

Prof. dr hab. Zdzisław Staroniewicz

Urodzony w 1944 r. ukończył Wydział Medycyny Weterynaryjnej we Wrocławiu, uzyskując dyplom lekarza wet. w 1969 r. Pracownik naukowy Katedry Mikrobiologii swego macierzystego wydziału. Członek PTNW od 1978 r. i od pierwszych lat swej pracy naukowej czynnie działający w Oddziale Wrocławskim PTNW, początkowo jako skarbnik a od 1992 r. jako przewodniczący. W ocenie Zarządu Głównego jeden z najbardziej czynnych i zasłużonych członków Polskiego Towarzystwa Nauk Wete-



rynaryjnych. Niemałe zasługi położył w organizację X Kongresu PTNW we Wrocławiu, wykazując pełne poświęcenie zaangażowanie, nie szczędząc swego osobistego trudu. Dobrze zasłużył się dla PTNW.

ZYGMUNT PEJSAK
Puławy

artykuł przeglądowy

Biologia molekularna i jej zastosowanie w medycynie weterynaryjnej*)

Definicja biologii molekularnej

Najkrótszą definicję biologii molekularnej przedstawił F. Crick, twierdząc, że ta gałąź nauki jest „mieszaniną genetyki, biochemii i krystalografii”. Można również przyjąć, że biologia molekularna jest dyscypliną naukową zajmującą się badaniem i definiowaniem zjawisk biologicznych na poziomie molekularnym.

Techniki stosowane w biologii molekularnej, m.in. amplifikacja i rekombinacja DNA, klonowanie molekularne, sekwencjonowanie czy hybrydyzacja są niezbędnymi elementami warsztatu badawczego jakim posługuje się między innymi współczesna biotechnologia.

Etapy rozwoju biologii molekularnej

Dość często prezentowany jest pogląd, że znaczenie przełomowe dla rozwoju biologii molekularnej miało spotkanie dwóch genialnych umysłów – odkrywców podwójnej helisy – Francis Cricka i Jima Watsona. Doszło do niego we wrześniu 1951 r. w Cambridge, w zlokalizowanym tuż obok Wydziału Weterynaryjnego, Cavendish Laboratory. W laboratorium tym 34 letni F. Crick, kierując kilkuosobową grupą biologów molekularnych, pracował nad

swoją rozprawą doktorską, gdy zjawił się u niego z zapytaniem o możliwość pracy 22 letni, wyjątkowo pewny siebie Amerykanin, James Watson. Było to genialne dziecko z Chicago, które w wieku 15 lat rozpoczęło studia uniwersyteckie a 5 lat później było już doktorem genetyki. Niecałe dwa lata potem – 1 kwietnia 1953 r. tych dwóch obdarzonych wspólną intuicją ludzi złożyło w czasopiśmie „Nature” pracę przedstawiającą strukturalny model kwasu dezoksyrybonukleinowego (DNA). W pracy tej wskazali, że liniowa sekwencja zasad purynowych i pirymidynowych musi być biologicznym kodem dla sekwencji aminokwasów białek, których synteza jest w ten sposób kontrolowana (12).

Wręcz trudny jest dziś do uwierzenia fakt, że już w 1953 r. Watson i Crick uważali, że synteza białek jest kontrolowana nie przez DNA lecz przez kopie RNA, odwzorowujące części cząsteczki DNA. Znało to już wtedy powiedzenie Watsona, że „DNA tworząc RNA tworzy białko” (DNA making RNA makes protein). Analizując dostępne wyniki badań wiedzieli oni, że zasady purynowe – adenina (A) i tymina (T) oraz pirymidynowe – guanina (G) i cytozyna (C) są wobec siebie komplementarne, co oznaczało równocześnie, że liczba zasad A jest w DNA równa liczbie T a liczba G równa się liczbie C (13).

Potrzeba było tylko 13 lat do ustalenia w 1966 r. uniwersalnego kodu genetycznego i aż 30 lat, by

*) Referat plenarny wygłoszony na X Kongresie PTNW we Wrocławiu 19.09.1996

hipotetyczny model podwójnej helisy DNA został przyjęty bez wątpliwości na podstawie badań doświadczalnych prowadzonych na niciach DNA.

Analogiczna u wszystkich żywych organizmów natura DNA i RNA, a w szczególności specyficzne układy par zasad, umożliwiły dynamiczny rozwój różnych kierunków badań molekularnych. Wyniki tych badań potwierdziły fakt jedności świata żywego. Ponadto, ustalenie zasad kodowania informacji genetycznej doprowadziło do uznania nadrzędności genotypu w procesie ewolucji (4, 18).

