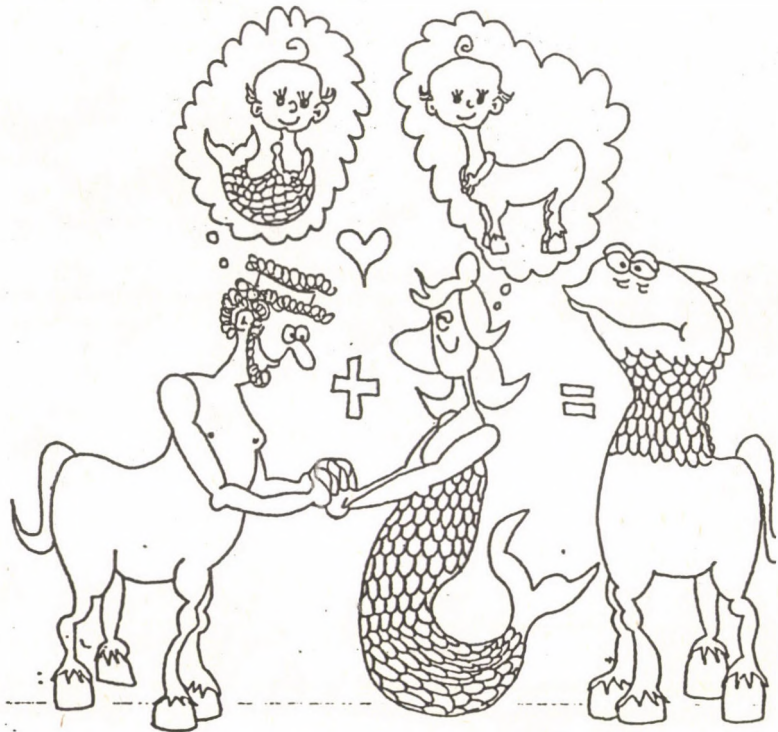
szekvenciához illő párt és három további elemet /B1, B2 és B3/, amelyek együtt mind fontosak az origó funkciójához. Ez a négy elem pont úgy helyezkedik el, mint az ARS1-ben, de egészen más típusú szekvenciák veszik körül. A B3 elem a transzkripció faktor-origókötő fehérje ABF1 kötőhelye.

Céltzott géncsere a *Drosophila*-ban P elemen keresztül

Gloor, G.B., Nassif, N.A. stb.: Targeted gene replacement in *Drosophila* via P element-induced gap repair. = *Science*, 253.k. 5024.sz. 1991. szept. 6. p. 1110. T.OMIKK

A *Drosophila* P család átvihető elemei a vágás-beillesztés eljárással áthe-lyeződtek, és kettős szálú lyuk állt elő.

Ennek javítása néhány kilobázispár információ átvitelével történt a homológ templát szekvenciából a P elem kivágási helyén. A templát egy in vitro-modifikált szekvencia, amelyet különböző genom pozíciókban vizsgáltak. 123 konverziós traktust jellemeztek. A legtöbb esemény folytonos konverziós traktus volt, amely átfedte a P inzerció helyet a templát egyidejű konverziója nélkül. Az átlagos konverziós traktus 1329 bázispár volt, és a traktushosszak eloszlása beleillik a lyuknövelés egyszerű modelljébe. A konverziós esemény elég nagy gyakorisággal végbement, és így alapul szolgálhat az irányított géncsere hatékony módszereinek.





Átalakított C-127 sejtek szaporodása bioreaktorokban nagyüzemi t-PA gyártás céljára

McKillip, E.R.; Giles, A.S.; Levner, M.H.; Hung, P.P.; Hjorth, R.N.: Growth of transformed C-127 cell in bioreactors for large scale t-PA production. = Bio/Technology, 9.k. 9.sz. 1991.szeptember, p.805-806, 808, 810. T.OMIKK

A Genentech féle szöveti plazminogén aktivátor (t-PA) kifejlesztését követően a Wyeth Ayerst cég egy rekombináns t-PA hibridet fejlesztett ki, amelynek hosszabb a felezési ideje, kisebb adagolásban is használható és hatékony a trombolízis szempontjából. Ez a t-PA (hibrid B) egy urokináz gyűrűvel rendelkezik az EGF régió és a szülő t-PA molekula első gyűrűje között.

Annak érdekében, hogy a kutatás és gyártmányfejlesztés céljára elegendő ilyen molekulát tudjanak előállítani, ki kellett alakítani egy stabil sejtvonalat, amely nagyszűrűségűvé szaporítható és meg kellett határozni, hogy a sokféle gyártási lehetőség közül melyik alkalmas a nagyvolumenű gyártásra.

Egy egér átalakított tejmirigy tumor sejtvonal, a C-127, amelyet a szarvasmarha papilloma vírus vektor felhasználásával fejlesztettek ki, tudta kifejezni a hibrid B t-PA géneket.

Néhány művelet után azonban az újonnan átalakított C-127 sejtek elvesztették a t-PA képző képességüket. Lágyagáros klónozás segítségével azonban két gyorsan szaporodó törzset sikerült elkülöníteniük, melyek nagy hibrid t-PA termelési kapacitással bírtak. Mindkét klónt különféle közegekben szaporították és tartották, és találtak olyanokat (így a DMEM:F12, ill. a DMEM:RPMI elegyeket), amelyek a hibrid t-PA termelést több mint három hétig tudták elősegíteni és a sejtek jelentősebb veszteség nélkül akár 100-szor is használhatóak voltak.

Nagy problémát okozott még a fejlesztés során, hogy a hibrid t-PA molekula hajlamos volt a proteolízisre bioreaktorban történő gyártás esetén. A kezdeti kísérletek során a t-PA zömmel kettős láncot képezett a bioreaktorokban. Mivel egyláncú proteáz aktivitásra volt szükség, aprotimint és szarvasmarha szérum albumint adagoltak a közegbe.

A következőkben a lehetséges bioreaktorokat vizsgálták. Így a CD Biomedical Cell-Pharm bioreaktort (üreges rostos rendszer), a Bellco (Vineland, NJ) rozsdamentes acél matrixokat, vagy al-

ginát gyöngyöket tartalmazó bioreaktorát; a Charles River (Willington, MA) Opticell 5200 jelű kerámia maggal készült bioreaktorát és a New Brunswick Scien-

tific (Edison, NJ) alginát gyöngyöket tartalmazó CelliGen bioreaktorát. A vizsgálatok eredményeit az 1. táblázat tartalmazza.

1. táblázat

A bioreaktorok és viselkedésük jellemzői

Bioreaktor	Szaporodási szubsztrátum	Felület cm ²	t-PA koncentráció mg.nap ⁻¹	Termelékenység t-PA mg.nap ⁻¹	Kivetített hozam mg.nap ⁻¹
Charles River	AD1 kerámiamag	4250	25	25	224
Bellco	10 rozsdamentes acél matrix lap	34000	32,50	130	145
CD Medical	IV-L üreges rostú mag	1750	2	2	4,34
T-150 palack	bevont műanyag	150	-	0,03-0,12	7,6-30,4
Celligen	125 ml alginát	-	10	10	80 ^{xx}
Bellco	1000 ml alginát	-	20	80	80 ^{xx}

x A Charles River cég egy nagyobb, 38 000 cm² felületű AD451 jelű kerámikus magot is gyárt. A Charles River AD451 kivetített hozamát úgy számították, hogy lineáris összefüggést tételeztek fel a rendelkezésre álló felület és a termelékenység között. A többi reaktorok esetében ez egy az AD451 rendszerével megegyező méretű felület alapján történő számítással kapták.

xx A Celligen és a Bellco alginát reakciórendszereket hasonló (1000 ml-es) alginát mennyiség felhasználását alapul véve hasonlították össze.

Az 1. táblázatban szereplő "kivetített hozam" érték a CD Medical Cell-Pharm üreges rostú IV-L jelű maggal rendelkező modellnél mindössze 4,34 mg.nap⁻¹, mert a 17 500 cm² felülete csak napi 2 mg hibrid t-PA termelésre képes, ami a többiekéhez képest igen csekély. Így pl. a Charles River féle reaktor negyedakora felületével kb. húszszor annyi terméket képes produkálni. Az üreges rostokból álló töltetlen nagy tömegben keletkező sejtek valószínűleg nem kapnak elegendő oxigént és tápanyagot és

ez idézi elő a gyenge kihozatait. Ennek ellenére volt olyan kultúra, mely 5 hónapon át fenntartható volt, észrevehető t-PA termelés csökkenés nélkül.

A Bellco bioreaktorok esetében egy három hónapos szaporodási időszak alatt kb. 4×10^{10} sejt volt jelen a matrixokon, ami az eredeti oltáshoz képest 40-szeres növekedés. A napi 130 mg t-PA termelést ugyanezen a szinten tudták tartani egy hónapon át.

A Charles River Opticell rendszert a AD51 jelű, kísérleti célú, kisméretű kerá-

miamaggal tanulmányozták. A sejtek gyorsan szaporodtak a magban és napi 25 mg hibrid t-PA-t tudtak termelni.

Az alginát gyöngyöket tartalmazó, Bellco III. CelliGen típusú bioreaktorokat azonos alginát térfogatok alapján hasonlították össze. Egy 2,5 literes CelliGen reaktorban pl. napi 10 mg hibrid t-PA-t tudtak előállítani 125 ml-nyi, sejtekkel átitimpregnált alginátgyöngyökkel. 1000 ml alginát gyöngy, mely C-127 sejteket tartalmaz, 4 l-nyi közegben 80 mg hibrid t-PA-t termel. A Bellco reaktorban 1000 ml alginát esetében a kihozatal ugyanaz. A hibrid t-PA termelés alginátgyöngyökben 2-3 hét után a kísérletek 60%-a esetén megállt.

Az azonos felületekre vetítve, a hibrid t-PA gyártás szempontjából a legjobb rendszernek a Charles River bioreaktor bizonyult. A kísérletekhez használt 5200-as bioreaktor helyett nagyüzemi méretre az 5300 Jelű megfelelőnek tűnik. Ez 400 000 cm²-nyi hasznos felülettel rendelkezik a sejtek szaporításához és napi 1 g hibrid t-PA előállítására lesz képes.

A Bellco-rendszer előnye, hogy 1 l-ternyi közegben 32,5 mg hibrid t-PA előállítására képes. Hátránya viszont a szaporodás hosszadalmas, 3 hetes nem produktív időszaka, a Charles River bioreaktor 1 hetes időszakához képest. Mindkét rendszer optimalizálása még folyamatban van, de ez a két rendszer

bizonyul termelékenység szempontjából a legjobbnak.

A diffúzió szerepe a nem-vizes enzimológiában. 1.r.Elmélet

Kamat, A.; Beckman, E.J. stb.: Role of diffusion in nonaqueous enzymology. 1. Theory. = Enzyme and Microbial Technology, 14.k. 4.sz. 1992. p.265-271. á:8, h:19. T.OMIKK

Myceliophthora thermophila (Apinis) V.Oorschot törzsek által termelt cellulózbontó enzimrendszerek összehasonlító vizsgálata

Oberson, J.; Binz, T. stb.: Comparative investigation of cellulose-degrading enzyme systems produced by different strains of Myceliophthora thermophila (Apinis) v.Oorschot. = Enzyme and Microbial Technology, 14.k. 4.sz. 1992. p.303-312. á:4, t:2, h:42. T.OMIKK

Nagy sűrűségű E.coli tenyésztési eljárás rekombináns serzés növekedési hormon hiperexpressziójára

Chen, H.; Hwang, C. stb.: High-density Escherichia coli cultivation process for hyperexpression of recombinant porcine growth hormone. = Enzyme and Microbial Technology, 14.k. 4.sz. 1992. p.321-326. á:4, t:4, h:22. T.OMIKK

HIRDESSEN AZ

OMIKK

**Műszaki információ
és
Műszaki-gazdasági információ
sorozataiban!**

Postacím:

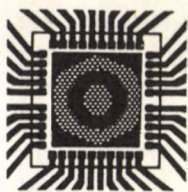
OMIKK Műszaki-gazdasági Kiadványok

Szerkesztősége

Budapest, Pf. 12.

1428

Telefon: Dér Éva osztályvezető 138-4829



Gyártmánytervezés és fejlesztés

Aston, W.J.: Product design and development.
= Biosensors and Bioelectronics, 7. k. 2.sz. 1992.
p.85-89. T.OMIKK

Az új termékekkel kapcsolatos kutatás és fejlesztés rendszerint akkor kezdődik, mielőtt a szükséges anyagi alapok rendelkezésre állnak. A kétféle feladat között a főbb különbség az, hogy a kutatással szemben a fejlesztés olyasminek az előállítására törekszik, amit állandó minőségben és nagy mennyiségben lehet gyártani. A szerző tanulmányában példaként egy saját használatra alkalmas vércukor-meghatározó készülék kifejlesztését ismerteti.

A fejlesztést megelőzi a piac igény megállapítása. A piac követelményei a felhasználótól függenek, aki a terméket használni fogja. Ennek megfelelő ismeretétől függ, hogy a termék sikeres lesz-e.

A hasonló funkciót betöltő termékek megjelenési formája nagy befolyást gyakorol a vevőre. A kutató és klinikai laboratóriumok vizsgáló berendezései, noha ugyanazt a funkciót tudják ellátni, mégis igen különböző alakúak, ill. megjelenésű formájúak lehetnek. A kutatók olyan műszert keresnek, amely rugal-

masan alakítható az esetenkénti igényekhez. A klinikai laboratóriumi analitikai vizsgálatokhoz viszont olyan műszer kell, amely az azt használótól nem sok beállítást kíván és kész mérési módokra alkalmas csomagokkal rendelkezik.

A vércukortartalom saját ellenőrzéséhez szükséges műszerrel szemben megint másféle igényeket támaszt a vevő. Így pl.:

- egyszerűen használható forma;
- minimális kezelési igény;
- a kezeléshez minimális műszaki ismeretet igénylő szerkezet;
- pontosság;
- kompakt kivitel;
- könnyen leolvasható kijelzés, és
- olcsó ár.

A bioszenzorok erre a célra való alkalmasságát igazolja az, hogy egyre több cukorbeteg vásárolja meg és egyre több vállalat hoz forgalomba ilyen készüléket.

A termék formatervezése a vásárló és a gyártó szempontjából egyaránt fontos. A vásárlót a termék könnyű kezelhetősége és megjelenési formája érdekli. A gyártó is érdekelt abban, hogy a felhasznált konstrukció egyszerűvé tegye a gyártást. Egy reális koncepción

alapuló konstrukció előírása esetében, melyben minél kevesebb a külön erre a célra gyártott alkatrész és minél több a már jól bevált komponens, jelentősen olcsóbban és rövidebb idő alatt lehet a készülékeket a piacon bevezetni. Minél több a kutatási és fejlesztési igény a termékkel kapcsolatban, annál nagyobb befektetést igényel, és a konstrukció

esetleges módosításának költsége is rendkívüli módon megnő. Számos csúcstechnológiát alkalmazó üzemenél a kutatási-, fejlesztési és gyártási költségek aránya 1:10:100. Nem megfelelő alkatrészek és technológiák alkalmazása azonban jelentős többletköltséget okozhat. A különböző hasznos és káros tényezőket az 1. táblázat tartalmazza.

1. táblázat

Az előnyös tényezők maximalizálása és a károsak minimalizálása fokozza egy sikeres termék kifejlesztésének lehetőségét.

Maximalizálandó tényezők

egyszerű konstrukció
szabványos alkatrészek használata
beszállítók száma
gyártásellenőrzés
kipróbált gyártási eljárások használata
könnyű és gyors összeszerelhetőség
gazdaságos anyagok felhasználása
számítógépes tervezés és gyártás
megfelelő konstrukció jóváhagyatása.

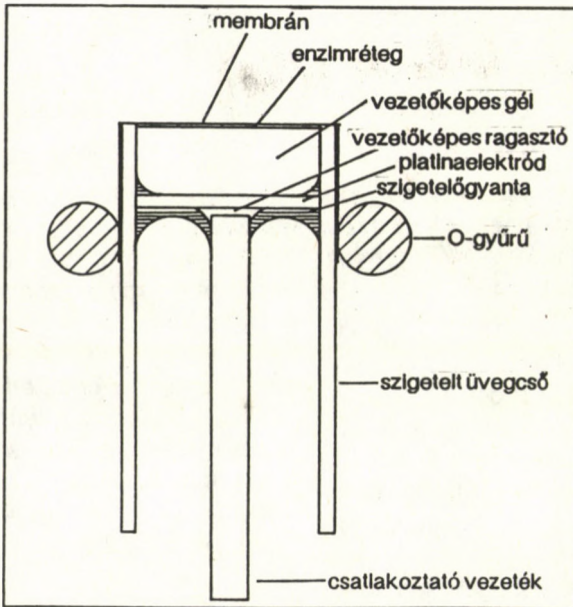
Minimalizálandó tényezők

üresjárási idők
kritikus anyagok használata
méretre gyártott anyagok
célberendezések
különleges vizsgáló készülékek
egységárak
gyártás közben konstrukciómódosítások
korlátozott képességű egységek és eljárások használata védett szellemi tulajdonok használata, melyhez nincs használati joguk,
túlzott mennyiségű hulladék,
irreális tűrések.

