

### Szczegółowa mapa ludzkiego chromosomu numer 11 sporządzona przy zastosowaniu hybrydyzacji *in situ* z sondami kosmidowymi

Konstrukcja szczegółowej mapy ludzkiego genomu jest aktualnym zadaniem przed którym stają genetycy i naukowcy świata medycznego. Intensywne badania ostatnich lat przy użyciu techniki RFLP (polimorfizm fragmentów restrykcyjnych) doprowadziły do identyfikacji licznych sprzężonych grup genowych (ang. *linkage group*) i pojedynczych genów. Hybrydyzacja *in situ*, polegająca na hybrydyzacji sondy z chromosomalnym DNA na szkieletu podstawowym jest dotąd najlepszą metodą pozwalającą na zlokalizowanie genu na konkretnym chromosomie (ang. *locus*). Zastosowanie sond znakowanych izotopowo pozwala na umiejscowienie sekwencji długości około 1 tysiąca par zasad; wymaga to jednak długiego czasu (często tygodni lub miesięcy) i wnikliwych obliczeń statystycznych. Przyspieszenie procesu przy użyciu sond znakowanych niezotopowo obniża czułość testu, mimo iż umożliwia wykrycie sekwencji o długości 6 tysięcy par zasad.

Wspólne wysiłki autorów publikacji doprowadziły do opracowania metody chromosomowej, selektywnej hybrydyzacji *in situ* „CISS” (ang. *chromosomal in situ suppression hybridization*), gdzie zablokowano hybrydyzację z wielokrotnie powtarzającymi się sekwencjami DNA przez dodanie kompetytywnego DNA do sondy. Zastosowanie mikroskopu fluorescencyjnego znacznie ułatwiło wykrywanie miejsc hybrydyzacji i pozwoliło na precyzyjną lokalizację licznych fragmentów DNA.

Identyfikację chromosomu oparte o hybrydyzację z sondą, przeprowadza się w stadium metafazy, stosując barwienie metodą Giemzy. Autorzy zastosowali dwie inne precyzyjniejsze metody: 1) hybrydyzację z sondą specyficzną dla danego chromosomu; 2) równoczesną hybrydyzację z wieloma sondami, dającą w efekcie charakterystyczne prążki na poszczególnych chromosomach. Sondy zostały przygotowane z fragmentów ludzkiego DNA wbudowanego do kosmidu (ang. *cosmid clone*). Kosmidy tego typu służą do sporządzania sond z wstawionym fragmentem DNA o długości powyżej 15 tysięcy par zasad. Efektywność hybrydyzacji zależy od czystości sondy. Autorzy uzyskali hybrydyzację sond z każdą z czterech chromatyd chromosomu 11 z częstotliwością 80%.

Przekazanie obrazu spod mikroskopu do analizatora komputerowego pozwoliło, po przetworzeniu danych, na uzyskanie szkicu poszczególnych chromosomów wraz z ich wymiarami (długość i szerokość). Analiza komputerowa miejsc w których zaszła hybrydyzacja umożliwiła precyzyjną lokalizację 13 genów na chromosomie numer 11. Lokalizacja ta w pełni zgadzała się z powszechnie znaną mapą genetyczną genomu ludzkiego. Użycie sond kosmidowych pozwoliło ponadto na lokalizację 36 dodatkowych miejsc hybrydyzacji z DNA chromosomu 11 o łącznej długości 140–150 centymorganów. Równoczesna hybrydyzacja z kilkoma różnymi sondami umożliwia wykrycie kolejności ułożenia genów na chromosomie.

W oparciu o powyższe wyniki autorzy proponują stosowanie hybrydyzacji CISS jako metody do szybkiego i precyzyjnego sporządzania map genetycznych.

Joanna Werner

Opracowano na podstawie: (January, 1990), High-Resolution Mapping of Human Chromosome 11 by *In Situ* Hybridization with Cosmid Clones, *Science*, 247, 64–69, P. Lichter, Ch. Chang Tang, K. Call, G. Hermanson, G. A. Evans, D. Housman, D. C. Ward.



## Osiągnięcia

W grudniowym numerze pisma „High Technology Business” omówione zostały osiągnięcia uzyskane w wielu dziedzinach technologii w ostatnim dziesięcioleciu, na tle zarówno oczekiwań, które się z nimi wiązały, jak również w perspektywie dalszego rozwoju w ostatnim dziesięcioleciu naszego wieku. Znaleźliśmy tam także dane dotyczące biotechnologii.