Z punktu widzenia biologii, nauk lekarskich oraz rolniczych, szczególnie ważne praktyczne znaczenie wydają się mieć badania związane z biologią molekularną i genetyką z zakresu:

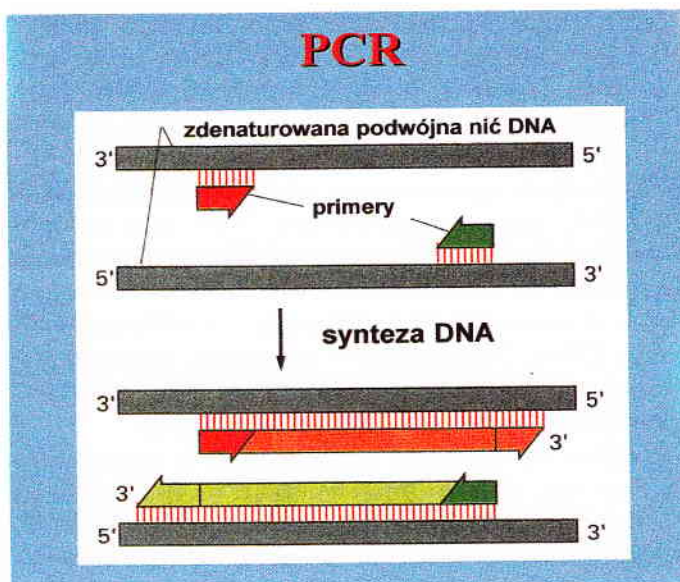
- diagnostyki i epizootologii molekularnej (polimeryzacja łańcuchowa – PCR, przeciwciała monoklonalne, sekwencjonowanie fragmentów kwasu nukleinowego patogenów bakteryjnych i wirusowych);
- profilaktyki: szczepionki delecyjne, markerowe i podjednostkowe; produkcji zwierząt transgenicznych; oraz przyszłościowo – terapii genowej.

Wydaje się, że najbardziej interesujące z praktycznego punktu widzenia, zastosowanie znajduje biologia molekularna w zakresie:

- diagnostyki, poprzez polimeryzację łańcuchową kwasów nukleinowych,
- immunoprofilaktyki: szczepionki delecyjne, podjednostkowe i znakowane,
- biotechnologii – rośliny i zwierzęta transgeniczne.

Reakcja polimeryzacji łańcuchowej

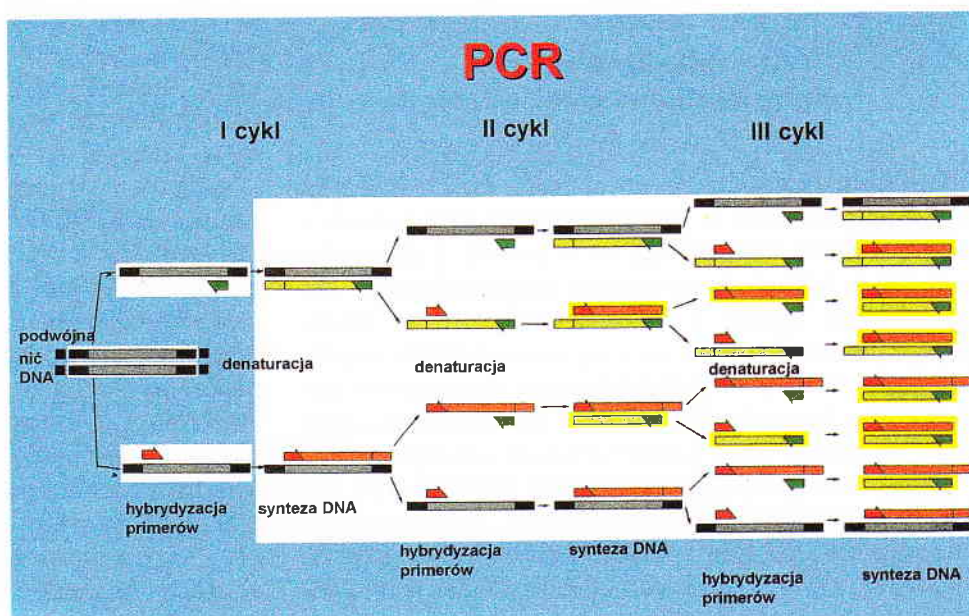
Prawdopodobnie żadna z technik badawczych związanych z biologią molekularną nie znalazła tak wielu zastosowań praktycznych jak opracowana przez Mullisa i Faloona enzymatyczna amplifikacja (powielanie) DNA w warunkach *in vitro*. W ciągu kilkunastu lat, które minęły od przedstawienia tej metody, opublikowano tysiące prac nt. jej zastosowania w badaniach naukowych, w tym: w mapowaniu genomu, analizie metabolizmu leków, archeologii, patologii, diagnostyce prenatalnej i co najważniejsze diagnostyce chorób zakaźnych (11). Powszechne wykorzystanie PCR wynika z ogromnej czułości tej metody – teoretycznie możliwe jest wykrycie jednej kopii kwasu nukleinowego, jej specyficzności oraz szybkości diagnostyki – przeprowadzenie reakcji PCR od etapu ekstrakcji kwasu nukleinowego do etapu elektroforezy, wymaga nie



Ryc. 1. Zasada reakcji polimeryzacji łańcuchowej DNA

więcej niż 5 godzin. Rozpoczynając od określonego fragmentu pojedynczej nici DNA można przy pomocy PCR w ciągu kilku godzin uzyskać miliony jego wiernych kopii (17).