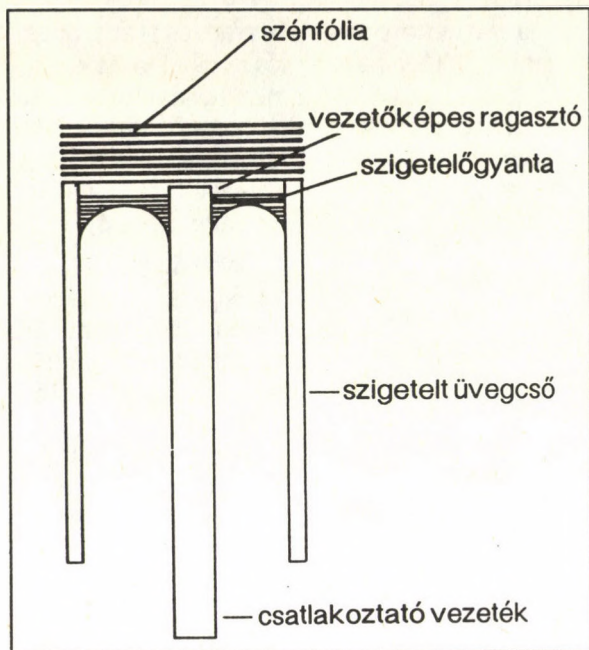
A MediSense cég által a cukorbeteg-
gek saját használatára kifejlesztett
"ExacTech" vércukorvizsgáló készülék
kezdeti kutatása egy szonda szerkeze-
tén alapult (1. ábra). A szonda egy Paste-
ur-pipettából állt, melyet platinatárcsa
beépítésével alakítottak át. A tárcsát
epoxigyantával hozzáragasztott szigetelt
vezetékkel csatlakoztatták a külső
áramkörhöz. A szondát felső részén
grafit, elektronátviteli elősegítő anyag
(medlátör) és cseppfolyós paraffin ke-
verékével töltötték meg. A glükóz-oxi-
dáz oldatát egy membrán segítségével
zárták le. A szonda azt bizonyította, hogy
a rendszer képes a jelenlévő metabolit-

tal arányos áram fejlesztésére, de jelen-
tős korlátai voltak, így többek között a
medlátör és az enzim diffundált a pasz-
tából. A vízoldható N,N,N',N'-tetra-metil-
feniléndiamin medlátort az oldhatatlan
1,1'-dimetil-ferrocénnel helyettesítve, a
medlátör diffúziója csökkent.

Jelentős előrelépést értek el, amikor
a széntartalmú pasztát egy széntárcsá-
val helyettesítették (2. ábra), melyet a
medlátör toluolos oldatával impregnál-
tak át, és a tárcsából a toluolt elpárolog-
tatták. A grafitot is impregnálták glükóz-
oxidázzal, melyet kémiai úton rögzítet-
tek a széntárcsában, és így feleslegessé
vált a membrán. Ezt a rögzítést később



1. ábra Egy szonda szerkezete képezte az "ExacTech" nevű
glükózelemző készülékkel kapcsolatos korai kutatás alapját

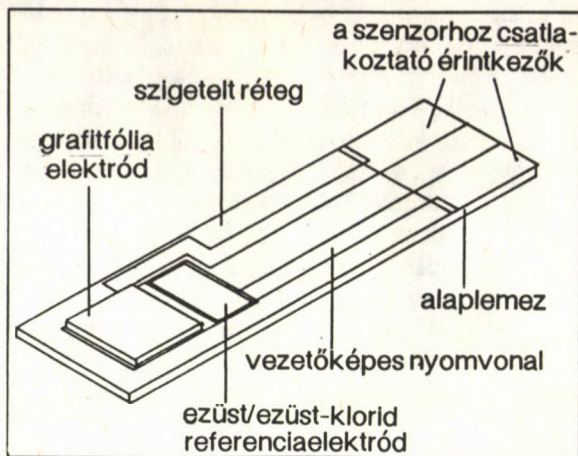


Ábra A szénfólia elektród. A szénpaszta egy tárcsával történő helyettesítése feleslegessé tette a membrán szükségességét

el tudtak hagyni, mert a szénnek nagyon nagy volt az affinitása az enzimhez, és így ez az egyébként nagyon időigényes rögzítés feleslegessé vált.

Nagy áttörést jelentett a készülék kifejlesztése szempontjából, hogy megoldották az enzim és a ferrocén vízoldhatatlan származékának az összekapcsolását. Ezáltal lehetővé vált a glükózkoncentráció ampermérővel való meghatározása, a szondának nagyvolumenű oldatba való bemerítése révén. A keletkező kis áramerősségek lehetővé tették, hogy az összehasonlító- és a mérőelektrodát összevonják egyetlen ezüst/ezüst-klorid elektródává.

A gyakorlatban használható készülék kialakításához csökkenteni kellett a szükséges vérminta volumenét. Ennek érdekében megvizsgálták a meglévő csíktechnológiát. A forgalomban lévő glükózvizsgáló csíkok egy vékony műanyagszalagra erősített reagenspapír csíkból állnak. A kezdeti konstrukciónál a papírcsíkokat elektródákkal helyettesítették, és elektromos vezetékekkel látták el. A kezdeti kiépítésben a grafités az ezüst/ezüst-klorid elektródákat vezetőképes epoxigyanta alapú ragasztó kötötte össze, melyet a külső áramkörhöz szigetelt vezetékkel csatlakoztattak.



3. ábra Az "ExacTech" nevű glükózelemző készülék prototípusa

A 3. ábra szerinti szalagelektroda a glükózkoncentrációval arányos áramot termel. A használt vérminta térfogata 25 μ l. A készülék 30 mM-os glükózkoncentrációig tud mérni (A normál vércukor koncentrációszintje 5 mM).

A későbbiekben kerámia alaplemezt használtak, a csatlakoztató vezetékét vezetőképes ezüst-palladium csíkokkal helyettesítették, melyeket szigetelő réteggel vontak be. Az aktív működő- és a referencialektrodokat továbbra is vezetőképes ragasztóval csatlakoztatták.

A megoldás hátrányai közé tartozik, hogy a kerámia lap, melynek kivágásához gyémánt fűrész kell, rideg, és a szélei élesek. A vezetőképes tinta beégetéséhez kb. 200°C hőmérsékletre van szükség. A szén és a referencialektrod epoxigyanta alapú ragasztóval való

csatlakoztatása nagyon munkaigényes manuális eljárást jelent, tehát nem praktikus megoldás.

A gyakorlatban jól használható készülék kialakításához új alaplapot kerestek. A papír vagy a műanyagok könnyen megmunkálhatók, de nem hőállóak. Kénytelenek voltak egy alacsony hőmérsékleten beégethető vezetőképes tintát és egy alternatív felviteli módot keresni. Sikerült hőálló műanyag alapot találni, amely a megfelelő tintával együtt lehetővé tette az "ExacTech" glükózszenzor gyártását. A vonatkozó technológiát, mely kis változtatásokkal különböző alkalmazási lehetőségeket biztosított, szabadalmaztatták is. Az így kapott csík alakú szenzor alkalmas arra, hogy a cukorbeteg meg tudja otthon határozni glükózsztintjét.

Nagyvolumenű oldatokban használható, üzemi vizsgálatokra való alkalmassá tételhez szükség van a membránra, hogy visszatartsa a szénkomponenseket. Ez megoldaná a késedelmes reagálást, ha az operátor késik a vizsgálat beindításával. Ez a probléma kiküszöbölhető volt a későbbi modelleknél, ahol a vizsgálat automatikusan beindul, amikor a mintát a vizsgáló csíkra helyezik. Ha a készüléket eleve ipari célra tervezték volna, akkor a forgalombahozatala jóval hamarabb megtörténhetett volna, mert erre a célra kerámia lapok és magas hőmérsékleten beégethető tinták alkalmazhatók.

Az új termékek piaci bevezetéséhez szükséges idő a fejlesztés szempontjából az egyik legfontosabb tényező. Csaknem 8 évet vett igénybe, amíg az ExacTech készülék egy egyetemi kutatási projektből késztermék lett. Ezt a szokatlanul hosszú átfutási időt a szükséges tőke előteremtésével kapcsolatos nehézségek, új laboratóriumok és egy új gyártási technológia kialakítása okozta. Egy kevésbé igényes termék esetében ez az átfutási idő 2-4 év lehet, és az új termék értékesítéséből eredő nyereségből tudják fedezni a következő készüléktípusok kifejlesztését.

A fejlesztési projektek irányítói számára a legfontosabb, hogy ismerjék az összes fázis esetében azok beindításának legkedvezőbb időpontját, a kutatás koral szakaszától kezdve a gyártás beindításának végső időpontjáig. Pénzügyi szempontból különösen fontos, hogy a folyamat előre beütemezett mérföldköveit mindig a tervezett időben éri el. Az esetleges késedelmek végső fokon nyereségkieséssel járnak, úgy

hogy számos vállalat befektetéseket eszközöl, hogy új módszereket alakítson ki a fejlesztési projektek eredményesebb irányítására, ezáltal csökkentve az új termékek piacra juttatásához szükséges időt. Jelentős időt lehet megtakarítani, ha a fejlesztési és a hozzá csatlakozó egyéb feladatokat párhuzamosan végzik. A csoportmunka elősegítéséhez nagyon fontos a megfelelő információcseré biztosítása. Fontos továbbá, hogy a fejlesztési projekt résztvevői kezdetben a legegyszerűbb termékre összpontosítsák erőiket, amely a piac igényeit ki tudja elégíteni. Az igényesebb termékek kifejlesztésére célszerűen már a vásárlók véleményeinek beérkezése után kerülhet sor.

Foszfátionok amperometriás meghatározása bioszenzorral

Kulys, J.; Higgins, I.J. stb.: Amperometric determination of phosphate ions by biosensor. = Biosensors and Bioelectronics, 7.k. 3.sz. 1992. p.187-191. á:5, h:10. T.OMIKK

A szervesetlen foszfátra érzékeny amperometriás bioszenzort 7,7,8,8-tetracianokindimetánnal modifikált grafit-elektródból és egy nukleozid foszforilázt és xantinoxidázt tartalmazó bienzimrendszerből készítették. A szenzor a legnagyobb érzékenységet 0,1 V-nál való polarizáció mellett, pH=7,4-es pufferoldatban mutatta. 20°C-on a hőmérsékleti együttható 3%/fok volt, az érzékenység 0,1 mA mmol⁻¹ 1 cm⁻¹.



Foszforeszcens polimer filmek optikai oxigénszenzorokban

Phosphorescent polymer films for optical oxygen sensors. = Biosensors and Bioelectronics, 7. k. 3. sz. 1992. p. 199-206. á: 8, t: 1, h: 12. T.OMIKK

Hidrofób foszforeszcens Pt-porfirinekét használtak lumineszcens polimer filmek kialakítására száloptikás oxigénszenzorokhoz. Néhány Pt-porfirin lumineszcens és kvencselési jellemzője segítségével optimálták a szenzort. A kapott filmeket száloptikás oxigénmonitorozásra használták oldatokban. Igen hatékonynak bizonyultak, és előnyöket mutattak a jelenlegi oxigénérzékelőkkel szemben.

Száloptikai fluorometria bioszenzorokban: összehasonlítás a fluoreszcens fény továbbító hullámképzése és a disztális felület képzése között

Weber, S.: Fiber-optic fluorimetry in biosensors: comparison between evanescent wave generation and distal-face generation of fluorescent light. = Biosensors and Bioelectronics, 7. k. 3. sz. 1992. p. 193-197. á: 6, h: 5. T.OMIKK

Amperometriás ferrocénes glükózszenzor mint elektronátadási mediátor

Dong, S.; Wang, B. stb.: Amperometric glucose sensor with ferrocene as an electron transfer mediator. = Biosensors and Bioelectronics, 7. k. 3. sz. 1992. p. 215-222. á: 9, t: 1, h: 17. T.OMIKK

Elektrokémiai enzimes immunvizsgálat mérgező anyagok kimutatására

Daly, J.P.; Zhao, J. stb.: Electrochemical enzyme immunoassay for detection of toxic substances. = Enzyme and Microbial Technology, 14. k. 4. sz. 1992. p. 299-302. á: 3, h: 15. T.OMIKK

Új bioszenzort fejlesztettek ki, amely kombinálja az immunpróbák és az elektrokémiai válasz előnyeit. ELISA vizsgálattal mérték a mérgező anyagokat biológiai mintákban. A bioszenzorok két fő elemből állnak: 1/elektromosan vezető rétegből, amely immobilizált enzimet, poliklonális vagy monoklonális ellenanyagot és más reagenseket tartalmaz és 2/elektronikai komponenset, amely a jelleolvasásban segít. A bioszenzor jól használható vér, vizelet, ivóvíz és szennyvíz mérgezőanyag-tartalmának meghatározására.



AKTUÁLIS

A Műszaki-Gazdasági Magazin mellékleteként kb. 1 ív terjedelemben megjelenik

**A keletnémet mezőgazdaság
átalakításának első tapasztalatai**
című szakirodalmi tanulmány

A nagyüzemek és a családi művelésű parasztgazdaságok működését és célszerű arányait elsősorban a törvényes úton lebonyolítandó tulajdonosváltozás, a pénzüintézetek óvatos hitelezői magatartása, az Európai Közösség agrárpiaci rendtartásában rögzített termelési kvóták, az üzemmérethez kapcsolódó jelenlegi állami támogatási rendszer befolyásolja.

**A fizetésképtelen gazdálkodók és
az okozott veszteségek jellemzői**
című szakirodalmi tanulmány

A fejlett iparú országokban a fizetésképtelenné váló gazdasági szervezetekre vonatkozó törvények egyidejűleg védik a tulajdonos és a hitelezők érdekeit, meghatározzák a követelések kielégítésének elsőbbségi viszonyait. Az USA, az Európai Közösség csődtörvénye és a magyar csődtörvény, német csődstatistikai adatok idősorai. A hitelezők és adósok alkufolyamata.

Megrendelhető az alábbi megrendelő lapon együtt vagy külön-külön példányonként 195,- Ft-os áron.

✂ ----- ✂

Megrendelhető:
**Országos Műszaki Információs Központ és Könyvtár
Kiadói Igazgatóság**
1088 Budapest, Múzeum utca 17. vagy 1428 Budapest, Pf. 12.

MEGRENDELÉS

Alulírott megrendelem a

.....

A megrendelő neve:

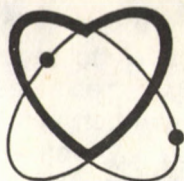
Címe:

Megrendelő pénzforgalmi jelzőszáma:

Megrendelés száma: Ügyintéző:

Kelt,

(aláírás, bélyegző)



Gének palackban

Bluestone, M.: Genes in a bottle. = Bio/Technology, 10.k. 1992. február, p.132-134. T. OMIKK

A hagyományos "ex vivo" génterápia során a betegből sejteket vesznek ki. Egy retrovírusos vektorral géneket adagolnak a sejtekbe, majd visszajuttatják a sejteket a beteg szervezetébe. Valamennyi humán génterápia ezzel a módszerrel történt, de az "ex vivo" kezelés csúcstechnológiát igényel, nagyon költséges és csak központi kórházakban végezhető el. Remélik azonban, hogy idővel a génterápia pl. rákos daganatok, kardiovaszkuláris megbetegedések és ragályos betegségek kezelésére is alkalmas lesz, nemcsak kórházakban, hanem a kezelőorvosoknál is. Ennek előfeltétele, hogy a kezelés "in vivo" génterápia legyen.

A génterápiával foglalkozó néhány biotechnológiai vállalat közül többen az "in vivo" kezeléssel kapcsolatban számos megoldást vizsgálnak, így a vírusok használatát, plazmid DNS injekciót és a glikoproteinek használatát.

A Genetic Therapy Inc. (Gaithersburg, MD) cég, mely egyike azoknak, akik az "in vivo" kezeléseket tűzték ki célul, nemcsak az ehhez szükséges ret-

rovírus vektorokkal foglalkozik, hanem a hólyagfibrózis, az örökletes emfizéma és a tüdőrák kezelésére szolgáló adenovírus vektorok kifejlesztésével is, a NIH-Intézettel kötött öt kutatási és fejlesztési együttműködés keretében.

A tüdő és a légutak hámsejtjei meglehetősen tétlenek és ezért gyenge célpontjai a retrovírusoknak, amelyeknek gyakran osztódó sejtekbe kell beilleszkedniük, hogy hatékonyak lehessenek. Az adenovírusok alkalmasak a nukleinsavaknak a tüdőrendszerbe való bejuttatására. Átadásuk légúton történik és génjeiket a célbavett sejt magjából fejezik ki anélkül, hogy integrálnák a gazda genomba. Úgy vélik, hogy aeroszol formájában alkalmazhatók és esetleg csak évente egyszer lenne erre szükség.

A NIH-Intézetben folyadék infúzió segítségével juttatták be az alfa-1-antitripszin génjelt hordozó adenovírus vektorokat patkányok tüdejébe és ezeken a patkányokon heteken át kimutatható volt a gének kifejeződése.

Az "ex vivo" génterápia integráns részét képező retrovírusoknak az "in vivo" terápiában is van szerepük. A Viagene (San Diego, CA) cég injekcióval beadható retrovírusok kifejlesztésével

foglalkozik, terápia célra szolgáló oltóanyagként való felhasználásra. Fehérje antigént kódoló géneket juttatnak be vírus segítségével a célbavett sejtekbe. Humán célra először "ex vivo" sejt kezelési kísérleteket terveznek. Állatoknál már kipróbálták a vektor injekcióval történő közvetlen bejuttatását. A Viagen cég retrovírusokat használ a HIV és a hepatitis B terápia céljára is.

A Vical (San Diego, CA) cég is foglalkozik a génátvitelen alapuló terápia céljára szolgáló oltóanyagok kifejlesztésével. Vírus vektorok helyett azonban tisztított génszekvenciák injekcióval történő bejuttatásával kísérletezik.