W 1980 r. grupa badaczy z Uniwersytetu w Zurichu, częściowo finansowana przez firmę Biogen, doniosła o sklonowaniu genu ludzkiego kodującego interferon alfa, białka o aktywności przeciwwirusowej i hamującego proliferację komórek nowotworowych. O podobnym osiągnięciu poinformowały w parę miesięcy później firmy Genentech i Cetus. Stosowane dziś w lecznictwie dwa preparaty interferonu wytwarzane są przez Hoffman-La Roche i Schoering-Plough, pięć innych preparatów poddana jest próbom klinicznym. Wartość rocznej sprzedaży wynosi 100 mln dolarów, a przewiduje się jej wzrost do 150 mln. Interferon stosowany jest w leczeniu dwóch rzadkich typów nowotworów i brodawczaków układu płciowego, przewiduje się rozszerzenie ich używania do walki z innymi nowotworami, jak również do leczenia wirusowego zapalenia wątroby. Dla porównania, roczna wartość sprzedaży najczęściej stosowanego leku przeciwnowotworowego, adriamycyny wynosi 250 mln dolarów.

W 1983 r. w Cornell University zastosowano po raz pierwszy „armatkę genową”. Jest to przyrząd pozwalający na wstrzelenie do dowolnej komórki drobnych, o mikronowej średnicy, cząstek wolframu opłaszczonych DNA – po wejściu do komórki ten DNA może być integrowany do genomu, a opisana metoda transfekcji pozwala na ominięcie etapu przejścia, dzięki mechanizmom biologicznym, przez błonę, co zmniejsza ryzyko ataku nukleaz na obcy DNA. Metoda daje najlepsze wyniki w przypadku komórek roślinnych. Firma Biolistics wyprodukowała dotychczas i sprzedała 30 armatek genowych.

W 1983 r. Firma Genentech sklonowała w bakteriach gen ludzkiego, tkankowego aktywatora plazminogenu (PTA) stwierdzając, że jest to potencjalny lek przeciw zakrzepom. W 1987 r. FDA zezwoliła na stosowanie PTA w leczeniu ludzi. Obecnie wydaje się, że ów lek nie spełnił wszystkich oczekiwań: jest 2,5 raza droższy niż równie efektywna streptokinaza, nie nadaje się do leczenia wszystkich pacjentów. Za 2–3 lata przewiduje się wejście na rynek modyfikowanych preparatów PTA i tzw. superstreptokinazy. Ten wysiłek producentów jest niewątpliwie korzystny dla licznych pacjentów, chorych na choroby układu krążeniowego.

W dziedzinie prognoz High Technology Business przewiduje rozszerzenie rynku na modyfikowaną technologicznie żywność, w tym głównie modyfikowane produkty morskie, dodatki białkowe wydzielane z soi, środki zastępcze mleka, środki słodzące, modyfikowane tłuszcze, produkty obróbki mięsa i drobiu. Dwa ostatnie produkty według prognoz będą najbardziej dynamicznie rozwijane.

Roczny przyrost produkcji we wszystkich dziedzinach ocenia się na 9,6%, a ich wartość sprzedaży na 10 miliardów (6,5 mld dolarów w 1988 r.), w tym na modyfikowane tłuszcze konsumenci wydadzą 1,6 mld dolarów w 1993 r., a na modyfikowane produkty mięsne 2 mld.

W firmie Genelabs (Kalifornia) prowadzone są intensywne badania leku, który w warunkach *in vitro* wybiórczo niszczy komórki systemu immunologicznego zakażone wirusem HIV. Badania na razie prowadzone są tylko w laboratorium, ponieważ nie uzyskano jeszcze zezwolenia FDA do podjęcia prób klinicznych. Lekiem tym jest tzw. substancja Q wydzielona z korzeni chińskich ogórków *Trichosanthin Kirilowii*. Ekstrakt z tych roślin stosowany był w Chinach od trzeciego wieku naszej ery jako środek aborcyjny. Substancja Q, oprócz zakażonych limfocytów niszczy również zakażone makrofagi, na które nie działa jedyny obecnie stosowany lek AZT. Nie znaleziono efektów ubocznych działania substancji Q na zwierzęta. Wyłączne prawa sprzedaży leku, o ile zostanie dopuszczony do praktyki medycznej, posiada szwajcarska firma Sandoz.

Najbliższe lata powinny przynieść w produkcji roślinnej wejście na rynek nowych produktów biotechnologii. Sądzi się, że sprzedaż ulepszonych nasion i roślin w 1992 r. osiągnie wartość 24 mln dolarów, a w 1995 r. już 122,5 mln. 96% tych sum przypadnie na rośliny o znaczeniu



konsumpcyjnym, 4% – rośliny ozdobne. Rozwijane kierunki w modyfikacji roślin to uzyskiwanie roślin odpornych na stresy środowiskowe oraz o właściwościach ułatwiających sprzedaż, przechowywanie i przerób przemysłowy.