Mechanizm PCR polega na enzymatycznym powielaniu fragmentu DNA ograniczonego przez dwa oligonukleotydowe startery. Komplementarnie wiążą się one (hybrydują) z odpowiednimi fragmentami pojedynczej nici DNA co umożliwia wydłużenie (elongacja) startera, przy udziale enzymu, komplementarnie do sekwencji matrycy. Cykliczna, termiczna denaturacja podwójnej nici DNA, ponowna hybrydyzacja starterów do matrycy oraz ich wydłużenie daje w rezultacie amplifikację określonego segmentu DNA. Ponieważ produkt wydłużenia każdego startera służy jako matryca w kolejnym cyklu, każdy kolejny cykl podwaja liczbę fragmentów DNA zsyntetyzowanych w poprzednim.



Ryc. 2. Cykliczne powielanie wykrywanego materiału genetycznego

Jak wynika z powyższego komponentami reakcji PCR są: matryca DNA – którą stanowi fragment kwasu nukleinowego wyosobnionego z materiału biologicznego (tkanka, płyn, próbki kału); primery (startery) – krótkie, sztucznie syntetyzowane oligonukleotydy ograniczające amplifikowaną sekwencję DNA; enzym – polimeraza DNA oraz nukleotydy. Podstawowymi etapami PCR są: denaturacja podwójnej nici DNA, hybrydyzacja jednoniciowego DNA ze starterem oraz elongacja – wydłużenie łańcucha DNA. Najprostszym sposobem identyfikacji produktu PCR jest jego elektroforeza w żelu agarozowym i barwienie bromkiem etydydy.

Najnowsza odmiana metody PCR a mianowicie PCR *in situ*, stanowi połączenie *in situ* hybrydyzacji z metodą PCR i umożliwia wykorzystanie polimeryzacji łańcuchowej m.in. w badaniach patologicznych i histopatologicznych. Pozwala ona na wykrycie komórek zakażonych pojedynczymi cząstkami wirusa np. w bardzo wczesnych fazach zakażenia, co uzyskuje się drogą amplifikacji DNA w zainfekowanych komórkach. W konwencjonalnej metodzie PCR, przed ewentualną amplifikacją, DNA musi być ekstrahowany z badanego materiału, natomiast w przypadku *in situ* PCR możliwe jest amplifikowanie DNA w zakażonej komórce. Ma to ogromne znaczenie w badaniach nad patogenezą zakażeń wirusem HIV u ludzi czy w pracach nad patogenezą zakażeń latentnych zwierząt np. herpeswirusami (19). Do badań wykorzystuje się utrwalone skrawki parafinowe, które umieszcza się na szkiełku podstawowym, w środku którego jest maleńki basenik do którego poza skrawkiem wprowadza się wymienione uprzednio komponenty PCR, z tym, że wykorzystywane primery są znakowane np. digoksygeniną. Szkiełko umieszcza się w odpowiednim amplifikatorze. Rezultaty amplifikacji obserwuje się mikroskopowo (14).

Szczepionki delecyjne, podjednostkowe i znakowane

Biologia molekularna umożliwiła dokonanie głębokiego przełomu w zakresie badań związanych z uzyskiwaniem i produkcją szczepionek. Lekarze (w tym także lekarze weterynarii) niejednokrotnie nie zdają sobie sprawy z faktu, że niektóre ze szczepionek, które aktualnie stosują są produktem wspólnej pracy biologów molekularnych, inżynierów genetyków i biotechnologów, a w laboratoriach coraz częściej mówi się o konstruowaniu szczepionek.

Dzięki osiągnięciom w zakresie uzyskiwania nowych generacji tzw. szczepionek znakowanych, zmienia się strategia i podejście epizootologów do zwalczania wielu groźnych chorób zakaźnych zwierząt takich jak: wścieklizna, choroba Aujeszkiego, pomór klasyczny świń czy otręt bydła.