A Wisconsini Egyetemen 1990-ben beszámoltak arról, hogy kationos lipid készítményeket juttattak be injekcióval, plazmid cDNS-ekkel és mRNS-ekkel, melyek klóramfenikol acetil transzferáz (CAT) génszekvenciákat tartalmaznak. Ezt követően CAT aktivitást mutattak ki izomszövetben. Később beszámoltak arról, hogy disztrofinhiányos egerekbe intramuszkuláris injekcióban humán disztrofin cDNS-t bejuttatva, az injekció helye közelében a sejtek 1%-ában kimutatható humán disztrofin képződött. A kifejeződésnek azonban az egész izomrostra ki kellene terjednie, hogy a módszernek potenciális terápiai értéke legyen. A szóba jövő betegségek közé tartoznak a fertőző betegségek, a rákos, valamint az autoimmun megbetegedések. A Vical célja, hogy olyan gyógyszereket fejlesszen ki, amelyek bármely betegnek beadhatók, "ex vivo" műveletek és a sejtek újbóli visszajuttatásának szükségessége nélkül. A Vical cég saját fejlesztésű lipid hólyagocskákat használ, amelyek keresztülhatolnak

a plazma membránokon anélkül, hogy elpusztítanák a sejteket. A folyamat nem túl hatékony, de egy kis mennyiség azért be tud jutni és ha már bent van a DNS plazmid az izomban, egy éven keresztül stabilan képes a gén kifejezésére. A kifejezés szintje javítható különböző promotor szekvenciákkal.

A Vical legközelebbi versenytársa a Targe Tech (Meriden, CT) cég, mely az asialoglikoproteinek (ASGP) májra specifikus receptorára összpontosít, melyet az ellenértelmű szekvenciák és a gén kibocsátása céljának tekint. Prototípusa az asialoorosonucoid (ASOR)- egy fehérje ligand, melynek nagy az affinitása az ASGP receptorhoz - kovalensen egy poli-L-lizinhez kapcsolva. A pozitív töltésű szerkezet komplex vegyületet képez a DNS-sel elektrosztatikus kölcsönhatások révén. Állatkísérletekben az ilyen rendszerrel átvitt gének nem integrálódnak a gazda genomba, de azért kifejezést nyertek. Intravénás injekcióval patkányokba genetikusan albumin gént tartalmazó fehérje-DNS komplex vegyülettel együtt. Majd a patkányok májának kétharmadát eltávolították, hogy fokozzák a májsejtek reprodukcióját. Két hét múlva a kutatók megtalálták az átvitt DNS-t, főleg plazmid formájában. A keringő humán albumin mennyisége két héttel az injekció után $34 \mu\text{g ml}^{-1}$ -re emelkedett, és ezt a szintet legalább négy hétilg megtartotta.

Természetesen a Targe Tech cég kezdetben olyan betegségeket tűz ki célként, amelyeknél a gén kifejeződésnek a májban valószínű, hogy valamilyen hatása van. Ezek közé tartozik a fehérvérűség, az atherosclerosis és a he-

patitis B. Lehetségesnek tartják a primer és a metasztatikus májrák kezelését. A rákos májsejtekben nincs ASGP receptor, így a normál sejtek megcélózhatók egy olyan szerrel, amely megvédi őket a kemoterápiás gyógyszerektől. A cég azt állítja, hogy "in vivo" tanulmányai azt mutatták, hogy ha patkányoknak antagónisztikus szereket injekcióban adagoltak, meg tudták védeni az említett toxikus készítmények halálos adagjának hatásától is.

A Cell Genesys Inc. (Foster City, CA) cég célja olyan genetikailag módosított univerzális donor sejtek kifejlesztése, amelyek átültetésre alkalmasak, és egy üvegcsőben áruulhatók. A genetikai módosításokat "ex vivo" végzik, homológ rekombináció segítségével. Talán a legfontosabb része a cég munkájának a homológ rekombináció alkalmazása a hisztokompatibilitási komplex (MHC) gének módosítása céljából. Ennek révén ténylegesen képes a sejtek HLA különbségeit megszüntetni, melyek különben az átvitt sejtek és szövetek kivetéséhez vezetnek. Egyéb módosításokkal, amelyek aktiválják a genetikai funkciókat, a HLA-tól megfosztott sejteket génterápiás hordozókként tudják felhasználni. A cég két készítmény fejlesztésével foglalkozik; az egyik egy retinás hámsejt transzplantátum a vakságot előidéző makuláris degenerálódás kezelésére, a másik egy T-limfocita transzplantátum AIDS betegek kezelésére.

A Cell Genesys cég módszerének egy alapvető problémája van, éspedig az, hogy a HLA jelzőktől megfosztott sejtek az immunrendszer számára láthatatlanok. Ez azt jelenti, hogy a beteg im-

munrendszere nem tudja ezeket a behatolókat felismerni, ha valamilyen oknál fogva veszélyesekké válnának. A cég ezért azzal foglalkozik, hogy biztonság kedvéért olyan gént építsen be, amely specifikus gyógyszerérzékenységgel rendelkezik, ami lehetővé teszi az átültetett sejtek kiküszöbölését.

A hemofília génterápiás gyógyítása

Gene therapy advance for haemophilia. = Biotech News, 1.k. 11.sz. 1992. január p.8. T.OMIKK

A Michigan Egyetemen Barr Eliav doktor izomsejtek injekciójával a hemofiliát gyógyító géneket ültet be hamarosan beteg kutyák szervezetébe. A további egérkísérletek igen érdekes eredményekkel végződtek. A tervezett kísérlet fontos lépést jelenthet a beteg emberek gyógyítása felé.

Alzheimer-kóros egerek a látáhatáron

Alzheimer-disease advance. = Biotech News, 1.k. 11.sz. 1992. január p.9. T.OMIKK

Amerikai (Mount Sinai Medical Center, New York) és japán (Yamanouchi Pharmaceutical of Tokyo) kutatók az Alzheimer-kórban szenvedő emberek-nél meglévő kóros gént beültették egér embrióba. Az így "kezelt" állatokban tanulmányozni lehet a súlyos betegség részleteit, kórfolyamatait.



Gyógyításra is használható a megfázás?

Cold Comfort. = The Economist, 322.k. 7745.sz. 1992. február 8. p.86-87. T.OMIKK

A tisztás fibrózisban(CF) szenvedők ritkán érik meg a 30-ik évüket. A betegség során károsodik a sejtek kloridcsatornájának egyik génje. Bár a szervezet valamennyi sejtje hordozza a hibást gént, elsősorban a tüdőműködések károsodik.

A hibás gén azonosítása után megnyílt az út a génterápiás gyógyítás felé.

Crystal Ronald (NIH) a megfázást okozó, tüdősejtekben szaporodó adenovírus vektorba kívánja beépíteni a helyes gént. A közelmúltban kezdték meg az első patkány kísérleteket a módosított adenovírral. A patkányoknál ugyan nem fordul elő a CF, a rendszer mégis alkalmas az Idegen gén kifejeződésének a vizsgálatára.

Smith, Alan és Ebert, Karl más megoldást választottak. Génebészeti módszerekkel állatokban kívánják termeltetni a helyes génterméket, és gyógyszerként bejuttatni a beteg szervezetébe a terápiás fehérjét. Egyelőre egérembriókba injektálták a gént, majd a beültetés után az anyaállatok tejéből szeretnék kinyerni a fehérjét. Később nagyobb, több tejet adó állatokat akarnak alkalmazni.



A veseátültetés szövődményének gyógyítása

European Biotechnology Newsletter, 121.sz. 1991. október p.3-4. T.OMIKK

Az angol Immunology (Ltd) és az amerikai Baxter Healthcare Corp. egyezségeket kötött annak érdekében, hogy a veseátültetéseket követő szövődményeket megelőzzék. Az Egyesült Államokban és Európában évente több mint 19000 veseátültetést végeznek. A betegeknek több mint 65%-a a szervátültetés után különböző tüneteket mutat, ami a beültetett vese szöveti összeférhetetlenségéhez kapcsolódik.

A szöveti összeférhetetlenség kivédésének egyik lehetősége a donor vese beültetés előtti in vitro kezelése CD45 elleni antitestekkel.

A Lancet 1989. októberi számában írtak először az anti-CD45 klinikai kipróbálásáról. A placébóval kezelt csoporthoz képest a transzplantált vese kilökődése 63%-ról 18%-ra csökkent.

Az Immunology Ltd-t 1989 áprilisában alapította Dr. Alan Munro, aki a Cambridge-i Egyetem immunológiai professzora volt akkoriban. A társaság számos célt tűzött ki maga elé: a leukocita modulációs programjukban a következők vannak: a CD45-ellenanyag, a T-sejt-antigének aktiválása mint a reumatikus ízületi gyulladás kezelésének módja, a leukocita vándorlásban résztvevő epitéliális és endotéliális sejtek. A terápiás elképzelések kiterjednek az antigén-terápiára (a citotoxikus T-sejtek aktivizálásán alapuló, agyi daganatok kezelésére; a herpesz simplex vírusfertőzéshez kapcsolódó betegségek gyógyítására).

A génterápia új alternatívája

Britain blazes an alternative trail for gene therapy. = *New Scientist*, 133.k. 1808.sz. 1992. január. T.OMIKK

Az angol kutatók Williamson, Bob vezetésével amerikai kollégáiktól eltérő rendszert kívánnak használni génterápiás gyógyításra. Módosított vírusfor-dozó helyett mesterséges kromoszómákat, minikromoszómát kívánnak alkalmazni.

Az előnyök: stabilabbak a vírusról, nagyobb mennyiségű DNS bevitelére alkalmasak, a sejtek osztódásakor bekerülnek az utódsejtekbe, így egyszeri kezelés egész életre szóló gyógyulást jelenthet.

A kezdeti génterápiás beavatkozásokot minden bizonnyal vírus-vektorokkal végzik, de 15-20 év múlva a minikromoszómáké lehet a fő szerep.

A rák megelőzése

Henderson, B.E.; Ross, R.K. stb.: Toward the primary prevention of cancer. = *Science*, 254.k. 5035.sz. 1991. nov. 22. p.1131. T.OMIKK

A rákbetegségek jó része megelőzhető az életstílus változtatásával vagy orvosi beavatkozással. A tüdőrák okozta halálesetek száma a dohányzás csökkentésével érhető el, ami elég lassan halad az USA-ban. Az étrend változtatásával csökkenthető a vastagbélrák kifejlődésének kockázata, ez a második legelterjedtebb rákfajta.

Tumor szupresszor gének

Weinberg, R.A.: Tumor suppressor genes. = *Science*, 254.k. 5035.sz. 1991. nov. 22. p.1138. T.OMIKK

Az utóbbi évtizedben a tudósok elkezdtek foglalkozni a rák molekuláris eredetével. A sejt onkogének után most a tumor szupressziós gének állnak a figyelem középpontjában.

A növekedési faktorok és a rák

Aaronson, S.A.: Growth factors and cancer. = *Science*, 254.k. 5035.sz. 1991. nov. 22. p.1146. T.OMIKK

A növekedési faktorok normál tevékenységét irányító jelzési utak a rák esetében megbomlanak. Az onkogének a mitogén jelzésben a kritikus lépésekben részt vesznek a működésben. A sejtciklus előrehaladásához szükség van a növekedési faktorok két kiegészítő osztálya egybehangolt tevékenységére, és az onkogének helyettesítik az egyik ilyen növekedési faktor készlet tevékenységét. A növekedési faktorok befolyásolják a normál sejt differenciációt is, és a növekedést elősegítő utak konstitutív aktiválása a ráksejtekben modulálhatja a sejt fenotípusát is. A növekedési faktorok és citokinek parakrin tevékenysége befolyásolhatja azon genetikai események lépéssorozatát, amelyek a rosszindulatú jelleg kialakulásához vezetnek. Új terápiák megközelítéssel dolgoznak, amely beavatkozik a növekedési faktor jelzésútjainak egyes lépéseinél.

Kromoszómaelváltozások és a rák

Solomon, E.; Borrow, J. stb.: Chromosome aberrations and cancer. = Science, 254.k. 5035.sz. 1991.nov.22. p.1153. T.OMIKK

A rák meghatározható úgy, mint olyan genetikai események sorozata, amely a sejtek egy klónjában végbemenő korlátozott számú specifikus génben (onkogének és szupresszor gének) végbemenő elváltozások miatt. Az egyes ráktípusokkal járó kromoszómaelváltozások társítása alapján azonosítottak ilyen géneket és meghatározták működési mechanizmusukat. Kromoszómaelváltozásokat nemcsak ritka tumorfajtáknál, hanem pl. a tüdő-, gerinc- és mellráknál is megfigyeltek. A kromoszómaaktivitás alapján azonosított mutáns gének segítségével jobban leírható az onkogenezis molekuláris jellege.

A daganatfejlődés transzgenikus modellje

Adams, J.M.; Cory, S.: Transgenic models of tumor development. = Science, 253.k. 5035.sz. 1991.nov.22. p.1161. T.OMIKK

Számos rákra hajlamos törzset hoztak létre a daganatkeltő gének bevitelével a megtermékenyített petébe. Az összes transzgenikus törzsből fejlődhet valamilyen daganat, de ez a folyamat rendszerint sztochasztikus, mivel a bevitt onkogénnel együttműködő gének spontán mutációjára van szükség. Az egerek segítségével bepillantást nyerünk az egyes onkogéneknek a sejtszaporodásra gyakorolt hatásáról, differenciálódásáról, életképességéről, vala-

mint az onkogének együttműködéséről. Állapotuk érzékenyvé teszi a sejteket a vírusos és kémiai karcinogénekkal szemben és az ilyen egerek bizonyára jól használhatók a potenciális rákkeltők, terápiák és megelőző intézkedések vizsgálatában.

Vírusok és a humán rák

Hausen, H.: Viruses in human cancers. = Science, 254.k. 5035.sz. 1991.nov.22. p.1167. T.OMIKK

A vírusok többféle mechanizmussal járulhatnak hozzá a rákhoz: közvetlen immunszuppresszió kiváltásával vagy a gazdasajt genomjának módosításával vírusos DNS perzisztencia nélkül; közvetlenül az onkoproteinek indukálásával vagy a gazdasajt fehérjéinek kifejezése megváltoztatásával a vírusos DNS beépülés helyén. A papillómavírus, hepatitisz B, Epstein-Bar vírus és humán T-sejt leukémia-limfóma vírus fertőzéssel társuló rákok adják a világon előforduló rákok 15%-át. A méhnyak és hepatocelluláris karcinóma teszi ki a vírusokkal összefüggő rákok 80%-át. Mivel a kísérleti és epidemiológiai adatok szerint a vírusoknak van szerepe főleg a méhnyak és májrák esetén, a vírusokat a második legfontosabb kockázati tényezőnek vehetjük a humán rákok ki-fejlődésében, amelynél csak a dohányzásnak van nagyobb szerepe.



Rekombináns toxinok a rák kezelésében

Pastan, I.; Fitzgerald, D.: Recombinant toxins for cancer treatment. = Science, 254.k. 5035.sz. 1991.nov.22. p.1173. T.OMIKK

A rekombináns toxinok megcélözzák a sejtfelületi receptorokat és a daganatsejteken lévő antigéneket. A hagyományos kemoterápiától eltérő mechanizmus szerint működnek, ezért a

hagyományos gyógyszerekkel kapcsolatos keresztrezisztencia nem okozhat gondot. Nincsenek mutagének, nem okoznak másodlagos rákos állapotot, és nem gyorsítják a rák kifejlődését. Nagy mennyiségben olcsón előállíthatók a baktériumokban, homogén fehérjék formájában. Akár növekedési faktor - toxin fúziót, akár ellenanyag - toxin fúziót lehet választani, a sejtcélponttól függően.



Műszaki-gazdasági szakemberek!

Ha bővíteni akarja szakismereteit, de nincs ideje az irodalomkutatáshoz...
Ha nem szakterülete, de érdeklik más szakmák műszaki-gazdasági problémái...
tájékozódjon a

MŰSZAKI GAZDASÁGI MGMAGAZIN

című kiadványunkból

Ha olvasni vagy publikálni kívánna valamely közérdeklődésre számotartó szakterületről, közölje ötleteit. Nívós és külföldi szakirodalom alapján feldolgozott szemleciikkét – ha laptervünkbe beleillik – információs folyóiratunkban viszontláthatja. Válogatásnál arra törekszünk, hogy **egy-egy téma** – az utóbbi időben megjelent – külföldi folyóiratcikkek, esetleg könyvrészletek összedolgozásából készüljön és **a tárgykör világhelyzetének bemutatására alkalmas** legyen. A felhasznált irodalom vagy az összeállítások után közölt egyéb irodalom a további tájékozódást segíti.

Megjelenik havonta. Előfizetési díja: 6000,- Ft/év – Egyes szám ára: 500,- Ft.

Megrendelhető:
OMIKK Kiadói Igazgatóság
1428 Budapest, Pf. 12.

Érdeklődni telefonon: 118-0161

Schönviszkyné Gáldi Anna
felelős szerkesztő





Mikroorganizmusokból származó felületaktív anyagok

Georgiou, G.; Lin, S.C.; Sharma, M.M.: Surface-active compounds from microorganismus. = Bio/Technology 10.k. 1.sz. 1992. január. p.60-66. T.OMIKK

A felületaktív anyagok amfifil molekulák, melyeknek hidrofil és hidrofób területeik vannak. Ez utóbbi rendszerint egy szénhidrogén, míg a hidrofil csoport lehet nem ionos, pozitív vagy negatív töltésű, vagy amfoter jellegű. A legáltalánosabb nem-ionos felületaktív anyagok az etoxilátok, etilén- és propilénoxid kopolimerek és szorbitán észterek. A kereskedelmi forgalomban kapható ionos felületaktív anyagokra példák a zsírsavak, észterszulfonátok vagy szulfátok (anionosak) és kvaterner ammónium-sók (kationosak).