M.F.

### Firmy biotechnologiczne, które odniosły sukces

Mimo obiektywnie trudnej sytuacji dla firm biotechnologicznych, są przedsiębiorstwa przynoszące duże zyski i stanowiące podstawę optymizmu wielu innych, którym jeszcze się nie powiodło. Krótką charakterystykę czterech znanych firm biotechnologicznych przedstawiło pismo „Australian Journal of Biotechnology”.

#### GENENTECH \*

Jest to duża firma zlokalizowana w Kalifornii, USA, zatrudniająca kilkuset pracowników, a określana bywa nawet słowem „gigant” (ang. *the giant*). W roku 1988 dochody ze sprzedaży wynosiły 300 mln USD. Jednakże w tym samym roku (wg oceny konkurentów) firma ta poświęciła 10 mln USD na kwestie prawne i patentowe, zatrudniając 6 ekspertów patentowych jako swych pracowników oraz korzystając z konsultacji 8 biur prawnych. Przedmiotem kontrowersji prawnych w latach 1988–1989 był m.in. ludzki hormon wzrostu (HGF) i rekombinacyjny czynnik Factor VIII. Wprowadzenie na rynek handlowy tkankowego aktywatora plazminogenu (ang. *tissue plasminogen activator*) kosztowało Genentech ok. 200 mln USD, przy czym jedna dawka tego leku (znanego w USA pod nazwą *Activase*) kosztuje obecnie ok. 2200 USD. Szerokie zastosowanie lecznicze i profilaktyczne *Activase* (w dolegliwościach związanych z pracą serca) spowodowało początkowo bardzo duże zainteresowanie kliniczne nowym specyfikiem. W kwietniu 1988 r. Genentech poinformował opinię publiczną, że tygodniowo ponad 2000 pacjentów jest leczonych tym lekiem (co oznaczało dla firmy 4 000 000 USD tygodniowego obrotu). Czy tak duże zainteresowanie tym preparatem i jego zbyt zostanie utrzymany, a może nawet wzrośnie – trudno prorokować. Natomiast patenty pozyskane przez Genentech na ten produkt są intensywnie podważane. Przykładowo, sąd apelacyjny stwierdził, że prace badawcze (a dalej produkcyjne) związane z określeniem sekwencji aminokwasowej i genowej TPA nie zawierają elementu nowości, a zatem nie powinny być objęte ochroną patentową. Ponieważ postępowanie patentowe dotycząc tego leku toczy się równoległe w USA, w krajach Europy, w Japonii i w Australii (a wszędzie mają miejsce drobne, acz zasadnicze różnice w prawie patentowym) nie dziwi nikogo budżet sekcji prawnej tej firmy wynoszący miliony dolarów rocznie i zatrudnianie kilkudziesięciu prawników.

#### AMGEN

Wartość akcji tej amerykańskiej firmy wynosi ok. 520 mln USD. Podstawowym produktem jest preparat o nazwie handlowej *erythropoietin (EPO)*; jest to hormon regulujący cyrkulację krwi i wytwarzanie czerwonych ciałek krwi. Eksperci szacują (być może należałoby powiedzieć: spekulują), że światowy rynek zbytu na ten specyfik jest rzędu 1 mld USD rocznie. Jednakże również w tym wypadku podstawowym źródłem wątpliwości i obaw odnośnie do ewentualnych zysków są znowu sprawy patentowe.

#### HYBRITECH

Jest to znana firma kalifornijska zajmująca się produkcją przeciwciał monoklonalnych i stosowaniem technik analitycznych związanych z immunologią. Źródłem wielu kłopotów

\* Z początkiem roku 1990 Hoffmann-La Roche wykupił 60% akcji tej firmy za kwotę 2,1 mld USD. Warto dodać, że 10 lat wcześniej wartość całej firmy szacowano na 60 mln USD.