Momentem przełomowym w zakresie wakcynologii było poznanie techniki sekwencjonowania i rekombinacji genomu wirusów lub bakterii. Umożliwiło to określenie roli poszczególnych białek mikroorganizmów, w tym ustalenie, które geny determinują ekspresję protein decydujących o immunogenności lub zjadliwości chorobotwórczych wirusów lub bakterii. Znajomość powyższego umożliwia usunięcie – wycięcie (deletion) z genomu mikroorganizmu, wybranych, ściśle określonych zwykle determinujących zjadliwość, fragmentów DNA. Wycięcia (delecji) odcinka DNA dokonuje się na drodze enzymatycznego trawienia genomu odpowiednimi enzymami restrykcyjnymi. Precyzyjna delecja odpowiedzialnych za zjadliwość fragmentów genomu prowadzi do istotnego ograniczenia, lub zupełnej eliminacji zjadliwości wirusa lub bakterii. Jest zrozumiałe, że usunięcie z genomu, genów kodujących zjadliwość (wirulencję) lub odgrywających rolę w procesach regulacyjnych, zapobiega równocześnie rewersji drobnoustroju do zjadliwego typu dzikiego. Nie naruszenie genów determinujących immunogenność szczepu gwarantuje jednocześnie normalną wartość ochronną szczepionki zawierającej w swoim składzie szczep delecyjny (15).

Ze względów diagnostycznych a także komercyjnych za pomocą tych samych metod usuwa się z genomu również inne, nie związane ze zjadliwością, fragmenty DNA odpowiedzialne np. za kodowanie białek otoczkowych. Zwierzęta uodporniane tego rodzaju biopreparatami nie wytwarzają przeciwciał przeciw brakującym w antygenie szczepionkowym białkom otoczkowym, co umożliwia szybkie i pewne odróżnienie zwierząt szczepionych od zakażonych wirusem zjadliwym np. przy pomocy testu ELISA.

Twórcami pierwszego, wykorzystywanego powszechnie szczepu delecyjnego byli naukowcy z Instytutu Weterynaryjnego w Lelystad (Holandia). Badacze ci pod koniec lat osiemdziesiątych, pozbawili zjadliwy, wysoce immunogeny szczep wirusa choroby Aujeszkiego (chA) genu kodującego białko otoczkowe gE (marker umożliwiający odróżnienie tego szczepu od szczepów terenowych) i genów kodujących kinazę tymidynową – TK (geny determinujące zjadliwość). Tak skonstruowany szczep „Begonia” jest wykorzystywany do produkcji szczepionki delecyjnej przeciw chA (15).

Wprowadzenie szczepionek delecyjnych zrewolucjonizowało podejście do diagnostyki serologicznej niektórych chorób zaraźliwych. Szczepionki znakowane mogą być stosowane w ogniskach chorobowych, nie zamazując sytuacji epizootycznej związanej z krążeniem czynnika patogenego w środowisku i chroniąc jednocześnie zwierzęta jeszcze nie zakażone. Metoda taka umożliwia m.in., uwalnianie stad od choroby Aujeszkiego. Aktualnie, w ramach zwalczania tej choroby, w krajach Unii Europejskiej czy Ameryki Płn., nie bada się już zwierząt w kierunku

obecności przeciwciał dla wirusa chA. Bada się je natomiast wyłącznie w kierunku obecności przeciwciał dla białka gE. Obecność tego rodzaju przeciwciał wskazuje, że zwierzę miało kontakt ze zjadliwym szczepem wirusa; świnia szczepiona biopreparatem delecyjnym, pozbawionym genu kodującego ekspresję białka gE, nie wytwarza przeciwciał swoistych dla tej proteiny.

Jest prawdopodobne, że skonstruowanie, w 1995 r. szczepionki delecyjnej, przeciw pomorowi świń może wpłynąć na zmianę strategii zwalczania tej choroby w Europie. Można przypuszczać, że w niedalekiej przyszłości większość stosowanych szczepionek będzie znakowana.