Mivel hidrofil és hidrofób csoportok vannak jelen ugyanabban a molekulában, a felületaktív anyagok inkább a különböző polaritású és hidrogénkötésű folyadékfázisok határfelületén válnak szét. Egy rendezett molekuláris hártya kialakulása a határfelületen csökkenti a felületi feszültséget (IFT) és felelős a felületaktív molekulák különleges tulajdonságaiért.

A kritikus micéllumkoncentráció (CMC) lényegében a felületaktív anyag oldhatósága egy vizes fázisban. A CMC feletti koncentrációkban az amfifil molekulák képesek összekapcsolódni és szupramolekuláris szerkezeteket, pl. micéllumokat, kettős rétegeket és vesikulákat képezni.

Számos biológiai molekula amfifil jellegű és előszeretettel válik szét a határfelületeken; ezeket nevezik bio-felületaktív anyagoknak. Fizikokémiai tulajdonságok szempontjából ezek összevethetők a szintetikus felületaktív anyagokkal. Ezenfelül a természetes eredetű amfifilek kémiai szempontból való sokfélesége nagyobb választékot biztosít a különleges felhasználási területek céljára, szorosan méretre szabott tulajdonságokkal rendelkező felületaktív anyagok szempontjából.

Műszaki és gazdasági okoknál fogva még nem terjedtek el az iparban. A jövő szempontjából azonban környezetvédelmi célokra, pl. olajszenyvedések diszperziója, nagy jelentőségük lesz, mert biológilag könnyen elbonthatóak.

Talán a legáltalánosabb amfifil szerkezet a peptid A-hélix, melyben hidrofób és hidrofil aminosavak helyezkednek el

egymással szemben. Egyes polipeptidket külön azért szintetizálnak, hogy biológiai funkciót lássanak el, mint felületaktív anyagok. A legjelentősebb példák erre a pulmonáris felületaktív anyagok, amelyek nélkülözhetetlenek a normál légzéshez és a tüdőben lévő alveoláris hártya felületi feszültségének csökkentésére szolgálnak.

A mikrobiológiai eredetű bio-felületaktív anyagok rendkívül sokfélék, ide tartoznak a glikolipidek, a lipopeptidek, a poliszacharid-fehérje-komplexek, foszfolipidek, zsírsavak és semleges lipidek. A legelterjedtebb bio-felületaktív anyagok a glikolipidek. A leginkább tanulmányozottak a *Pseudomonas aeruginosa*-ból eredő rhamnolipidek és a *Rhodococcus*-ból származó trehalóz lipidek. (1. ábra).

A Surfactin nevű lipopeptid szerkezete, amelyet a *Bacillus subtilis* készít, ugyancsak az 1. ábrán látható. A glutamin és az aszpartinsavak ionizálható oldalláncal jelentősen hozzájárulnak ennek a molekulának a kiváló felületaktív tulajdonságaihoz.

A bio-felületaktív anyagok viselkedésének leggyakrabban használt jellemzői a felületi és a határfelületi feszültség és a kritikus micéliumkoncentráció (CMC). A szakirodalomban szereplő határfelületi tulajdonságok összehasonlításánál óvatosan kell eljárni, mert az egyes beszámolókból alkalmazott kísérleti körülmények jelentősen eltérnek egymástól. Számos biológiai felületaktív anyag kis CMC értéket mutat, a fermentációs oldat felületi feszültségét 30 mN/m alá csökkenti, az n-alkánokkal

szemben mért határfelületi feszültséget pedig 1 mN/m érték alá csökkenti.

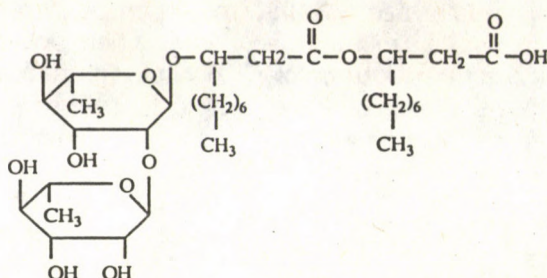
A *Rhodococcus* sp. H 13 által glikolipidek és a *Bacillus licheniformis* JF2 törzse által kialakított nagyobb felületaktív anyagok kimutathatóan lecsökkentik a vizes oldatok felületi feszültségét 26-27 mN/m értékre és a dekánnal vagy oktánnal szemben mért határfelületi feszültséget 10^{-2} mN/m értékre. Ezek az értékek kedvezően hasonlítanak a kereskedelemben kapható szintetikus felületaktív anyagokra.

Meg kell jegyezni, hogy a *B.licheniformis* JF2 és a *Rhodococcus* sp. H13A egyaránt többféle felületaktív anyagot készít, melyek úgy látszik szinergiztikusan hatnak. Egyes felületaktív anyagoknak jó a hő- és vegyi ellenálló képessége. Így pl. a *B.licheniformis* JF2 75°C-ig hőálló, legalább 140 órán át, 5,5-12 pH érték között.

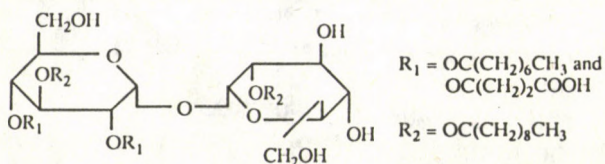
A felületaktív anyagok határfelületi sajátossággal a vizes fázis ionos összetételétől függenek. Így pl. a *B.licheniformis* JF2 fermentációs oldatának határfelületi feszültsége több mint egy nagyságrenddel csökken 10% NaCl jelenlétében, míg a kalciumsók nem befolyásolják. Érdekes, hogy ez a mikroorganizmus aerob és anaerob körülmények között egyaránt szaporodik és felületaktív anyagokat képez még 8%-ig terjedő NaCl-tartalom esetén is.

A bio-felületaktív anyagok sokfélesége következtében a bioszintetikus képződési módok is igen változatosak. Egyszerűség kedvéért három utat különböztethetünk meg, attól függően, hogy a hidrofób vagy a hidrofil tartomány, vagy mindkettő kerül "de novo"

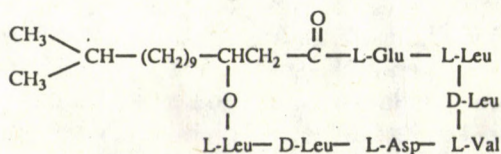
Rhamnolipid R3 Pseudomonas aeruginozából



Trehalóz-2,3,4,3'-tetraészter a Rhodococcus erythropolis-ből



Surfactin a Bacillus subtilis-ből



1. ábra: Jellegzetes bio-felületaktív anyagok szerkezete

szintetizálásra. Azok a komponensek viszont, amelyeket nem "de novo" szintetizálnak, a szénforrás, pl. cukrok, alkánok, stb. módosítása révén készülnek.

A lipopeptidek, mint pl. a Herbicolin A, vagy Surfactin esetében a lipid és a peptid tartományt egyaránt közvetlenül szintetizálják szénhidrátokból. Aminosavak vagy zsírsavak hozzáadása be-

folyásolja a kihozatalt, de a termék szerkezetét nem. A Rhodococcus erythropolis által képzett trehalóz lipidek tipikus vegyületek, amelyben a hidofil komponenst, jelen esetben a trehalóz diszacharidot, nem befolyásolja a karbon szubsztrátum, míg a zsírsavas tartomány a betáplált alkán komponens lánc hosszúságtól függ. Az Arthrobacter

paraffineus által képzett felületaktív anyagok példák egy olyan vegyületcsoportra, melyben a hidrofil (cukor) részt a karbonforrás befolyásolja. Fruktóz lipidek képződnek, ha a mikroorganizmusokat fruktózon mint karbonforráson szaporítják, míg a glükóz és szacharóz lipidek vannak túlnyomó többségben a szacharózon szaporított kultúrában.

A biológiai eredetű felületaktív anyagok zsírsav komponenseit a jól jellemzett lipid metabolizmus útján szintetizálják. A hidrofil részek szerkezete viszont nagyobb fokú bonyolultságot mutat. Újabb tanulmányok fényt derítettek a lipopeptid antibiotikumok aminosav részének keletkezésére. Ezeket a lipopeptideket, amely érdekes felületaktív jellemzőket mutatnak, nem-riboszómás úton szintetizálják, sokfunkciós nagy enzimkomplexek segítségével, melyre példa a gramicidin S szintetáz. Az első lépés ebben a folyamatban az aminosavak ATP-vel történő aktivizálása. Az aktivált intermediereket a gramicidin S szintetáz komplex megfelelő helyeihez kötik tioéter kötésekkel. Az aminosav intermediereket az enzimen lineárisan rendezik el, annak a sorrendnek megfelelően, amely szerint történik a beépítésük a szaporodó peptidbe. Szükség van még egy reaktív SH-csoporttal bíró pantein kofaktorra, mely mint egy lengőkar bonyolítja a szaporodó peptid transzportját az aktivált aminosavak csatlakozási helyei között. A szintézisnek ezt a módját thiotemplát mechanizmusnak nevezik.

A bio-felületaktív anyagok fiziológiai jelentősége az amfifil jellegükből következik. A szénhidrogének oldatba vitele

felületaktív anyagok segítségével a tápanyagfelvétel és hasznosítás szempontjából számos mikroorganizmus esetében igen fontos lépés. Az emulgálásnak a nem poláros szubsztrátok biológiai úton történő lebontása és a mikrobiológiai szaporodás fokozása szempontjából való jelentőségét számos tanulmány mutatta ki. A sejthez kötött bio-felületaktív anyagok összefüggésben vannak a felületek tapadásával és a szénhidrogének szállításával. Végül pedig egyes bio-felületaktív anyagoknak, főleg a lipopeptideknek antibiotikus és/vagy biosztatikus tevékenységeik is vannak. Az antibiotikus funkciójuk összefüggésben van a hidrofil molekulákat megkötő és a membránok közötti megosztásra való képességükkel. Így pl. a rahmolipidek és a Surfactin az egymással versenyző mikroorganizmusok sejtfal komponensei oldatbavitelénél fejlik ki tevékenységüket.

Noha a bio-felületaktív anyagok gyártásának genetikai elemzése most még egy korai fázisban van, a rekombináns DNS fokozatosan térít hódít a bio-felületaktív anyagok gyártásának kézbevétele szempontjából.

A DNS átvivő rendszerek, beleértve a vektorokat és fágokat, már számos bio-felületaktív anyag gyártó mikroorganizmusokhoz, mint pl. *Bacillus* és *Rhodococcus* sp. rendelkezésre állnak.

A genetikai tanulmányoknál a fő problémát a mutánsok kiszűrésének kérdése okozta, mivel a felületi feszültség megváltozása önmagában nem egy *in situ* könnyen kimutatható tulajdonság. Sikeresült felületnedvesítő anyagokat képező sejteket identifikálni köz-

vetlen vékonyréteg kromatográfia segítségével egyetlen mikroorganizmus kolóniából. A bio-felületaktív anyagok mennyisége azonban rendszerint túlságosan kevés a kimutatásukhoz. Más szerzők beszámoltak egyes bio-felületaktív anyagok hemolitikus tulajdonságának vizsgálatáról, melynek révén egy egyszerű eljárás alakult ki, mely a vér agaron szaporított kolóniák körül képződött nyitott zónán alapul. Lehetővé vált így egy B. subtilis mutáns elkülönítése, mely háromszor olyan mennyiségű Surfactint képzett, mint a vad változat.

A bio-felületaktív anyagok fermentálással történő előállításánál az a cél, hogy a termelékenység maximális legyen, minél nagyobb legyen a karbonforrás hasznosításának mértéke és hogy nagy legyen a végső koncentráció. Fontos továbbá az egyéb metabolikus termékek felgyülemelésének csökkentése, ami a felületaktív anyag fizikai tulajdonságait vagy visszanyerését befolyásolhatja.

A bio-felületaktív anyagok sokfélesége miatt nem lehet általános irányelvet adni a gyártásukra, hanem a fermentálást esetenként kell optimalizálni. A legtöbbjük az exponenciális fázisban jut a kultúra közegébe, de egyeseket nyugvó sejtek vagy rögzített katalizátorok állítanak elő. Egyes esetekben a felületaktív anyagok a szaporodási szakasz egy része során képződnek, majd ezt követően vagy inaktíválják őket, vagy beépítik más metabolitokba.

A karbonforrás megválasztásának fontos szerepe van a bio-felületaktív anyagok hozama és szerkezete szempontjából. Vannak mikroorganizmusok,

melyek csak akkor képeznek bio-felületaktív anyagokat, ha szénhidrogénnel történt a szaporításuk, vannak, amelyek egyszerű, vízoldható szubsztátókat igényelnek, pl. szénhidrátokat vagy aminosavakat.

A szaporodási közeg egyéb komponenseinek is lehet hangsúlyozott hatásuk a bio-felületaktív anyagok termelésére. Így pl. a Surfactin termelés fokozható a közeg vas- és mangántartalmának növelésével. Egyes antibiotikumok, pl. a penicillin vagy a klóramfenizol elősegíthetik, de akadályozhatják is a különböző felületaktív anyagok gyártását. Egyes esetekben a kihozatal javítható, ha a kívánt terméket vagy az inhibitor hatású metabolitokat folyamatosan kivonják a közegből.

Jelentős befolyása van végül is a végső koncentrációra és a volumetrikus termelékenységre a szaporodási hőmérsékletnek, a pH-nak és az oxigénátbocsátásnak.

A biológiai felületaktív anyagok preparatív célból történő elválasztása csak néhány egyszerű lépést igényel. Ezek a kicsapás, szerves extrahálás vagy adszorpciós kromatográfia. A vízoldhatatlan anyagokat, pl. a *T. bombicola* által termelt glikolipideket nehéz olaj formájában lehet centrifugálás után elkülöníteni. A Surfactint és egyéb terhelte termékeket savas (pH=2) kicsapással különítheti el. Ammónium-szulfátot, szerves extrahálást is használnak az elválasztás céljára. Ez utóbbit alternatív megoldásként vagy kiegészítésként használják a kicsapáshoz. Alkalmazzák még az adszorpciós kromatográfiát, ioncserélő gyantákkal, aktív szénnel vagy Amber-

lite XAD-2-vel, nagyobb fokú tisztaság elérése érdekében. Használatos még az ultraszűrés, vékonyréteg gélszűrés és a reverz fázisú kromatográfia is.

A bio-felületaktív anyagok felhasználási lehetőségét meghatározza a költségük és tulajdonságaik a konkurens szintetikus vegyületekhez viszonyítva. Az élelmiszer- és vegyiparban általában nem versenyképesek a nagyobb gyártási költségek miatt. A szintetikus felületaktív anyagokkal kapcsolatos környezetvédelmi problémák miatt kezd a mikrobiológiai úton készített termékek javára billenni a mérleg. Ezen túlmenően az utóbbiak kémiai sokfélesége következtében fizikokémiai tulajdonságaik rendkívül változatosak, és ezért egyes vegyületek különösen alkalmasak speciális célokra. Így pl. a BL-86 jelű biológiai felületaktív készítmény kiváló diszpergáló szer a kerámiagyártás területén.

Hosszú időn keresztül a harmadlagos olajkinyerés (EOR) volt a biológiai felületaktív anyagok számára az egyik legfontosabb fejlesztési terület. A hatékony olajkinyeréshez a felületaktív anyag képes kell, hogy legyen az olaj és a víz közötti határfelületi feszültség 10^{-2} mN/m érték alá csökkentésére. A jelenlegi olajárak mellett az az eljárás azonban nem gazdaságos, és ezért nem ígérkezik nagyobb piacnak. Egy másik ilyen módszernél a mikroorganizmusokat bejuttatják az olajlelőhelyekre és ott in situ történik a szaporításuk. A kísérletek segítségével ki tudták mutatni, hogy a felületaktív anyagok fíymódon való képződése az elsődleges tényezője a fokozott olajmobilitásnak. Ez a mikrobiológiai úton történő fokozott olajkinye-

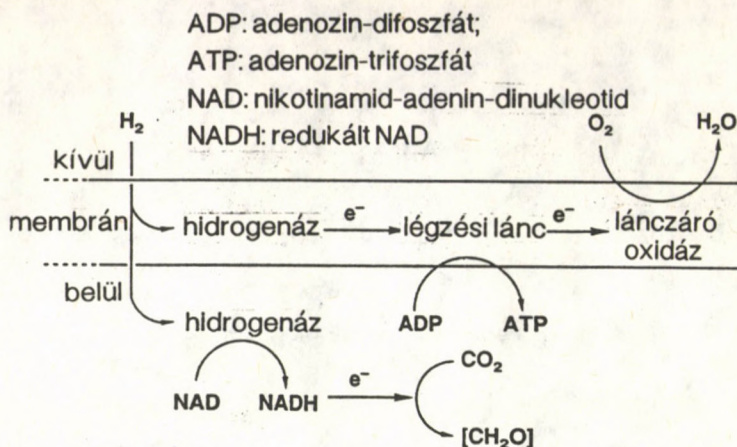
rés gazdaságosságl szempontból kedvező, de még számos műszaki akadályt kell legyőzni, mielőtt az ásványolaj-iparban széleskörűen fogják alkalmazni.

A bio-felületaktív anyagok kiválóan alkalmasak környezetvédelmi célokra. Így pl. a vízben oldhatatlan szennyező anyagok diszpergálása és/vagy oldatba vitele jelentős lépésnek bizonyul. Felületaktív anyagok szükségesek még szerves anyagoknak a talajból való eltávolítására és a mikroorganizmusok asszimilációját elősegítő emulziók képzéséhez. A bio-felületaktív anyagok előnye, hogy nincs, vagy csak igen csekély hatásuk van a környezetre, és hogy in situ állíthatók elő. Az újabb kutatások kimutatták, hogy milyen eredményesen tudták felhasználni a bio-felületaktív anyagokat a talajban lévő szerves szennyezések elbontásának elősegítésére és az emlékezetes Exxon-Valdez-féle olajszenyezés diszpergálására.