prawnych jest test opracowany w tym przedsiębiorstwie polegający na jednoczesnym dwustronnym badaniu antygenów z zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych (ang. *sandwich assay*). W opinii sądu pierwszej instancji technika ta nie może podlegać opatentowaniu, ponieważ zastosowane metody „są oczywiste” oraz „zgłoszenie patentowe było zbyt obszerne”. Ta decyzja sądu kalifornijskiego zadalaby bardzo poważny cios w sytuację finansową przedsiębiorstwa, bowiem otwierałaby drogę konkurencyjnym patentom innych firm, jak również umożliwiłaby stosowanie opracowanych technik bez wnoszenia opłat licencyjnych. Sąd federalny uchylilił decyzję sądu pierwszej instancji, nakładając obowiązek poniesienia opłat licencyjnych przez wszystkich użytkowników tej techniki. Wpływy Hybritech z tytułu tej decyzji sądowej wyniosły 8 mln USD. Natomiast inna firma kalifornijska (Monoclonal Antibody) poniosła nie tylko straty w wysokości 2 mln USD w wyniku opłat sądowych, ale była zmuszona do zwolnienia 25% swych pracowników, a w roku 1989 uzyskała licencję kosztem 15% swych dochodów (tzw. *royalty payments*).

Testy analityczne stosowane przez tę firmę dotyczą diagnostyki m.in. ciąży i tak powszechnej choroby jak wirusowe zapalenie wątroby. Szacunkowy rynek zbytu dla testów diagnostycznych wynosi ok. 5 mln USD. W spory patentowe związane z testami diagnostycznymi opartymi o zastosowanie przeciwciał monoklonalnych zaangażowane są obecnie tak znane firmy farmaceutyczne, jak Eli Lilly, Abbott Laboratories i Hoffman-La Roche.

W dniu dzisiejszym sytuacja na rynku biotechnologicznym jest bardzo złożona. Wokół niewielkiej liczby preparatów o dużej wartości terapeutycznej toczy się dosłownie walka pomiędzy firmami biotechnologicznymi.

T.T.

Opracowano na podstawie: (April, 1989), Australian Journal of Biotechnology, 3, 104.



## NOWOCZESNA NAUKA I TECHNIKA WYMAGA WŁAŚCIWEJ INFORMACJI

Kompleksowe banki danych w systemie CD-ROM

## ROLNICTWO

**CD ROM** ma unikatową charakterystykę, wyróżniającą ten system spośród innych nośników informacji:

- \* **Pojemność** – płyta kompaktowa zawiera ok. 552 Mbajtów informacji, tj ok. 200.000 stron maszynopisu;
- \* **Trwałość** – gwarantowany jest dziesięcioletni okres używalności;
- \* **Niski koszt** – 1 bit informacji jest najtańszy w tym systemie.

## OFERUJEMY:

\* **AGRICOLA/CRIS** zawiera dwie bazy danych podstawowe dla rolnictwa:

1. **AGRICOLA** – bibliografia publikacji nauk rolniczych – najobszerniejszy zbiór informacji z zakresu rolnictwa,
2. **CRIS** – 30 000 opisów projektów badań rolniczych i leśnych.

\* **CENSUS OF AGRICULTURE** obejmuje dane dotyczące produkcji rolnej,

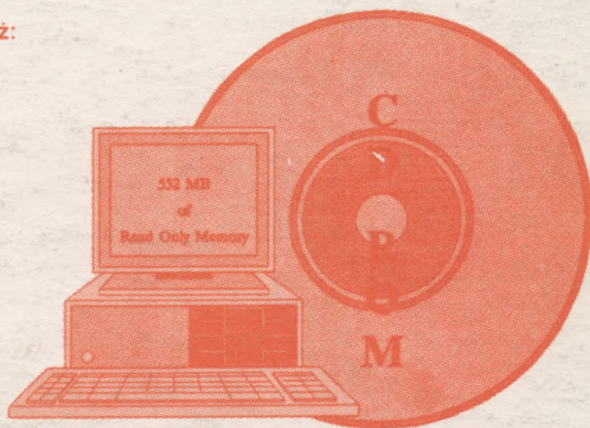
\* **AQUATIC SCIENCES AND FISHERIES** omawia różnorodne aspekty gospodarki żywnościowej dotyczące wód słodkich i morskich, oceanografii,

\* **PEST - BANK** prezentuje szczegółowe informacje o 45000 pestycydów stosowanych w rolnictwie, przemyśle i handlu.

i wiele innych !

**P.Z. ATOMICA** oferuje również:

czytniki laserowe firmy Hitachi,  
sprzęt komputerowy IPC,  
oprzyrządowanie peryferyjne,  
w szczególności polecamy  
doskonałe drukarki laserowe.



Informacji udziela i zamówienia przyjmuje:

**atomica**

Przedsiębiorstwo Zagraniczne ATOMICA

Szosa Poznańska 3

62-081 Przeźmierowo k.Poznań,

tel. (061) 142-294, 206-971, tx 0412679 – ATMIC PL