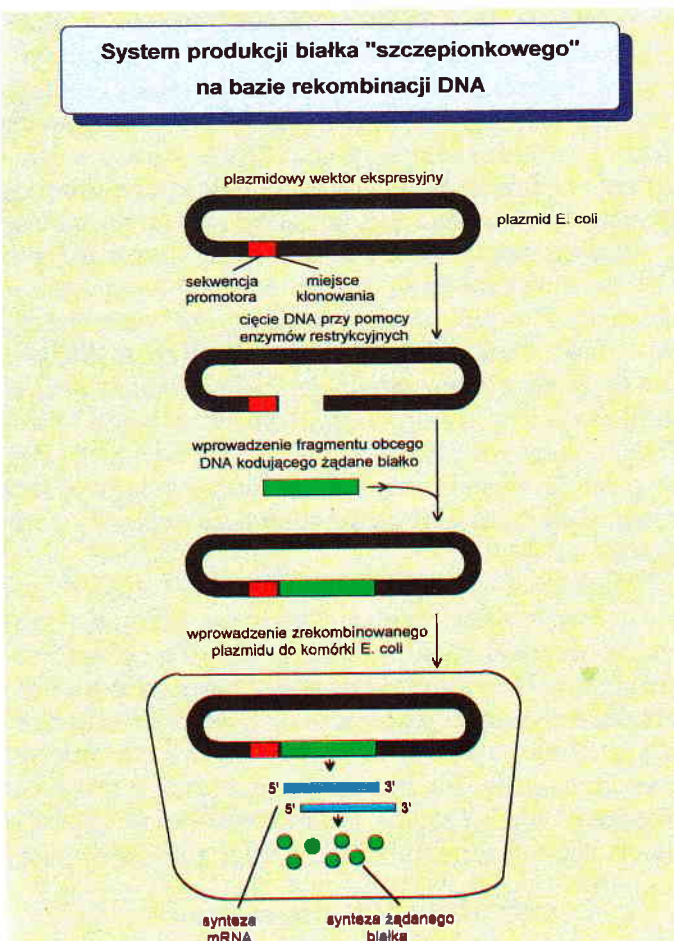
Rekombinowane szczepionki podjednostkowe. Biopreparaty te różnią się od stosowanych przez wiele lat szczepionek konwencjonalnych tym, że te ostatnie były zazwyczaj, inaktywowanymi na drodze chemicznej lub fizycznej bardziej lub mniej immunogennymi białkami. Zawierały one w swoim składzie fragmenty determinujące immunogenność, ale także wiele zbędnego balastu białkowego ograniczającego niejednokrotnie wartość ochronną szczepionki. Zbędne białko zawarte w szczepionce wpływało również niekorzystnie na jej nieszkodliwość dla uodpornianego zwierzęcia, będąc m.in. przyczyną anafilaktycznych wstrząsów poszczepiennych (6).

Rekombinowane szczepionki podjednostkowe zawierają w swoim składzie swoiste białka immunogenne, produkowane w oparciu o techniki rekombinacji DNA.

Wymienione uprzednio techniki sekwencjonowania pozwalają na określenie: genu, jego fragmentu lub kilku genów determinujących ekspresję określonych protein np. determinujących powstawanie odporności przeciwzakaźnej. Ustaleniu zatem, który gen koduje ekspresję białka indukującego odporność na zakażenie danym drobnoustrojem i sklonowanie tego genu w jednym z kilku możliwych systemów ekspresyjnych (wirusy, komórki gramujemnych bakterii, drożdże, komórki owadzie etc.) umożliwia uzyskanie produktu białkowego, który może być użyty jako szczepionka (8).

Jak zobrazowano to w uproszczeniu na ryc. 3 proces produkcji białka „szczepionkowego” metodami inżynierii genetycznej można podzielić na szereg zasadniczych etapów.

Pierwszym jest lokalizacja i identyfikacja genu kodującego białko będące przedmiotem zainteresowania. Niejednokrotnie korzystniejsze jest ustalenie lokalizacji nie całego genu, ale jego fragmentu, który koduje najbardziej immunogenną część białka. Drugim, jest wycięcie tego genu przy użyciu enzymów restrykcyjnych. Do genu tego dołączyć można sekwencje DNA kodujące ekspresję dodatkowego białka (marker), które może indukować powstawanie swoistych przeciwciał, umożliwiających odróżnienie zwierząt naturalnie zakażonych od immunizo-



Ryc. 3 Proces produkcji białka „szczepionkowego” metodami inżynierii genetycznej

wanych znakowaną szczepionką podjednostkową. Wprowadzenie markera może być również istotne ze względów komercyjnych, stanowiąc zabezpieczenie przed użyciem szczepu rekombinowanego przez inne firmy produkujące szczepionki. Kolejnym etapem, jest umieszczenie genu lub genu z sekwencją kodującą ekspresję białka w wektorze, którym może być np. plazmid (pozaodrowe DNA) pałeczki okrężnicy. Zabieg ten polega na przecięciu (trawieniu) plazmidu enzymami restrykcyjnymi i wprowadzeniu („wklejeniu”) genu w plazmid. Czwartym etapem jest umieszczenie wektora w komórce pro- lub eukariotycznej, w której będzie miała miejsce synteza żadanego białka. Dobór systemu do ekspresji zależy od cech białka, które chcemy produkować (wielkość, glikozylacja). Należy zdawać sobie sprawę, że nie każdy system zapewnia oczekiwaną immunogenność białka rekombinowanego w porównaniu z jego naturalnym odpowiednikiem. Ekstrakcja i oczyszczanie otrzymanej proteiny jest ostatnim, zasadniczym etapem produkcji białka, które stanie się podstawową składową szczepionki podjednostkowej.