H₂ fejlődés forró baktériumokból

Adams, M.W.W.: H₂ from hot bacteria. = Chemtech, 21.k. 11.sz. 1991. p.692-699.

Meglepően nagyszámú baktérium képes oxidálni, vagy molekuláris hidrogént fejleszteni. Ezekben a mikroorganizmusokban a H₂ reverzibilis aktivitását egy hidrogenáz enzim katalizálja. Kevés enzimnek van annyi biotechnológiai alkalmazási lehetősége, mint a hidrogenáznak. Mivel a H₂ egy nagyon hatékony energiahordozó és az évente fejlesztett kb. 1011 m³ H₂ zöme fosztilis eredetű, sokféle biológiai alapú H₂-előállítás módszert dolgoztak ki laboratóri-



1. ábra: A hidrogenáz szerepe az aerob, H_2 -oxidáló, mezofil baktériumokban / optimális szaporodás $20-40^\circ C$ /

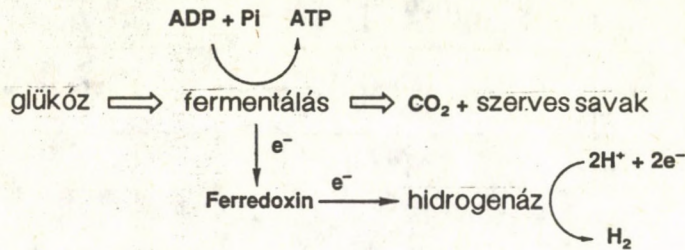
umi szinten, beleértve számos fotoindukált rendszert is.

A hidrogenáz segítségével képződő H_2 számos kémiai reakcióban végez redukciót, így pl. a CO és H_2 alapú metilalkohol-gyártásnál vagy az olyan különleges vegyi anyagoknál, mint a szteroidok. Használatát javasolták az atomenergia-rendszerben a platina helyettesítésére a hidrogén és a deuterium, ill. tritium elválasztására, vagy pl. szerves vegyületek H_2 -ből és CO_2 -ből enzimes katalízissel való előállítására.

A hidrogenáz vagy bármely enzim fentiek szerinti alkalmazásának korlátot szab, hogy nem állandók: $60^\circ C$ felett, ill. szélsőséges pH értékek hatására elvesztik aktivitásukat. Ennek elkerülése úgy lehetséges, ha a hidrogenázt baktériumokból nyerik, amelyek a H_2 -t szélsőséges körülmények között is képesek előállítani vagy oxidálni. Ilyen baktériumokat sikerült találni a közelmúltban, amelyek $100^\circ C$ körül, ill. felett is képe-

sek szaporodni és amelyek közül számos tud H_2 -t metabolizálni. Ezek blokémiaja azonban még nem ismeretes. Ennek tisztázása érdekében először az ún. mezofil baktériumokat kell megismerni, amelyek $20-40^\circ C$ -on működnek optimálisan, valamint a belőlük történő hidrogenáz képződést.

A H_2 felhasználás a mikroorganizmusok számára biztosítja az elektronellátást. Az elektronok képezik a szükséges energiát a szaporodáshoz és azon szerves vegyületek redukálásához, melyek beépülnek a sejttanyagba. Így számos aerob baktérium tartalmaz hidrogenázt a sejt membránjában (1. ábra). A H_2 (H^+ és az O_2) H_2O reakciók közötti energiakülönbséget használják az adenzin-trifoszfát (ATP) nagyenergiájú foszfátkötésének szintéziséhez adenzin-difoszfátból (ADP) és szervetlen foszfátból (Pi). Ezek a baktériumok tartalmazhatnak még egy pótlólagos hidrogenázt a sejten belül, amely a H_2 -t oxi-



2. ábra: A hidrogenáz szerepe az anaerob, H₂ képző, fermentációs baktériumokban. Pi: szervetlen foszfát

dálja, és az elektronokat az NAD-nak NADH-vá való redukálásához használja fel.

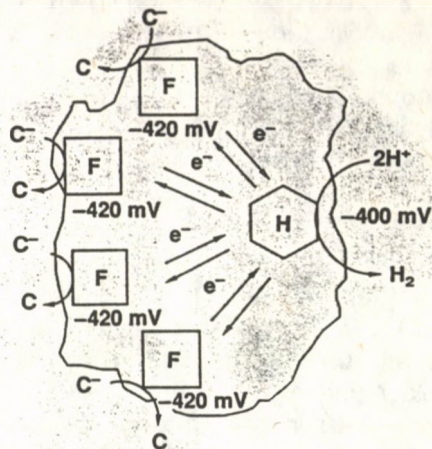
Néhány egyéb aerob baktérium képes az atmoszferikus N₂-t NH₄⁺-é redukálni, ami aztán beépül a sejtanyagba. Ezek a baktériumok is tartalmaznak hidrogenázt, ami a feltevés szerint újból oxidálja a képződött H₂-t, úgy hogy bizonyos mennyiségű ATP képezhető O₂ redukció útján. A hidrogenáz növeli a nitrogénmegkötési folyamat hatékonyságát.

Az anaerob baktériumok nem tudják a H₂ oxidációját az O₂ redukciójával összekapcsolni, de számosan közülük képesek energiát megőrizni egyéb anyagok H₂-nel történő redukciója révén. A természetben ezek közül a legfontosabb a CO₂, melyet metanogén baktériumok metánná redukálnak, valamint az SO₄²⁻ amelyet a szulfát redukáló baktériumok kénhidrogénné redukálnak. Mindegyik esetben az energia-konzerválás az ADP-nek ATP-vé történő

nő elektronátvitelhez kapcsolt foszforilezisével történik, amit aztán a sejtanyag szintéziséhez használnak.

A H₂-nek baktériumok által történő előállítása főleg anaerob folyamat. Így pl. egyes baktériumok különböző szénhidrátok oxidációja segítségével szaporodnak, miközben CO₂-t és szerves savakat képeznek (2. ábra). Ez esetben az ADP-ből történő ATP előállítás révén történik az energia konzerválása. A nehézséget ezeknél a mikroorganizmusoknál a szénhidrát oxidáció során keletkező elektronok elhelyezése okozza. Ezeket eleinte egy kis, vastartalmú, ferredoxin nevű redox fehérjébe viszik át, de ezt újra oxidálni kell, hogy a fermentációs folyamat folytatódjon. Ez a redukált ferredoxinból eredő elektronoknak egy hidrogenázba való átvitelével történik, mely aztán H₂-t képez.

A hidrogenázok, melyeket csaknem 60 évvel ezelőtt azonosítottak először, valamennyien vas- és szervetlen-kén-



3. ábra: Az elektronáramlás javasolt útvonala egy mezofil Fe-hidrogenázban. A "H" és "F" különböző típusú Fe-S fűrtöket jelentenek, a C- és a C az enzim elektron hordozójának redukált és oxidált alakjai.

tartalmúak. 1981-ben mutatták ki először, hogy a hidrogenázok Ni-t is tartalmaznak. Azóta csaknem 20 különböző Ni-hidrogenázt különítettek el, melyek többek között fotoszintetikus baktériumokból, metanogénekből szulfátredukáló baktériumokból, valamint aerob, H₂-oxidáló és N₂-megkötő baktériumokból erednek. Szerkezetük nagymértékben homológ, legalább egy Ni és nyolc Fe atomot tartalmaznak. A monomer Ni elsősorban a kénnel van koordinálva, a kén pedig a ciszteln egyik oldalsó csoportjának részét képezi. Van néhány olyan Ni-hidrogenáz, melyeknél az aktív nikkkel-helyzetet koordináló kénatomot szelén helyettesíti, mely szelén-ciszteinként van jelen. A Fe ezekben az

enzimekben Fe₄S₄ típusú fűrtök formájában van jelen, a ferredoxinban előfordulóhoz hasonlóan. Az FeS fűrtökről azt tételezik fel, hogy a hidrogenázokban ők viszik át az elektronokat az aktív Ni-helyzetekhez és vissza.

A Ni-hidrogenázok tisztított állapotban igen lassú ütemben katalizálják a H₂-képzést, míg a csak Fe-tartalmú hidrogenázok gyakran nagyságrendekkel aktívabbak. Ezeket eddig csak szigorúan anaerob baktériumokban találták, ahol elsődlegesen H₂-t fejlesztenek. Ezekre az oldható, monomer enzimekre a CO és a nitritek inhibitor hatást fejtenek ki. Egy új típusú Fe-S fűrtöt (ún. "H"-fűrt) tartalmaznak valószínűleg, mely a CO inhibitor kovalens módon megkötö, és

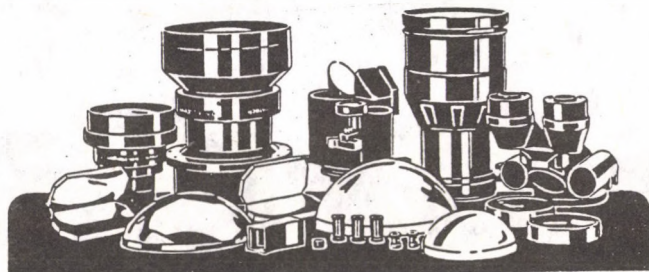
akár hat Fe atomot is tartalmazhat. A Fe-hidrogenázok legalább két ferredoxin típusú Fe_4S_4 vagy ún. "F" fűrtöt is tartalmaznak, melyekről feltételezik, hogy a "H"-fűrt és a külső elektronhordozó közötti elektronátvitelt végzik (3. ábra). A fentiek alapján tehát a mezofil mikroorganizmusokban két különböző hidrogenáz-típus ismeretes.

A termofil baktériumokkal igen nagy érdeklődést keltettek az 1982-ben felfedezett és a tengeralatti vulkán kitörésekből eredő, optimálisan 105°C -on szaporodó baktériumok. Azóta csaknem 20 olyan baktériumfélélt különítettek el, mely 80°C felett szaporodik. Ezek közül csak egy nem tartozik az ún. archaebaktériumok közé. Az archaebaktériumokkal kapcsolatban a 70-es évek végén kimutatták, hogy a metánképző, valamint a különösképpen halofil baktériumok specifikus rokonságot mutatnak egymással, de távoli rokonok az összes többi, eubaktériumnak nevezett baktériumokkal. Az előbbieknél új membrán lipidjeinek és sejtfaik vannak, továbbá az eubaktériumokkal szemben számos egyedi enzimmel és kofaktorral rendelkeznek. Azóta kimutatták, hogy a szélsőségesen termofil mikroorganizmusok az archaebaktériumok harmadik nagyobb ágát képezik.

Az egyedüll eubaktérium, amely szélsőségesen termofilnek nevezhető, a Thermotoga.

A szélsőségesen termofil mikroorganizmusokat a sekély, geotermikusan melegített tengervízben és a forró édesvízi forrásokban sikerült elkülöníteni. Ezenkívül több ilyen baktériumot tudtak kivonni az újonnan felfedezett, 2-3 km mélységben lévő mélytengeri vulkánikus hőforrásokból. Ez utóbbiakból eredő túlfűtött víz nagy mennyiségű ásványi anyagot vesz fel és oldott gáz formájában H_2S -t, CO -t, CO_2 -t és CH_4 -et tartalmazhat. Az ilyen környezet metabolikus szempontból óriási változatosságot tesz lehetővé.

Csaknem az összes termofil baktérium a szaporodás szempontjából, többé-kevésbé az elemi kéntől (S^0) függ (1. táblázat). A felsoroltak közül csak az Acidianus és a Desulforolobus képes aerob úton szaporodni, míg a többiek kizárólag csak anaerob körülmények között szaporodnak és többnyire az elemi kénnek kénhidrogénné történő redukciójával összefüggésben. Egyesek szerves anyagokat használnak elektronforrásként az S^0 redukciójához, de a S^0 redukcióját legtöbbjük a H_2 oxidációjával kapcsolja össze.



Fajok	T _{max}	T _{opt}	H ₂ metabolizmus ^{a/}	Elkülönítés dátuma
Eubaktériumok				
Thermologa	90°	80	+H ₂	1986
Archaeobaktériumok				
S⁰-tól függők				
Thermoproteus	92°	88°	-H ₂	1981
Staphylothermus	98°	92°	?	1986 ^{b/}
Desulfurococcus	90°	87°	-	1982 ^{b/}
Thermofilum	100°	88°	-	1983
Pyrobaculum	102°	100°	-H ₂	1987
Acidianus	96°	90°	-H ₂	1987
Acidianus	96°	90°	-H ₂	1986
Desulfurolobus	87°	81°	-H ₂	1986
Pyrodictium	110°	105°	-H ₂	1983 ^{b/}
Thermodiscus	98°	90°	-H ₂	1986
Pyrococcus	105°	100°	-H ₂	1986
Thermococcus	97°	88°	?	1983 ^{b/}
Hyperthermus	112°	100°	-H ₂	1990
"ES-1"	91°	82°	-	1989 ^{b/}
"ES-4"	110°	100°	?	1990 ^{b/}

a/ A H₂ metabolizmus azt jelzi, hogy a kérdéses mikroorganizmus hasznosítani tudja-e a H₂-t energiaforrásként (+H₂) vagy a szaporodás közben H₂-t fejleszt (-H₂), vagy nem metabolizálja a H₂-t (-). A "?" azt jelenti, hogy a mikroorganizmus tartalmaz hidrogénáz aktivitást, de úgy tűnik, hogy nem metabolizál H₂-t a szokásos szaporodási körülmények között.

b/ A mélytengeri hidrotermikus forrásokból elkülönített fajták.

A *Pyrococcus furiosus* és a *Thermotoga maritima* archaeobaktérium ill. eubaktérium egyedül az S⁰-tól függő baktériumok között, mert aktívan H₂-t fejlesztenek és nem nyernek energiát az S⁰-nak kénhidrogénné való redukciója következtében. Mindegyik különböző, H₂-t, szerves savakat és CO₂-t mint végterméket képező szénhidrátok fermentációja révén szaporodik. A szapo-

rodásuk kedvező, ha a tenyészetet iners gázzal fúvatják át, hogy eltávolítsák a szaporodást gátló H₂-t.

Mindkét mikroorganizmus képes a S⁰-t kénhidrogénné redukálni, de ez a H₂ eltávolítására szolgáló mechanizmusnak tűnik, ezáltal csökkentve a H₂ inhibitor hatását. Az a képességük, hogy többlet redukálószerként inkább kénhidrogént, mint H₂-t tartalmaznak, úgy

látszik, hogy a szélsőségesen termofil fermentáló mikroorganizmusok egyik jellemzője. Mindkét mikroorganizmus legnagyobb előnye, hogy 80-90°-on szaporíthatóak S⁰ nélkül, nagy (100 l) fermentáló tartályokban.

A többi termofil mikroorganizmus esetében nem alkalmazhatók a mezofil mikroorganizmusok nagy volumenű (100 l) tenyészetéhez használt rozsdamentes kádak, az előbbieknél nagy térfogatban keletkező toxikus és korróziót okozó H₂S gáz miatt. Az USA-ban az első ilyen 500 l-es fermentálót a B.Braun Biotech cég fogja felállítani 1992 elején a Georgia Egyetemen, mely 150 °C-ig lesz használható, valamennyi az 1. táblázatban felsorolt mikroorganizmus tenyészetéhez.

A szélsőségesen termofil mikroorganizmusok metabolizmusáról még nagyon keveset tudunk és még kevesebbet a velük összefüggő enzimekről. Így pl. a szerző 1989-ben számolt be az első enzimről, amelyet egy 100 °C-on szaporodni képes mikroorganizmusból vontak ki és tisztítottak meg. Mostanáig tisztított hidrogenázt még csak a szélsőségesen termofil S⁰-függő *T.maritima*-ból és két hipertermofil mikroorganizmusból, a *P.furiosus*-ból és a *Pyrodictium* (Pm.) *brockii*-ből nyertek ki.

A 110 °C-ig autrop módon H₂-n és CO₂-n szaporodó *Pm.brockii* H₂ oxidáló aktivitása összefüggésben van a sejtmembránnal, feltételezve, hogy része a membránhoz kötött elektrontranszport rendszernek, mely be van vonva az energia (ATP) fejlesztésbe, a H₂ oxidációhoz kapcsolódóan. Az újabb vizsgálatok kimutatták, hogy a *Pm.brockii* hidro-

genáz molekuláris összetétele, valamint Ni- és Fe-tartalma hasonlít a mezofil Ni-hidrogenázokéhoz. Ennek megfelelően ez az enzim preferálja a H₂-oxidáció katalízisét.

A mezofil Ni-hidrogenázokkal ellentétben, melyek 70 °C-on már néhány perc alatt elvesztik az aktivitásukat, a *Pm.brockii* tisztított és membránhoz kötött alakjai egyaránt 1 óráig 98 °C-on való tartás után aktivitásuk 50%-át veszítettek csak el. Mivel mezofil és a szélsőségesen termofil mikroorganizmusok szaporodásának optimális hőmérsékletei közötti különbség 70 °C, nagyon nagy az érdeklődés a homológ hidrogenázaik szerkezeti különbségéről.

A *P.furiosus* a fermentatív szaporodása során aktívan termel H₂-t, optimálisan 100 °C-on. A belőle kivont hidrogenázt szigorúan anaerob, redukáló körülmények között tisztították, S⁰-t nem tartalmazó közegben szaporított sejtekből. Az enzim móltömege 185 000 és kb. 30 Fe-, 24 szervetlen S- és 1 Ni-atomot tartalmaz molekulánként. A legtöbb egyéb hidrogenázhoz képest a feltehetően FeS-fürtönként jelenlévő Fe és S tőredékét tudták EPR-spektroszkóp vizsgálattal kimutatni, mégpedig egy Fe₂S₂- és két F₄S₄-fürtöt a redukált enzimből, míg az oxidált fehérjét nem. Az enzimből lévő Ni-t és a Fe legnagyobb részét ezzel a módszerrel tehát nem tudták kimutatni. Feltételezhető tehát, hogy a *P.furiosus* enzimből a mezofil hidrogenázban lévő Ni-S és az Fe-S katalitikus hely. A szerzők ezért további spektroszkópiai vizsgálatokat végeznek annak eldöntésére, hogy a *P.furiosus* enzimből mi helyettesíti ezeket a H₂-aktiváló Ni-S és Fe-S központokat.

A *P.furiosus* hidrogenáz aktivitásának legnagyobb részét megtartja még, ha 1 órán át 100 °C-on is tartják, míg a korábban ismert leginkább tiszta hidrogenázok 80 °C-on már 20 perc alatt elvesztik aktivitásuk 50%-át. Az optimális hőmérséklet a H₂ oxidálás és H₂ termelés katalizálása szempontjából 95 °C. Meglepő, hogy ez az enzim a H₂ fejlesztést a Fe hidrogenázhoz hasonló ütemben katalizálta, nem pedig a Ni-hidrogenázhoz hasonlóan.

A *P.furiosus*-ból származó ferredoxin a hidrogenáz természetes elektrondonorja. Az enzim H₂ fejlesztési aktivitása 350-szeresére nőtt, ha a hőmérsékletet 45 °-ról 90 °C-ra emelték.

A szélsőségesen termofil *Thermotoga maritima* fermentációs körülmények között szaporodik és metabolizmusának végterméke az aktívan fejlesztett H₂.

A szerző nemrég tisztította homogéná a *T.maritima*-ból nyert hidrogenázt. Az enzimet a S⁰-távollétében szaporodott sejtek citoplazma frakciójából nyerték. Móltömege 280 000 és kb. 20 Fe- és 18szervetlenS-atomot tartalmaz, de hiányzik belőle a Ni. A *T.maritima* H₂-aktiválási helye eltér a mezofil hidrogenázokétól; erre utal az, hogy ez utóbbiakra a nitritek fejtenek ki inhibitor hatást, míg az acetilén nem, szemben az előbbivel, mely érzéketlen a nitrittel szemben, míg az acetilén inhibitorként hat rá.

A tisztított *T.maritima* hidrogenáz hőállósága hasonló a *Pm.brockii* hidrogenázéhoz, de jóval kisebb, mint a *P.furiosus* hidrogenázéé. 1 órás 90 °C-on való tartás után az aktivitásának 50%-át elvesztette. A *T.maritima* enzimek katali-

záltak H₂-fejlesztést és oxidációt 95 °C-ig terjedő hőmérsékleten, bár inkább az utóbbit preferálták.

A szerző legújabbban azt tapasztalta, hogy ha volframot adtak abba a közegbe, amelyben a *T.maritima* szaporodott, akkor nagymértékben megnőtt az enzim sejtkoncentrációja és in vitro katalitikus aktivitása, noha a belőlük nyert, tisztított hidrogenázok és a W nélkül szaporítottak fizikai tulajdonságai között semmi különbséget nem észleltek. Feltehetően a két enziforma katalitikus központja tér el nagyon egymástól.

A szerző kimutatta azt is, hogy a W stimulálja a *P.furiosus* szaporodását és nemrég sikerült tisztított formában kinyerni ebből a mikroorganizmusból egy W-tartalmú aldehidoxidáló enzimet, amely a maga nemében eddig a második a világon. A *P.furiosus*-ban a W-enzim része egy új útnak, amely a glükózt oxidálja szerves savakká, CO₂-vé és H₂-vé, amelyben az aldehidoxidáció közvetlenül kapcsolódik a H₂ képzéshez a W-enzimen, ferredoxinon és a hidrogenázon keresztül. A *T.maritima*-nak azonban hiányzik ez az aldehidoxidáló képessége, és a W szerepe ebben a mikroorganizmusban és hatása a hidrogenázéra még nem ismeretes.



KORRÓZIÓ-val foglalkozók figyelmébe ajánljuk

Megjelent a „Magyar nyelvű korróziós tárgyú munkák jegyzéke 1983–1990” című bibliográfia, amely a jelzett időszakban magyar nyelven megjelent korróziós tárgyú folyóiratcikkeket tartalmazza. A bibliográfia a korábban megjelent ilyen tárgyú összeállítások folytatása, ezek III. kötetének tekinthető.

Az 1983–1990 időszakban átnézett folyóiratok száma 109. A megjelent cikkek, összesen 1154, évenként össze-sítve és a szerzők ábécé sorrendjében szerepelnek.

A bibliográfia a hazai korrózióvédelem szakembereinek tájékoztatását és ezáltal munkájuk hatékonyságát kívánja növelni.

Ne mulassza el a bibliográfiát megvásárolni!

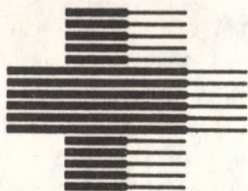
Ára: 275,- Ft.

Megrendelhető: OMIKK Értékesítési Osztály

Budapest

Pf. 12.

1428



Új AIDS vakcina

AIDS vaccine. = Biotech News, 1.k. 11.sz. 1992. január, p.8. T.OMIKK

Az angol BBN hamarosan megkezdi a klinikai kísérleteket a Clintrial software segítségével kifejlesztett AIDS elleni vakcinával. A vakcina olyan genetikailag tervezett nem-infektív vírusszerű részecskékből áll, amelybe egy belső köpenyfehérjét építettek be a részecske felszínébe. Elsősorban már megfertőződött AIDS-betegek kezelésére szánják, mivel így várhatóan fokozni lehet a szervezet saját védekezőképességét.

Az IL-2-rák elleni gyógyszer jóváhagyása

Anti-cancer drug IL-2 finally be approved. = Science, 255.k. 5044.sz. 1992. jan.31. p.528.

Amikor az FDA a Cetus Corp. céget arra utasította, hogy vizsgálja újra az IL-2-vel kapcsolatos eredményeit, a cég elvesztette presztízsét és a Chiron Corp. vezetése alá került. Az IL-2 veserák elleni készítmény viszont újraéledhet. A gyógyszerrel való kísérletek során a betegek jó része kedvezően reagált, igaz a mellékhatások (keringési

problémák, szívroham) nagy gondot okoznak. Mivel nincs más hatékony kezelési mód, az FDA 7:1 arányban igennel szavazott az IL-2-re.

Polimer rendszerek szabályozott gyógyszerbevitelhez

Kost,J.; Langer,R.: Responsive polymer systems for controlled delivery of therapeutics. = Trends in Biotechnology, 10.k. 4.sz. 1992. p.127-131. á:5, h:28. T.OMIKK

Az ideális gyógyszerbeviteli rendszernek a fiziológiai szükségletek szerint kell fedeznie a gyógyszerellátást, "érzékelve" a változásokat és ennek megfelelően változtatva a gyógyszerfelszabadítási folyamatot. A rendszer lehet kívülről szabályozott (mágnesesség, ultrahang, hőmérséklet és villamosság felhasználásával) vagy önszabályozó (H-érzékeny polimerek, enzim-szubsztrát reakció, kompetitív kötés és ellenanyag kölcsönhatás felhasználásával).



Humán gyógyszerek hármasspirálalapon

Chubb, J.M.; Hogan, M.E.: Human therapeutics based on triple helix technology. = Trends in Biotechnology, 10.k. 4.sz. 1992. p.132-136. á:1, 13, h:29. T.OMIKK

A hármasspiráltechnológián alapuló gyógyszerkutatás új gyógyszercsoport felfedezéséhez vezetett, amelyeket kezdetben vírusos fertőzések, esetleg

rák és immunológiai rendellenességek kezelésére lehet használni. A stabilitást és a szintézis költségeit már tanulmányozzák, az eredmények biztatóak. Az oligonukleotidok további kémiai módifikálására lesz szükség az affinitás és hatékonyság módosítására, és tovább kell vizsgálni a toxicitást, mutagenitást, farmakinetikát és az in vivo hatást. Több laboratórium foglalkozik a szintézis léptéknövelésével és formálásával.





NÖVÉNYTERMESZTÉS

Biztonságosak-e a szelektálható jelző gének a növények számára

Flavell, R.B.: Dart, E. stb.: Selectable marker genes safe for plants? = Bio/Technology, 10.k. 1992. febr. p.141-142,144. T.OMIKK

Az új gének bevezetése a terményekbe ígéretes lehetőség a jelentős mezőgazdasági és környezetvédelmi problémák megoldására. Így pl. már kialakítottak olyan genetikailag módosított gyapot és burgonya fajtákat, melyek a rovarokkal szemben ellenálló, valamint paradicsom és burgonyafajtákat, melyek a vírusokkal szemben ellenálló. Az említett növények genetikai kialakításához szükséges molekuláris segítség - szelektálható jelző gének - megmarad a terményben és a belőle készült élelmiszerben. A szelektálható jelző géneknek világos és életbevágó szerepe van a laboratóriumokban.

Világszerte vitatják a fenti jelző gének biztonságos voltát. Így az FDA (Élelmiszer és Gyógyszer Hivatal, Washington, DC) a Calgene Inc. cég tanulmányát vizsgálja, mely részletes háttér adatokkal szolgál az egyik jelző génről, az NPT II-ről (neomycin foszfortranszferáz II) és géntermékeiről. Az NPT II egy olyan en-

zim, amely dezaktiválja és ellenállóképeséget nyújt a neomycin és kanamycin antibiotikumoknak. A szerzők a Calgene-féle tanulmányból azokkal az érvekkel foglalkoznak, amelyek alapján arra az álláspontra jutottak, hogy nem indokolt az NPT II gén genetikailag módosított növényekben való felhasználásának korlátozása biztonsági szempontokból.

Négy alapvető kérdés tisztázandó a fentiekkel kapcsolatban: toxikus-e az NPT II géntermék, az NPT II fehérje fogyasztása veszélyezteti-e az orális kanamycin és neomycin gyógykezelést, az NPT II génnek a genetikailag módosított növényekből a környezetbe való kijutása megengedhetetlen károsodást okoz-e?

Az emberek folyamatosan fogyasztanak a kanamycinnel szemben ellenálló mikroorganizmusokat, becslések szerint különösen a nyers saláták révén, napi $1,2 \times 10^6$ mikroorganizmust.

Ami az NPT II toxikusságát illeti, egyetlen növény vagy baktérium, amelybe NPT II gént beillesztettek, sem mutatott bármilyen káros hatást, ami az NPT II fehérjének lett volna tulajdonítható. Ezt az eredményt számos üvegházi és szabadföldi kísérlet igazolta. Ugyan-

azt az NPT II gént emlősök sejtjeibe bejuttatva nem tapasztalták, hogy bármilyen hatást gyakorolt volna az életképességre vagy a szaporodásra. Emelősejtekben az NPT II "in vivo" is ártalmatlan az emberekre és állatokra. Így a Calgene cég kísérletel során rágcslókat etetett NPT II-t termelő paradicsommal és nem tapasztalt káros hatást. NPT II géneket rákbeteg emberek szervezetébe juttatták be. Az NPT II-t intracellulárisan "in vivo" képezték és nem tapasztaltak káros hatást.

A második kérdés az, hogy az NPT II fogyasztás károsan befolyásolja-e az orálisan bejuttatott kanamycin és neomycin hatékonyságát az emberi szervezetben. A válasz nemleges, mivel egyrészt az NPT II mint fehérje nem tartalmaz szokatlan aminosavakat, gyorsan elveszti aktivitását és elbomlik az emésztési folyamat során. Az emésztőszervek ritkán abszorbeálják a fehérjéket. Ez az oka annak, hogy az orvosok nem adagolhatják szájon keresztül pl. az inzulint vagy a növekedési hormonokat. Másrészt viszont az NPT II-nek az ATP-re van szüksége, hogy katalizálja a kanamycin és a neomycin dezaktiválását. Az ATP csak kis koncentrációkban van jelen az emésztőrendszerben, mert nem állandó a kis pH értéknel.

Végül is a felhasznált kanamycin és neomycin mennyiségének mindössze 0,36%-a készült 1989-ben az USA-ban az orális és gastrointestinális felhasználásra.

További kérdés, hogy az NPT II gének a növényekből humán szempontból patogén baktériumokba való átvitele veszélyezteti-e a kanamycin és a ne-

omycin hatékonyságát a humán gyógyászatban.

Az elfogyasztott NPT II DNS legnagyobb része lebomlik a gyomorban és a vékonybélben, mielőtt elérne oda, ahol a mikroorganizmusok vagy a duodenum utáni bélszéklet átalakulása létrejöhet. Mindenesetre sokkal nagyobb a valószínűsége, hogy bármely NPT II DNS, amelyet mikroorganizmusok, vagy bélszéklet vettek fel és azokban marad, a bélből eredő baktériumokból és nem növényi anyagból származik. Mivel minden ember bélrendszerében kb. 10^{12} kanamycinnel vagy neomycinnel szemben ellenálló baktérium van eleve már, bármely új átalakításnak nincs jelentősége. Ugyancsak hasonló a helyzet az NPT II géneket tartalmazó növényekkel táplálkozó állatok esetében is.

A genetikailag módosított növényekből származó NPT II gének szétoszóródása által előidézhető környezeti károsodások mértéke jelentéktelen. A szelektálható jelző gének, amelyeket a növények genetikai módosítására használnak, baktérium eredetűek és kanamycinnel szemben ellenálló baktériumok a talajban mindenütt előfordulnak. A kanamycinnel szembeni ellenállóképességet adó gének közül számos azért kerül a baktériumok között átadásra, mivel ezek transzpozonokon és plazmidokon vannak. Annak a valószínűsége, hogy egy baktérium az NPT II gént egy növényi DNS-ből kapja igen csekély egy másik baktériumhoz viszonyítva. A Calgene tanulmány szerint azt számították, hogy a kanamycinnel szemben ellenálló baktériumoknak a talajban való elszaporodásának mértéke, amit a genetikailag módosí-

tott paradicsom nagymértékben való telepítése okoz, kevesebb mint 0,0001%.

A szelektálható jelző gének nemcsak azoknak fontosak, akik genetikailag módosított növényeket alakítanak ki, de hasznosak pl. a növénytermelők, önkormányzati testületek, stb. részére is, mert segítségükkel megtakaríthatók a bonyolultabb és költséges ellenőrző vizsgálatok.

A szerzők megemlítik, hogy a közelmúltban megjelent egy közlemény, mely szerint a szelektálható jelző gének kiküszöbölhetők egy ún. Cre/Lex helyzet specifikus rekombinációval. Ez a DNS manipulációnak egy bonyolult, tudományos szempontból érdekes és hasznos módszere, mely egy modell növény, a dohány segítségével működik, de más mezőgazdasági szempontból fontos növényeken még nem bizonyították a használhatóságát. Ha a hatósági intézmények eleve úgy döntenek, hogy a szelektálható jelző géneket el kell távolítani, akkor a növényi biotechnológia segítségével sokkal nehezebb lenne feljavítani számos növényt, így pl. a paradicsomot, almát, epret, burgonyát stb. A forgalomba hozataluk 5-6 évvel elhalasztódna, ha az NPT II jelző géneket el kellene távolítani.

A szelektálható jelző gének és fehérjetermékeik a terményeknek és táplálékaiknak integrált részévé válnak. A szerzők szerint ezek sem az ember, sem a környezet szempontjából nem jelentenek veszélyt. Ezzel szemben a mezőgazdasági közösségek részére pontos, érzékeny és nem-molekuláris módszert adnak az értéknövekedést jelentő gének kimutatására a

genetikailag módosított növényekben. A szerzők véleménye szerint nincs tudományosan megalapozott indoka annak, hogy megtiltsák vagy korlátozzák a szelektálható jelző gének használatát.

Befejezésül a szerzők ismertetik a szelektálható jelző gének fontosabb változatait. Vannak olyanok, amelyek olyan fehérjéket kódolnak, amelyek ellenállóképeséget biztosítanak egyes antibiotikumokkal szemben. Ilyenek pl. a kanamycin, a hygromycin B, a methotrexate, a gentamycin és a bleomycin. Másrészt vannak olyan gének, amelyek termékel tűrőképeséget biztosítanak a növényvédő szerrel szemben, mint pl. a fosphinotricin, a sulfonilureák vagy a 2, D. Messze a legáltalánosabb használt szelektálható jelző az *Escherichia coli* K12-ből származó Transposon 5 génje, amely az aminoglükozid 3-foszfotranszferáz II (NPT II) néven ismernek, foszforilézéssel dezaktiválja a kanamycint és a neomycint. Több mint 100 laboratórium használta már világszerte az NPT II-t, több mint 30-féle növénybe vezetve be a géneket.

Egy 11 bázispár hosszú konzervatív nukleotidszekvencia a kukorica mitokondriális atp1 génjében egy esszenciális promoter elemet hordoz

Rapp, W.D. és Stern, D.B.: A conserved 11 nucleotide sequence contains an essential promoter element of the maize mitochondrial atp1 gene. = The EMBO Journal, 11.k. 3.sz. p.1065-1073. á:8, h:31. T.SZ

A kukorica atpl mitokondriális génjében 5'-végi deléciókat hoztak létre és megállapították, hogy a transzkripció start helytől -19 távolságra egy transzkripcióhoz esszenciális szakasz helyezkedik el. A pontosabb analízis igazolta, hogy a hatásért egy 11 bázispár hosszú konzervatív szekvencia a felelős. Ha az atpl gén ezen 11 bázispárnyi szakaszát mitokondriális promoter aktivitást nem mutató plazmidokba építették akkor csak egyetlen változat esetében kaptak transzkripciót. Ezért valószínű, hogy a funkcionális promoter az 5' irányban valamivel hosszabb lehet.