Omawiając zagadnienia rekombinowanych szczepionek podjednostkowych warto zasygnalizować najnowsze osiągnięcia naukowców amerykańskich związane z zastosowaniem roślinnych systemów ekspresyjnych do produkcji immunogennych białek

wirusowych. W trakcie mającego miejsce w ubiegłym roku kongresu związanego ze 100-letnią rocznicą śmierci L. Pasteura, przedstawiono m.in. fakt uzyskania transgeniczných pomidorów, w których genom, wbudowano fragment DNA wirusa wścieklizny, kodujący immunogenne białko tego drobnoustroju. Stwierdzono ekspresję tej proteiny zarówno w liściach jak i owocach pomidora. Interesującym jest, że uzyskane białko roślinne reagowało z przeciwciałami monoklonalnymi dla wirusa wścieklizny. W okresie ostatnich kilkunastu miesięcy wykazano również, że istnieje możliwość wbudowania genów wirusowych w genom ziemniaka czy tytoniu i uzyskania ekspresji białek w tego typu systemach. Tak wyprodukowane immunogenne białka mogą być stosowane jako zasadnicze składowe szczepionek podjednostkowych (5, 9).

Przedstawione, najnowsze kierunki badań w zakresie szczepionek nowej generacji wskazują nieznane dotychczas niezmiernie atrakcyjne ekonomicznie perspektywy produkcji i stosowania szczepionek. Pragnę wspomnieć, że lekarze weterynarii, nie zawsze zdając sobie z tego sprawę, stosują już szczepionki podjednostkowe np. immunizując świnie niektórymi biopreparatami przeciw: kolibakteriozie, pleuropneumonii czy zakaźnemu zanikowemu zapaleniu nosa.

Zwierzęta transgeniczne

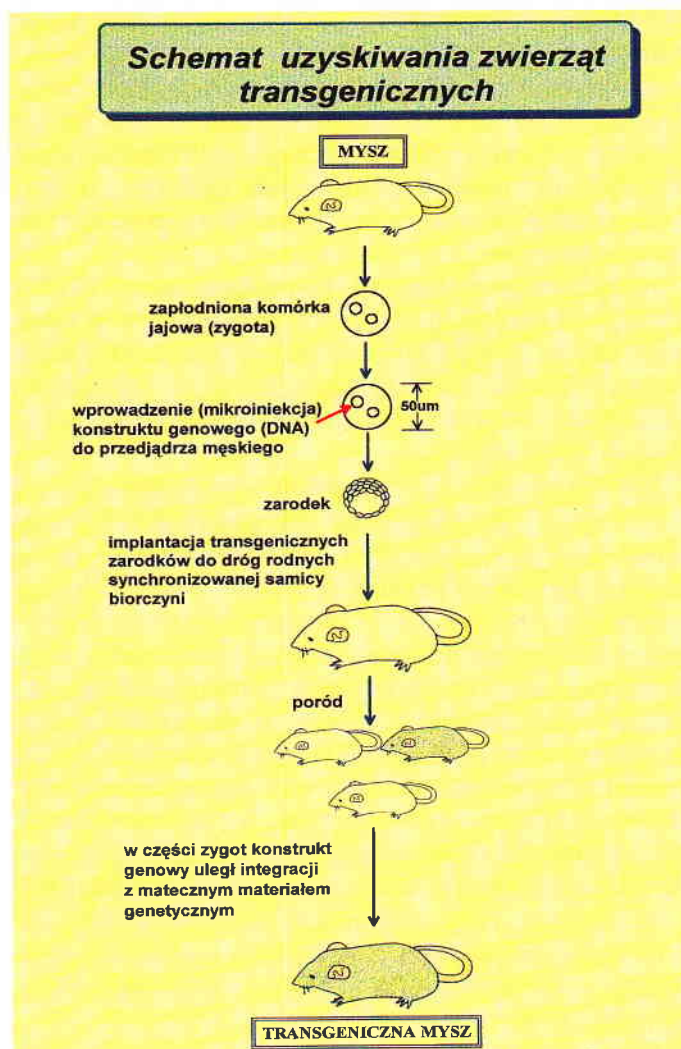
Zwierzętami transgenicznymi nazywa się osobniki, którym przy zastosowaniu metod inżynierii genetycznej wprowadzono świadomie – bezpośrednio do genomu, geny – transgeny – wnoszące nowe jakościowo informacje genetyczne (7).