A borsó vicilin fehérje szignál peptidje segítségével a béta-glükuronidáz fehérje dohány növényben szállíthatóvá válik

Pang,S.-Z.,Rasmussen,J.,stb.: Use of the signal peptide of Pisum vicilin to translocate B-glucuronidase in *Nicotiana tabacum*. = *Gene*, 112.k. 1992. p.229-234. á:4, t:1, h:28. T.SZ

Hibridfehérje rendszer segítségével vizsgálták a fehérjeszállítást a növényi sejtekben. A borsó vicilinfehérje 15 aminosav hosszú szignál peptidjét kódoló nukleotidszekvenciát kapcsolták a bakteriális béta-glükuronidáz /GUS/ fehérje kódoló génhez. A hibrid gén dohánysejtekben kifejeződve a karfiolmozaik-vírus 35S promoterról a hibrid GUS fehérje az endoplazmatikus retikulumba kerül és ott glükozilálódik. A glükoziláció tunikamicin adagolásával gátolható. Növényi protoplasztokban a GUS fehérje csak kis mértékben választódik ki a sejtekből.

A protoplasztid DNS replikációs origója szövettenyészeti dohány sejtekben

Takeda,Y.,Hirokawa,H.stb.: The replication origin of proplastid DNA in cultured cells of tobacco. = *Molecular and General Genetics*, 232.k. 1992. p.191-198. á:5, t:1, h:33. T.SZ

Ha a BY2 dohány szuszpenziós sejttenyészet sejtjeit friss táptalajra helyezik, akkor a protoplasztid DNS replikációja a kromoszómális DNS replikációja nélkül 24 óráig folytatódik. A protoplasztid DNS replikáció köztes termékeit DEAE cellulóz kromatográfiával tisztították, majd radioaktívan jelölték és a dohány kloroplasztisz DNS genom különböző restriktions fragmentumaival hibridizálták. A köztes termékek főleg két nagy fordítottan ismétlődő DNS-szekvenciát hordozó fragmentumhoz hibridizáltak. A replikációs origó is erre a szakaszra térképeződik a 23S rRNS-t kódoló gén közvetlen szomszédságában.

A zab fitokróm mRNS vörös fénytől független instabilitása in vivo körülmények mellett

Seeley,K.A.,Byrne,D.H.,stb.: Red light-independent instability of oat phytochrome mRNA in vivo. = *The Plant Cell*, 4.k. 1992. p.29-38. á:5, h:50. T.SZ

A fitokróm A (phyA) mRNS mennyisége jelentős mértékben csökken a vörös fényel megvilágított 4 napos, csírázó, etiolált zab növényekben. A phyA mRNS bomlásának termékét a megvilágítás előtt ill. után is kimutathatók in vivo állapotban. A kordicepin kezelt koleoptil szövetekből nem mutatható ki a fény

hatására felhalmozódó klorofilla/b-kötő fehérjét kódoló mRNS. Ugyanebben a szövetben egyuttal a phyA mRNS mennyisége is csökken, ami arra utal, hogy instabilitását nem a vörös fényvel történő megvilágítás okozza.

Hosszú homológ DNS szakaszok épülnek be transzformációval a dohány plaztidok genomjába

Staub, J.M. és Maliga, P.: Long regions of homologous DNA are incorporated into the tobacco plastid genome by transformation. = *The Plant Cell*, 4.k. 1992. p.39-45. á:6, h:31. T.SZ

A szelektálható antibiotikum rezisztencia mutációkkal együtt beépült, flankáló DNS szekvenciáját vizsgálták a dohány plaztidok genomjában. Az eredmények azt mutatják, hogy gyakran viszonylag hosszú és homológ DNS szakaszok épülnek be a marker génnel együtt. A transzformációra használt pJS75 plazmidban egy 6,2 kilobázis hosszú ismétlődő DNS-t hordozó szekvencia található. A spektinomycin rezisztenciát kódoló szakasz a 16S rRNS-t kódoló génben, míg a streptomycin rezisztenciáért felelős gén az rps12 riboszómális fehérjét kódoló génben található.

A cukor szintje szabályozza a kukorica szacharóz szintáz géneinek eltérő mértékű kifejeződését

Koch, K.E., Nolte, K.D., stb.: Sugar levels modulate differential expression of maize sucrose synthase genes. = *The Plant Cell*, 4.k. 1992. p.59-69. á:6, t:2, h:65. T.SZ

A kukorica szacharóz szintáz fehérjét kódoló két génje (Sh1 és Sh2) a szövegek szénhidrát tartalmától függően eltérő módon fejeződik ki. Az Sh1 mRNS főleg alacsony szénhidrát tartalom (kevesebb mint 0,2% glükóz) esetén képződik, míg az Sh2 mRNS csak 2%-nál nagyobb glükóztartalom esetén figyelhető meg. A teljes enzimaktivitás nem változik jelentős mértékben, de a szacharóz szintáz fehérje sejten belüli megoszlása jelentős mértékben eltérő lehet. Magas cukortartalom mellett az enzim főként a gyökércsúcsban található, míg alacsony cukorkoncentráció esetén a perifériális sejtek enzimtartalma nő.

Egy kukorica betegség rezisztencia gén biokémiai fenotípusa

Meeley, R.B., Johal, G.S., stb.: A biochemical phenotype for a disease resistance gene of maize. = *The Plant Cell*, 4.k. 1992. p.71-77. á:6, h:21. T.SZ

Kukoricában a *Cochliobolus carbonum* patogén gombafajjal szembeni rezisztenciáját a kromoszómális hm lokusz egyik domináns allélje határozza meg. A *C.carbonum* és a kukorica közötti költsönhatást a patogén szervezet által termelt HC-toxin határozza meg. A kukoricánövényben előfordul egy HC-toxin reduktáz enzim, amely képes a HC-toxint inaktíválni. Ez az enzim csak a *C.carbonum* patogénnel szemben rezisztens kukoricánövényekben fordul elő. Az eredmények alapján valószínű, hogy a HC-toxin méregtelenítése eredményezi a Hm-specifikus rezisztenciát.

In vitro hajtásregeneráció egy hibrid nyár (*Populus nigra* x *P. maximowiczii*) levél mezofillum protoplasztjaiból

Park, Y.G. és Son, S.H.: In vitro shoot regeneration from leaf mezophyll protoplasts of hybrid poplar (*Populus nigra* x *P. maximowiczii*). = Plant Cell Reports, 11.k. 1992. p.2-6. á:1, t:3, h:24. T.SZ

A protoplasztokat levél mezofillum szövetekből izolálták speciális enzimeket tartalmazó táptalajon. Egy gramm növényi szövetből $10,4 \times 10^6$ protoplasztot nyertek. A protoplasztok a legjobban ammónium-nitrát mentes MS táptalajon osztódtak. A legmagasabb telep képződési gyakoriságot fél-szilárd MS táptalajon kapták. A növekedő mikrokalluszokat $0,44 \mu\text{M}$ 6-benzilaminopurin és $9,0 \mu\text{M}$ 2,4-D tartalmú táptalajon tartották. A protoplaszt eredetű kalluszokat később $6,8 \mu\text{M}$ zeatint tartalmazó táptalajra vitték és jelentős számban nyertek hajtásokat. A gyökéreképződés után a hajtásokat talajba ültették át.

Növényregeneráció a *Helianthus giganteus* L. növényfaj kallusz és protoplaszt-tenyészeiteiből

Krasnyanski, S., Polgár, Z., stb.: Plant regeneration from callus and protoplast cultures of *Helianthus giganteus* L. = Plant Cell Reports, 11.k. 1992. p.7-10. á:2, t:1, h:14. T.SZ

A *Helianthus giganteus* L. növényfaj kallusz és protoplaszt tenyészetéből regeneráltak növényeket egy új módszerrel. Az embriogén kalluszokat levél-szövetekből nyerték és a növényeket

MS táptalajon regenerálták különböző benzil-adenin és naftalin-ecetsav koncentráció jelenlétében. A levél protoplasztokat in vitro nevelt növényekből izolálták, és ezekből hormonokkal kiegészített agaróztartalmú V-KM táptalajon szomatikus embriók képződtek. Az embriókból csökkent auxintartalom mellett növények fejlődtek, és ezek talajban is jól növekedtek.

Növényregeneráció búza protoplasztokból

He, G.D., Yang, Y.M., stb.: Plant regeneration from protoplasts of wheat/*Triticum aestivum*. = Plant Cell Reports, 11.k. 1992. p.16-19. á:2, t:1, h:15. T.SZ

Morfológiailag normális zöld növényeket regeneráltak egy ausztrálai búzafajta (*Triticum aestivum* cv. Hartog) protoplasztjaiból. A protoplasztokat embriogén kalluszokból indított embrionális szuszpenziós sejtenyészetből izolálták. A protoplasztokat módosított MS táptalajon tartották $5 \mu\text{M}$ 2,4-D és $0,6 \text{ M}$ glükóz jelenlétében. A sejttelemek $0,15\%$ gyakorisággal képződtek és ezekből $1-25\%$ -ban tudtak növényt regenerálni. Több mint 80 morfológiailag normális zöld növényt kaptak, amelyeket citológiailag is normálisnak találtak és a szabadban is jól növekedtek.



Kalluszképződés és növény regeneráció az árpa hajtásokból kimetszett különböző szövetekből

Becher, T., Haberland, G., stb.: Callus formation and plant regeneration in standard and microexplants from seedlings of barley (*Hordeum vulgare* L.). = *Plant Cell Reports*, 11.k. 1992. p.39-43. á:6, h:24. T.SZ

A kalluszsöveteket 1 mm-es levél-szövetekből ill. hajtásból kivágott korongokból hozták létre árpa (*Hordeum vulgare* L.) növényből. Csökkent kalluszképzést kaptak a levélalaptól növekvő távolságban, és az első ill. második levelekből kedvezőbb eredményeket értek el. A hajtások csúcsi végéből kimetszett korongokból 100%-ban, míg az alap szövetkorongokból 5%-ban kaptak kallusz regenerációt. A kalluszosok a központi edénnyalábokon kívül eső szövetekből jöttek létre, de a coleoptil és a scutellum szövetekre ez nem bizonyult érvényesnek.

Az aszkorbát peroxidáz fehérjét kódoló egyik cDNS klónozása és szekvenciája *Arabidopsis thaliana* növényfajban

Kuba, A., Saji, H., stb.: Cloning and sequencing of a cDNA encoding ascorbate peroxidase from *Arabidopsis thaliana*. = *Plant Cellular Biology*, 18.k. 1992. p.691-701. á:6, h:41. T.SZ

Az aszkorbát peroxidáz fehérjét kódoló egyik cDNS klónt izolálták *Arabidopsis thaliana* cDNS génbankból. A cDNS egy 1,1 kilobázis hosszú poli (A)⁺ RNS-t kódol, amely főként *A.thaliana* levelekből mutatható ki. A gén a genom-

ban egyetlen példányban fordul elő és N-terminális szekvenciája jelentősen hasonlít a spenót kloroplasztosok aszkorbát peroxidáz (AP) fehérjéjének szekvenciájához. Az érett AP fehérje 249 aminosavból áll és 34%-ban hasonlít az élesztő citokróm, c peroxidázhoz és sokkal kisebb mértékben más növényi peroxidázokhoz.

A DNS metiláció gátolja a paradicsom arany mozaikvírus DNS érését a transzformált protoplasztokban

Brough, C.L., Gardiner, W.E., stb.: DNA methylation inhibits propagation of tomato golden mosaic virus DNA in transfected protoplasts. = *Plant Molecular Biology*, 18.k. 1992. p.703-712. á:5, h:45. T.SZ

A metiláció hatását vizsgálták a növényi vírus replikációra a paradicsom arany mozaikvírussal (TGMV) fertőzött dohány protoplasztokban. A transzformált sejtekben vizsgálták, hogy a metilációs mintázat a vírus DNS-re hogyan változik meg. Ha a citozint 5-metilcitozin helyettesíti, akkor a vírus DNS mennyisége csökken a transzformált protoplasztokban. A korlátozott és fokozott citozin metiláció in vitro a TGMV DNS szekvenciák esetében nincs hatással az utódok vírus DNS-ére.



Két különböző *Petunia inflata* S allélt kódoló gén flanking szakaszai eltérőek és repetitív szekvenciákat tartalmaznak

Coleman, C.E. és Kao, T.-H.: The flanking regions of two *Petunia inflata* S alleles are heterogeneous and contain repetitive sequences. = *Plant Molecular Biology*, 18.k. 1992. p.725-737. á:5, h:30. T.SZ.

A *Petunia inflata* növényfaj S lokusz S1 és S3 alléljait kódoló genomikus klónokat izolálták és jellemezték. Mindkét allélra egyetlen és viszonylag rövid intron található. Mindkét allél transzkripció start pontját S1 nukleáz térképezéssel meghatározták és a TATA szekvenciákat azonosították. A két gént összehasonlították és kiderült, hogy főként a flanking régióban különböznek. Mindkét allél esetében bizonyították, hogy a kódoló régióhoz közvetlenül kapcsolódó repetitív szekvenciák fordulnak elő.

Az extenzin promoterhez kötődő sejtmagi faktorok különböző aktivitást mutatnak sárgarépa protoplasztokban és szövettenyésztési sejtekben

Grannell, A., Pereto, J.G., stb.: Nuclear factors binding to the extensin promoter exhibit differential activity in carrot protoplasts and cells. = *Plant Molecular Biology*, 18.k. 1992. p.739-748. á:4, h:28. T.SZ.

A hidroxiprolin-gazdag, extenzin sejtfal glükoprotein kifejeződését a sebzés is indukálja. A protoplasztképzés folyamata a sebzéshez hasonló és így az extenzin kifejeződését is indukálja. A szerzők az extenzin fehérjét kódoló gén

promoter régiójában hoztak létre deléciós mutánsokat és ezek hatását vizsgálták. A két TATA szekvencia között egy fontos transzkripciót szabályozó elemet azonosítottak. A -719 és -658 bázispárok között egy másik regulátor szakaszt azonosítottak, amely a gén maximális kifejeződéséhez feltétlenül szükséges.

Egy feltételezhetően lipidszállító fehérjét kódoló gén indukálható nátrium-kloriddal paradicsom növények szárában

Torres-Schumann, S., Godoy, J.A., stb.: A probable lipid transfer protein gene is induced by NaCl in stems of tomato plants. = *Plant Molecular Biology*, 18.k. 1992. p.749-757. á:6, h:37. T.SZ.

A TSW12 teljes hosszúságú paradicsom cDNS klónt izolálták és jellemezték, amely fejlődési stádiumtól és környezettől függően szabályozott. AT-SW12 mRNS felhalmozódik a paradicsom magvak csírázása folyamán és mennyisége hősokk- és NaCl-kezelés hatására jelentősen növekszik. Az érett növényekben az mRNS csak NaCl, mannitol vagy abszcizinsav kezelés hatására jelenik meg, főként a növények szárában. A TSW12 cDNS egy 114 aminosav hosszú bázikus fehérjét kódol, amelyből az első 23 szignálpeptidként viselkedik. A nukleotidszekvencia alapján valószínű, hogy a TSW12 cDNS egy lipid szállító fehérjét kódol.



Sebzésre indukálódó növényi hormon, a szisztemin klónozása

McGurl, Barry, Pearce, Gregory és mtsal. : Structure, expression, and antisense inhibition of the systemin precursor gene. =Science, 255.k. 5051.sz. 1992. p.1570-1573. á:4, h:41. T.OMIKK

A növények sebzésekor indukálódó egyik szignál vegyület a 18 aminosavból álló szisztemin peptid, amely két proteínáz gátlót indukál. A szisztemin egy 200 aminosavból felépülő prekursorból, a prosziszteminből képződik. A gén 10 intronból és 11 exonból áll. A messenger RNS-e a gyökeret kivéve valamennyi növényi szövetben kimutatható. Antisense proszisztemin DNS-sel transzformált növényekben jelentős mértékben csökkent a sértést követő proteínáz inhibitorok szintézise.

Egy kloroplasztiszban kódolt gén szükséges a klorofill fénytől független felhalmozódásához a Chlamydomonas reinhardtii zöldmoszatban

Choquet, Y., Rahire, M. stb.: A chloroplast gene is required for the light-independent accumulation of chlorophyll in Chlamydomonas reinhardtii. = The EMBO Journal, 11.k. 5.sz. 1992. p.1697-1704. á.7 h.24 T.Sz

A szerzők a Chlamydomonas reinhardtii zöldmoszat H13 kloroplasztiszban hibás mutációját jellemezték, amely sötétben nem képes klorofillt szintetizálni, és egyúttal az I. fotorendszerben is hibás. A mutánsban a kloroplasztisz genomában egyéb genetikai átrendeződések mellett egy 2.8 kilobázis hosszú deléción is található. A delécióból hiányzó

ch1N gént azonosították, és megállapították, hogy egy 545 aminosavból álló fehérjét kódol, amely fontos a klorofill fénytől-független felhalmozódásában. A ch1N gén megtalálható a májmohák és a fenyő genomjában, de a rizs és néhány kloroplasztisz DNS-ből hiányzik.

Az 5-enolpiruvilshikimát-3-foszfát szintáz gén glifozát szelektált amplifikációja a sejttenyésztésben tartott sárgarépa sejtekben

Shyr, Y.-Y., Hepburn, A.G. stb.: Glyphosate selected amplification of the 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase gene in cultured carrot cells. = Molecular and General Genetics, 232.k. 1992. p.377-382. á.4 h.32 T.Sz

Két különböző sárgarépa szuszpenziós sejt vonalat /CAR és C1/ szelektáltak fokozatosan glifozát tűrésre, és megállapították, hogy az 5-enolpiruvilshikimát-3-foszfát szintáz /EPSPS/ enzim aktivitása és a kódoló gén példányszáma, ill. a génről készült mRNS mennyisége fokozatosan növekszik. Az amplifikáció során a CAR sejt vonalban a C1 sejt vonalal ellentétben nem fordulnak elő átrendeződések az EPSPS génen belül. Az amplifikált gének viszonylag stabilan fennmaradnak a genomban, akár több évig tartó tenyésztés után is glifozátmentes táptalajon.



A nitrát reduktáz fehérje szabályozza a nitrit felvételt és a nitrit reduktáz aktivitás kifejeződését a *Chlamydomonas reinhardtii* zöldmoszatban

Galván, A., Cárdenas, J. stb.: Nitrate reductase regulates expression of nitrite uptake and nitrite reductase activities in *Chlamydomonas reinhardtii*. = *Plant Physiology*, 98.k. 1992. p.422-426. á.2 t.3 h.30. T.Sz.

A nitrát reduktáz enzimben, ill. a mobilproteín kofaktorok szintézisében hibás *Chlamydomonas reinhardtii* mutánsokban a nitrit felvétel és a nitrit reduktáz aktivitás csökken. A nit-2 lokuszban mutáns törzsben a nitrit felvétel nagyon alacsony, és a nitrit reduktáz még nitrát, ill. nitrit jelenlétében is alig figyelhető meg. A nitrát reduktáz aktivitás helyreállítható, ha a megfelelő gén vad típusú változatát transzformációval bejuttatják a sejtekbe. Ezzel szemben a vad típusú sejtek volframát kezelése nitrát reduktázban hibás mutáns fenotípust eredményezett.

A kukorica foszfoenolpiruvát karboxiláz fehérje kifejeződése transzgenikus dohány növényben

Hudspeth, R.L., Grula, J.W. stb.: Expression of maize phosphoenolpyruvate carboxylase in transgenic tobacco. = *Plant Physiology*, 98.k. 1992. p.458-464. á.5 t.3 h.30 T.Sz

A kukorica foszfoenolpiruvát karboxiláz/PPC/ gén kifejeződését vizsgálták transzgenikus dohány növényben, és megállapították, hogy ha a gén a kukori-

ca PPC promoterről fejeződik ki, akkor a nagyméretű PPC mRNS alacsony mennyiségben képződik. A PPC mRNS ebben az esetben egy upstream helyről indul, de továbbra is megvilágítástól függően szabályozott. Nagy mennyiségű kukorica PPC mRNS-t kaptak, ha a hibrid gén a dohány klorofill a/b-kötő fehérjét kódoló gén promotert tartalmazza. A transzgenikus dohány növények PPC aktivitása és almasav tartalma jelentősen magasabb, mint a kontroll növényeké.

A sebzés a két 3-deoxi-D-arabino-heptulozonát 7-foszfát szintáz izoenzim közül az egyiket indukálja burgonya növényfajban

Muday, G.K. és Herrmann, K.M.: Wounding induces one of two isoenzymes of 3-deoxy-D-arabino-heptulosonate 7-phosphate synthase in *Solanum tuberosum* L. = *Plant Physiology*, 98.k. 1992. p.496-500. á.3 h.31 T.Sz

A burgonya gumókban a 3-deoxi-D-arabino-heptulozonát 7-foszfát szintáz fehérje két különböző izoenzime fordul elő. Ez az enzim katalizálja az aromás aminosav bioszintézis legelső lépését. Az egyik izoenzimet a Mn^{2+} katalizálja, míg a másik aktiválásához Co^{2+} , Mg^{2+} vagy egyéb két-értékű ionok szükségesek. Az Mn^{2+} aktiválható enzimmel szemben készített poliklonális ellenanyagok nem reagálnak a másik izoenzimmel. A sebzés a burgonya gumókban az Mn^{2+} aktiválható enzimet indukálja, míg a másik enzim képződését nem változtatja meg.

A napin és kruciferin megoszlása a fejlődő repce magvak embrióiban

Höglund, A.-S., Rödin, J. stb.: Distribution of napin and cruciferin in developing rape seed embryos. = *Plant Physiology*, 98.k. 1992. p.509-515. á.5 h.21 T.Sz

A repcemagvak két legfontosabb raktározó fehérjéjének /napin és kruciferin/ megoszlását vizsgálták ellenanyagok segítségével. Az eredmények arra utalnak, hogy mindkét fehérje mennyisége szigorúan szabályozott az embriogenezis során. A napin szintézise néhány nappal korábban indul, de mindkét fehérje hasonló térbeli eloszlást mutat. A fehérjék először az embrió tengelye mentén képződnek, majd előbb a külső és később a belső sziklevelek sejtjeiben is megjelennek. A csirázó magvakban mindkét fehérje gyorsan lebomlik, és 4 nap elteltével már nem mutatható ki.

A paradicsom 66.3 kilodalton molsúlyú polifenoloxidáz fehérjét kódoló génjének molekuláris azonosítása és fejlődési stádiumtól függő kifejeződése

Shahar, T., Hennig, N. stb.: The tomato 66.3-kD polyphenoloxidase gene: molecular identification and developmental expression. = *The Plant Cell*, 4.k. 1992. p.135-147. á.9 h.42 T.Sz

A paradicsom 66.3 kilodalton molsúlyú polifenoloxidáz fehérjét kódoló génjét izolálták és szekvenciáját meghatározták. A cDNS és genomikus klónok

vizsgálatával bizonyították, hogy az 587 aminosavból álló fehérjében/P2/ két rezonkötő domén található, amely a gomba, III. emlős tirozináz fehérjéknél is előfordul. A P2 mRNS és fehérje főként a virágok különböző szövetekben található, míg a fiatal növekvő levelekben, főleg a pallszad sejtekben és epidermisz függelékekben helyezkedik el. A P2 kifejeződése alapján a virágból, III. vegetatív kezdeményekből fejlődő növények megkülönböztethetők.

A fitokróm alegységek közötti fehérje-fehérje kölcsönhatás igazolása

Edgerton, M.D. és Jones, A.M.: Localization of protein-protein interactions between subunits of phytochrome. = *The Plant Cell*, 4.k. 1992. p.161-171. á.8 h.49 T.Sz

A lambda represszor fehérjét fuzionálták a fitokróm fehérjék két kisebb szakaszával, és a dimerizáció mértékét követték. A fúziós fehérjék *in vivo* állapotban növelhetik a represszor aktivitását, és ily módon a dimerizáció mértéke is mérhető. Sikeresült kimutatni, hogy a zab fitokróm V623-S673, III. N1049-Q1129 aminosavak közötti szakasza növeli a represszor aktivitását. Ezen két szakasz közé esik négy kisméretű szekvencia, amely chamfipatikus alfa-helixek képződését teszi lehetővé. Ezen szakaszok közül kettő a phyA, phyB és phyC génekben egyaránt előfordul és valószínű, hogy a fitokróm alegységek kapcsolódásában játszanak szerepet.



A C4 gén kifejeződésének szabályozottsága az amaránt növény fejlődő leveleiben

Wang, J.L., Klessig, D.F. stb.: Regulation of C4 gene expression in developing amaranth leaves. = *The Plant Cell*, 4.k. 1992. p.173-184. á.4 h.39 T.Sz

Immunofluoreszcenciával és in situ hibridizációval vizsgálták a fotoszintetikus enzimet kódoló C4 gén kifejeződését a kétszikű amaránt növény leveleiben. A ribulóz-1,5-bifoszfát karboxiláz/oxigenáz /RuBPCase/ fehérje és mRNS elsősorban a levélerek sejtjeiben fejeződik ki. A piruvát ortofoszfát diklináz fehérjét kódoló gének elsősorban a mezofillum sejtekben fejeződik ki a különböző fejlődési stádiumokban. A foszfoenolpiruvát karboxiláz /PEPCáz/ enzim csak a levél mezofillum sejtekből mutatható ki, bár az mRNS a levélerekben is megtalálható.

Az Arabidopsis növényfaj 4.kromoszómáján elhelyezkedő egyik auxinkötő fehérjét kódoló gén molekuláris vizsgálata

Palme, K., Hesse, T. stb.: Molecular analysis of an auxin binding protein gene located on chromosome 4 of Arabidopsis. = *The Plant Cell*, 4.k. 1992. p.193-201. á.6 h.49 T.Sz

A szerzők egy olyan Arabidopsis thaliana cDNS klónt izoláltak, amely egy auxinkötő fehérjét kódol. Az 594 bázispár hosszú ORF szekvencia egy 198 aminosavból álló 22044 daltonmólsúlyú fehérjét kódol. Az N-terminális részen egy 33 aminosav hosszú, hidrofób jelle-

gű szignál peptid szakasz helyezkedik el. A szignál peptidjétől megfosztott 165 aminosav hosszú fehérje a mikroszómákban helyezkedik el. A molekuláris vizsgálatok arra utalnak, hogy a gén a genomban egyetlen példányban fordul elő, és az Arabidopsis 4.kromoszómájára térképeződik.

Egy gibberellin érzékeny komplex található a gabonafélék alfa-amiláz enzimet kódoló génjének promoterében

Lanaha, M.B., Ho, T.-H.D. stb.: A gibberellin response complex in cereal alpha-amylase gene promoters. = *The Plant Cell*, 4.k. 1992. p.203-211. á.4 h.32 T.Sz

Az Amy32b gén kifejeződése hormonális szabályozás alatt áll az árpa magvak aleuron rétegében. A gén transzkripcióját a gibberellin /GA/ segíti és az abszcizinsav gátolja. A szerzők megállapították a hormonszabályozáshoz szükséges promoter szakaszok pontos helyzetét. A gibberellin érzékeny elem közvetíti a növényi hormonok hatását, míg egy Opaque-2 kötőhely /O2S/ lép kapcsolatba az endospermium-specifikus Opaque-2 transzkripciószregulátor fehérjével. Az O2S elemhez kapcsolódik egy CCTTTT szekvencia, amely az Amy32b promoter kifejeződésének maximális kifejeződését segíti elő.



Az egyik kukorica riboszóma-inaktiváló fehérjét az Opaque-2 transzkripciós aktivátor szabályozza

Bäss, H.W., Webster, C. stb.: A maize ribosome-inactivating protein is controlled by the transcriptional activator Opaque-2. = *The Plant Cell*, 4.k. 1992. p.225-234. á.7 t.1 h.61 T.Sz

A kukorica albumin-szerű b-32 fehérje sok növényben előfordul, és toxikus hatása riboszóma-inaktiváló képességgel párosul. A riboszómát inaktiváló fehérjék/RIP/ olyan RNS N-glükozidázok, amelyek egyetlen bázist távolítanak el a 28D rRNS-ről, és így megakadályozzák az egyik elongációs faktor kötődését. Sejtmentes in vitro transzlációs kivonatban kimutatták, hogy a kukorica és búza riboszómák rezisztensek a b-32 fehérjével szemben, de továbbra is érzékenyek a kétszikű RIP geonin fehérjére. Az RIP aktivitás a csírázás folyamán növekszik, bár a b-32 mennyisége változatlan.

Tíz különböző Rauwolfia növényfaj striktozin szintáz géneinek összehasonlítása polimeráz láncreakcióval

Bracher, D. és Kutchan, T.M.: Polymerase chain reaction comparison of the gene for strictosidine synthase from ten Rauwolfia species. = *Plant Cell Reports*, 11.k. 1992. p.179-182. á.3 t.1 h.12 T.Sz

Tíz különböző trópusi eredetű Rauwolfia növényfaj striktozin szintáz fehérjét kódoló génjét /str/ hasonlították össze polimeráz láncreakció segítségével.

vel. A vizsgált fajok a következők. R.cambodiana /Indokína/, R.canescens /India/, R.chinensis /Kína/, R.heterophylla /Közép-Amerika/, R.mannii /Nyugat-Afrika/, R.nitida /Nyugat-India/, R.praecox /Brazília/, R.serpentina /India/, R.sumatrana /Indonézia/ és R.verticillata /Indokína/. A vizsgálatok igazolták, hogy a str1 gén mind a tíz fajban nagyjából hasonló szerveződésű, mivel az indol alkaloid bioszintézis nagymértékben hasonló.

A szőlő szövetek transzformációja a T-6b gént hordozó különböző Agrobacterium tumefaciens törzsekkel

Berres, R., Otten, L. stb.: Transformation of vitis tissue by different strains of Agrobacterium tumefaciens containing the T-6b gene. = *Plant Cell Reports*, 11.k. 1992. p.192-195. á.3 t.3 h.17 T.Sz

Szőlő szár darabokat és levél korongokat tenyésztettek együtt a bétaglukuronidáz /GUS/ riportert gént hordozó Agrobacterium tumefaciens törzsekkel. A transzformáció hatékonyságát jelentősen megnövelt egy módosított T-6b gén, amely gátolja a normális Nicotiana rustica növények növekedését és elősegíti regenerációjukat. A transzformáció mértéke a szár esetében sokkal kedvezőbb, mint a leveleknél. A T-6b gén és ugyanezen gén hsp70 promoterral kapcsolított változata lehetővé teszi a GUS gén kifejeződése alapján a pozitív rügyek azonosítását.



A T-DNS átvitel hatékonyságát befolyásoló tényezők az *Antirrhinum majus* növény *Agrobacterium tumefaciens* bakteriummal történő fertőzése esetén

Holford, P., Hernandez, N. stb.: Factors influencing the efficiency of T-DNA transfer during co-cultivation of *Antirrhinum majus* with *Agrobacterium tumefaciens*. = *Plant Cell Reports*, 11.k. 1992. p.196-199. á.1 t.3 h.30 T.Sz

A táptalaj pH-jának, a virulenciát kiváltó különböző fenol vegyületeknek és az eltérő vad típusú *Agrobacterium* törzseknek hatását vizsgálták a különböző *Antirrhinum majus* törzsek transzformációjára. A transzformáció a legjobb a C58 és A281 *Agrobacterium* törzsekkel, és ezt az alacsony pH, valamint az acetosziríngon jelenléte elősegíti. A legkevésbé transzformálható *Antirrhinum* törzs esetében viszont a magas pH és a sziringaldehid jelenléte eredményezte a legjobb transzformációs gyakoriságot. Ezért minden új genotípus esetében célszerű a transzformációs körülmények gondos meghatározása.

Embriogenezis és növény regeneráció az olajrepce izolált mikospóráiból

Burnett, L., Yarrow, S. stb.: Embryogenesis and plant regeneration from isolated microspores of *Brassica rapa* L. ssp. *oleifera*. = *Plant Cell Reports*, 11.k. 1992. p.215-218. t.5 h.15 T.Sz

A *Brassica rapa* ssp. *oleifera* izolált mikospóráiban végbemenő embriogenezist elősegítő körülményeket vizs-

gálták, és kimutatták, hogy erre a jellegre nézve az egyedli növények szelektálhatók. Az optimális mikospóra embriogenezis akkor tapasztalható, ha a 2-3 hónapos növényekből 2-3 mm hosszú rügyeket válogatnak, és ebből a mikospórákat vászlonmentes B5 táptalajjal mossák ki. Az embriogenezist elősegíti, ha a mikospórákat az első napon 33-35°C hőmérsékleten tartják, majd a tenyészetet 25°C hőmérsékletre helyezik. A mikospórákból regenerált növényekből kolhicin kezelés után termékeny magvakat is kaptak.

Az etil-alkohol elősegíti a foszfolipid anyagcserét és az inozitol 1,4,5-trifoszfát képződését a *Chlamydomonas eugametos* zöldmoszat ivarsejtjeiben

Musgrave, A., Kuin, H. stb.: Ethanol stimulates phospholipid turnover and inositol 1,4,5-triphosphate production in *Chlamydomonas eugametos gametes*. = *Planta*, 186.k. 1992. p.442-449. á.6 t.3 h.32 T.Sz

Az etil-alkohol kezelés hatására a *Chlamydomonas eugametos* zöldmoszat ivarsejtjei polifoszfoinozítid tartalma jelentős mértékben növekszik. Ez a hatás csak 6-8% etil-alkohol koncentráció mellett jelentkezik, és 60 percen belül megfigyelhető. A 32P izotóppal jelölt polifoszfoinozítid és foszfatidinsav 1 mM jelöletlen trinátrium-foszfát adagolásával eltávolítható. Az etil-alkohol hatására az inozitol 1,4,5-trifoszfát mennyisége nagyon jelentősen megnőtt, és ezzel együtt az intracelluláris kalciumtartalom is magasabb lett. A magas kal-

ciumtartalom pedig az ivarsejtek aktíválódását eredményezte.

Az oleát deszaturáz fehérje hőmérséklettől függő szabályozottsága a napraforgó magvakban

Garcés, R., Sarmiento, C. stb.: Temperature regulation of oleate desaturase in sunflower /*Helianthus annuus* L./ seeds. = *Planta*, 186.k. 1992. p.461-465. á.1 t.6 h.21 T.Sz

A hőmérséklet hatását vizsgálták a napraforgó magvak olajtartalmának

változására. Ha az alacsony hőmérsékleten nevelt magvakat 24 óráig 10°C hőmérsékleten tartották, akkor a foszfátidkollin és triaglicerol tartalom növekedett, de ezt nem tapasztalták 20 vagy 30°C hőmérsékleten. A mikroszómális oleoil foszfátidkollin deszaturáz /ODS/ aktivitás a 3 óráig 20 vagy 30°C hőmérsékleten tartott növényekben megnövekedett. A magvakból nevelt növények ODS aktivitása legjobban 20°C mellett aktiválódik. A magas hőmérsékleten tartott magvakból nevelt növényeknél ez a hatás nem jelentkezik.