Połączenie wymienionych metod pozwala na wprowadzenie do genomu zwierząt, genów z form filogenetycznie od nich odległych, takich jak rośliny, bakterie czy wirusy. Przenosząc geny do materiału dziedzicznego zarodków zwierząt udokumentowano, że mogą być one przekazywane kolejnym pokoleniom i to zgodnie z zasadami segregacji mendelowskiej. Powstała szansa uzyskiwania u zwierząt nowych cech, w stosunkowo krótkim czasie, które po zastosowaniu metod krzyżowania i selekcji były dotąd niemożliwe.

Jednym z pierwszych spektakularnych osiągnięć w tym zakresie było uzyskanie, drogą mikroiniekcji, transgeniczných myszy, u których stwierdzono ekspresję szurzego genu hormonu wzrostu. Transgeniczne myszy były dwukrotnie większe i cięższe od osobników kontrolnych.

Przy pomocy tej samej techniki, przeszczepiono gen (3) odpowiedzialny za syntezę hormonu wzrostu u człowieka m.in. do genomu świni. Pierwsze pokolenie transgeniczných świń cechowało się większym wzrostem. Zauważono równocześnie mniejsze otłuszczenia tylnych części tuszy (1).

Schemat przedstawiający etapy uzyskiwania zwierząt transgeniczných przedstawia ryc. 4.



Ryc. 4. Etapy uzyskiwania zwierząt transgeniczných

Pierwszym etapem transgenezy jest wprowadzenie obcego DNA do przedjadrza zapłodnionej komórki jajowej (zygoty). Istotne jest przy tym ustalenie objętości oraz ilości kopii DNA jaką można bezpiecznie wprowadzić do przedjadrza. Efektywność transgenezy zależy od stopnia inkorporacji egzogenego DNA z materiałem genetycznym przedjadrza. Uzyskanie znamiennej efektu, czyli doprowadzenie do ujawnienia się pożądanej cechy – ekspresja cechy – zależy nie tylko od efektywności inkorporacji ale także od precyzyjności „wmontowania” obcego DNA w odpowiednie miejsce chromosomu (7).

Drugim etapem jest implantacja potencjalnie transgeniczných zarodków w drogi rodnych – najczęściej w jajowodach – biorczyni.

Trzeci etap, umożliwiający ocenę skuteczności działań mających miejsce uprzednio rozpoczyna się po przyjsciu na świat potencjalnie transgeniczných zwierząt. Polega on na wykazaniu inkorporacji i ocenie ekspresji wprowadzonego materiału genetycznego. Inkorporację potwierdza się na DNA komórek somatycznych potencjalnie transgeniczných zwierząt przy użyciu PCR, dokonując amplifikacji i oceny

– na podstawie jego wielkości – uzyskanego produktu. Z kolei za pomocą metod biochemicznych i oceny fenotypu ustala się stopień jego ekspresji (7).

Należy mieć świadomość, że efektywność inkorporacji genu jest zawsze wyższa od efektywności jego ekspresji, zaś ta ostatnia w stopniu istotnym zależy od postępu w konstruowaniu tzw. wektorów genetycznych – umożliwiających „wmontowanie” transgenu we właściwe miejsce chromosomu. Warto zdawać sobie sprawę, że do uzyskania jednego transgenicznego osobnika konieczne jest przeprowadzenie zabiegu mikroiniekcji do kilkuset a nawet kilku tysięcy zygot lub zarodków.

Przedstawioną transgenezę próbuje się wykorzystać nie tylko w hodowli zwierząt użytkowych, ale może nawet częściej w przemyśle farmaceutycznym pracującym na rzecz medycyny ludzkiej i weterynaryjnej. Uzyskiwanie farmaceutyków produkowanych przez „zwierzęce bioreaktory” stało się w ostatnich latach jednym z najbardziej dynamicznych kierunków transgenezy.

Korzystając z takich gatunków jak świnia lub bydło możliwe było uzyskanie zwierząt transgenicznych, u których obce geny – kodujące ekspresję pożądanых białek (somatotropina, insulina, czynniki krzepliwości krwi VIII i IX, etc.) są pod kontrolą sekwencji regulatorowych genomu zwierzęcia, decydujących o syntezie normalnych białek np. mleka. Możliwość ta stwarza podstawy uzyskania *in vivo* – w dużych ilościach – wyżej wymienionych – biologicznie aktywnych substancji. Produkty „zwierzęcych bioreaktorów” są już wykorzystywane w diagnostyce i terapii. Gruczoł mlekowy stał się więc dzięki będącej na usługach biotechnologii – biologii molekularnej – najdoskonalszym bioreaktorem, w którym synteza obcych białek nieprzerwanie pozostaje pod kontrolą naturalnych mechanizmów genetycznych warunkujących bezkonkurencyjną biologiczną aktywność produktu uzyskiwanego z tzw. „biofermentora” (2, 10).

Istotnym zagadnieniem jest produkcja zwierząt użytkowych odpornych na choroby. Poznano już niektóre geny odpowiedzialne za odporność na specyficzne zakażenia. Określa się je umownym symbolem MX. Aktualnie prowadzone są doświadczenia nad pozyskaniem transgenicznych świń mających wprowadzony do genomu łańcuch nukleotydów odpowiedzialnych za odporność na zakażenie wirusem grypy. Podjęto również m.in. próby uzyskania transgenicznych świń odpornych na zakażenie wirusem zakaźnego wirusowego zapalenia jelit i żołądka (TGE).

Wstępne badania wskazują, że transgenezę można będzie prawdopodobnie wykorzystać również do:

- ingerencji w szlaki metaboliczne, w celu usprawnienia wykorzystania paszy,
- modyfikacji składu mleka (np. obniżenia zawartości laktozy),

– wytwarzania zwierząt transgenicznych służących jako modele do analizy mechanizmów powstawania groźnych chorób dziedzicznych, czy przyczyn powstawania raka u człowieka.

Omawiając zagadnienie wytwarzania zwierząt transgenicznych, należy podkreślić, że nadal nie są w pełni zrozumiałe mechanizmy regulacji funkcji genomu. Metody wprowadzania nowych genów, zwłaszcza w przypadku zwierząt hodowlanych nie są niestety doskonałe a efekty trudne do przewidzenia.

Przedstawiona w niniejszym opracowaniu problematyka nierozdzielnie jest związana z nazwiskami Cricka i Watsona – wybitnych jednostek w rozwoju nauki. Aktualnie, 80-letni Sir F. Crick pracuje w instytucie naukowym w La Jolla, Kalifornia, zajmując się układem wzroku ptaków a ostatnio również neurologicznymi podstawami zjawiska odporności, zaś 68-letni J. Watson jest kierownikiem (był również inicjatorem) jednego z największych tematów badawczych w historii nauk biologicznych, którego tytuł brzmi „Human Genom Project” (16). Tylko genetycy i biochemicy zdają sobie sprawę z tego jak wielkiego zadania się podjął. Wszystko wskazuje, że projekt ten ma duże szanse realizacji. Jeżeli tak się stanie, to bez wątpliwości można będzie stwierdzić, że uzyskanie odpowiedzi na wiele niejasnych jeszcze dzisiaj spraw, w tym m.in. na problem ewolucji, było możliwe dzięki dokonaniu w 1953 r. genialnemu odkryciu Cricka i Watsona i związanemu z tym dynamicznemu rozwojowi biologii molekularnej.

Piśmiennictwo

1. Archer J. S., Kennan W. S., Gould M. N., Bremel R. D.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91, 6840, 1994.
2. Brem G., Hartl P., Besenfelder U., Wolf E., Zinovieva N., Pfalleler R.: Gene 149, 351, 1994.
3. Chen W. Y., Wight D. C., Wagner T. E., Kopchick J. J.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, 5061, 1990.
4. Fikus M.: Genetyka molekularna – PTNW Warszawa 1995.
5. Garvey P. B., Hammond J., Dienelt M., Hooper D., Fu Z., Dietzschold B., Koprowski H., Michaels F.: Biotechnology 1, 1995.
6. Jagusztyn-Krynicka E. K.: Mikrobiologia/Medycyna 3/4, 3, 1995.
7. Jura J.: Efektywność mikroiniekcji DNA w zależności od stanu fizjologicznego komórki jajowej i rodzaju zastosowanych struktur genetycznych. Praca dokt. Instytut Zootechniki w Balicach, 1994.
8. Kańtoch M., Litwińska B.: Mikrobiologia/Medycyna 3/4, 21, 1995.
9. Koprowski H.: Emerging challenge of vaccines. Proc. Symposium „The year of L. Pasteur”, Paris 1995, s. 11.
10. Maddox J.: Nature 368, 95, 1994.
11. Markowska-Daniel I., Pejsak Z., Stadejek T.: Biotechnologia 30, 44, 1995.
12. Morange M.: Fundam. Sci. 6, 65, 1985.
13. Morange M.: Biofutur, 142, 15, 1995.
14. Nuovo G. J.: PCR in situ hybridization. Raven Press, New York 1992.
15. Pejsak Z.: Medycyna Wet. 46, 129, 1990.
16. Selmann M., Böhm M., Walter T., Schmitz G., Patterson D., Wieland I.: Cytogenet. Cell. Gent. 67, 46, 1994.
17. Stadejek T., Pejsak Z.: Biotechnologia 2, 63, 1993.
18. Węgleński P.: Genetyka molekularna. PWN Warszawa 1995.
19. Wieland J., Bolger G., Asouline G., Wigler M.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, 2720, 1990.

Adres autora: prof. dr hab. Zygmunt Pejsak, ul. Partyzantów 57, 24-100 Puławy