



Agrobacterium tumefaciens – *Od patologii roślin do biotechnologii*

Eds. Nester E., Gordon M.P., Kerr A., 2005, *Agrobacterium tumefaciens – From Plant Pathology to Biotechnology*,

APS Press – The American Phytopathological Society, St. Paul, Minn., USA, 320 pp. ISBN 0-89054-322-4.

Recenzowana przeze mnie książka, zasługuje w mej opinii na uwagę nie tylko biotechnologów, ale także szerokich kręgów biologów i specjalistów nauk rolniczych. Przedstawiono w niej bowiem historię rozwoju biotechnologii jako dyscypliny naukowej oraz przemysłu biotechnologiczno-rolniczego o wielomiliardowej, a nawet wielotrylionowej wartości.

Sądzę, że znaczna liczba biologów i biotechnologów – nie tylko w Polsce – przyjmie do wiadomości, że w amerykańskich kręgach naukowych, za „kamień węgielny” biotechnologii uznaje się odkrycie przez E. F. Smitha i C. O. Townsenda nowego gatunku bakterii *Bacterium tumefaciens* – obecnie *Agrobacterium tumefaciens* – i opisanie jej w 1907 r. – w wydawanym do dzisiaj – bardzo prestiżowym czasopiśmie amerykańskim Science.

Jakie właściwości tej bakterii wyróżniają ją spośród wielu innych znanych mikroorganizmów, oraz dlaczego jej odkrycie i opisanie uznaje się za „kamień węgielny” biotechnologii? Otóż odpowiedzi na te pytania podano w omawianej książce, którą wydało wydawnictwo APS Press – Amerykańskiego Towarzystwa Fitopatologicznego w 100-lecie odkrycia tej bakterii – co jak się okazało – miało fundamentalne znaczenie nie tylko dla fitopatologii, ale także dla biotechnologii.

Zaskoczeniem także może być fakt, że książka wydana w 100-lecie odkrycia *A. tumefaciens* jest dedykowana pamięci zmarłego Jeffa Schella (1935-2003), którego nekrolog napisany

Adres do korespondencji

Jerzy J. Lipa,
Zakład Biologicznych
Metod i Kwarantanny,
Instytut Ochrony Roślin,
ul. Miczurina 20,
60-318 Poznań;
e-mail:
J.J.Lipa@ior.poznan.pl

biotechnologia

3 (70) 223–228 2005

przez wybitnego biotechnologa Marca van Montagu z Uniwersytetu w Gent i opublikowany w 2003 r. na łamach *Nature* (t. 423, s. 934), otwiera omawianą książkę. Zamieszczenie w *Nature* nekrologu oraz dedykowanie książki przez APS Press pamięci J. Schella dobitnie świadczy o pionierskim i istotnym wkładzie Schella w rozwój inżynierii genetycznej roślin, a wyjaśniono to dokładnie w nekrologu.

We „Wstępie” (s. XI-XII) redaktorzy książki E. Nester, M. P. Gordon i A. Kerr podkreślają, że w 1904 r. E. F. Smith i C. O. Townsend podjęli w USA badania nad guzowatością korzeni obserwowaną u ponad 200. gatunków roślin z rodziny różowatych (*Rosaceae*), gdyż choroba ta miała duże ujemne następstwa gospodarcze dla sadownictwa i ogrodnictwa. Ustalili oni bakteryjny charakter choroby i opisali nowy gatunek bakterii pod nazwą *Bacterium tumefaciens*, którą w wyniku dalszych badań taksonomicznych przeniesiono do utworzonego nowego rodzaju *Agrobacterium*.

Zawartość i struktura książki jest niecodzienna, ale bardzo przejrzysta, użyteczna i niezwykle dobrze spełniająca cele postawione sobie przez redaktorów i wydawnictwo. Otóż w książce przedrukowano 39 prac badawczych opublikowanych w języku angielskim w latach 1907-2001, które zgrupowano w pięciu działach tematycznych. Każdą grupę tematyczną przedrukowanych publikacji poprzedza esej/komentarz napisany współcześnie, który w kontekście innych opublikowanych prac, podkreśla ich nieprzemijające lub stymulujące znaczenie dla rozwoju biotechnologii i inżynierii genetycznej roślin. Obrazowo mówiąc jeśli publikację Smitha i Townsenda z 1907 r. uznajemy za „kamień węgielny”: biotechnologii, to publikacje, których faksymile przedrukowano w książce, mają charakter „kamieni milowych” prowadzących do współczesnej biotechnologii.

Książkę rozpoczyna „Dedykacja” (s. III) oraz faksymile nekrologu Jeffa Schella z *Nature* [423 (2003), 934], „Wstęp” (s. XI-XII) autorstwa redaktorów książki, oraz „Literatura źródłowa” (s. XIII-XIV) – czyli wykaz tytułów 39 publikacji, których faksymile umieszczono w książce.

Właściwa zawartość książki składa się z pięciu części, które obejmują 29 współcześnie napisanych esejów/komentarzy mających charakter artykułów przeglądowych opartych na współczesnej literaturze oraz 38 faksymili/reprodukcji historycznie ważnych publikacji z lat 1907-2001. Interesujące jest, że w wielu przypadkach eseje/komentarze do historycznych publikacji piszą ich autorzy, podając warsztatowe szczegóły badań, które miały istotny wpływ na uzyskanie przełomowych wyników. Każdy z autorów esejów/komentarzy podaje własny życiorys naukowy i omawia kierunki swych badań oraz ważniejsze osiągnięcia. Są to bardzo ciekawe informacje.

Część I „*Biologia Agrobacterium tumefaciens*” (s. 1- 190) zawiera 18 współcześnie napisanych esejów/komentarzy, które poprzedzają 20 przedrukowanych jako faksymile oryginalnych publikacji z lat 1907-1995.

Część tę otwiera esej/komentarz P. P. Petersena pt. „Stulecie pionierskich badań rozpoczyna się” (s. 1-3) do klasycznej pracy E. F. Smitha i C.O. Townsenda (1907) pt. „Rak roślin bakteryjnego pochodzenia” przedrukowanej z *Science* 25, 671-673.

A. N. Binns (s. 7-10) w eseju „A. C. Braun i odkrycie, że *Agrobacterium tumefaciens* transformuje komórki roślin” komentuje pracę P. R. White i A. C. Brauna (1941) opublikowaną w *Science* 94, 239-241 oraz A. C. Brauna i R. J. Mandle (1948) opublikowaną w *Growth* 12, 255-269.

A. Kerr (s. 29-30) w eseju „Nieoczekiwany skarb” komentuje własną oryginalną pracę opublikowaną w *Nature* 223, 1175-1176.

J. Tempe (s. 33-35) w eseju „G. M. Morel (1916-1973): chemik botanik, pionier hodowli tkanek roślin” komentuje współautorską pracę z Petit i wsp. (1970) z *Physiol. Veg.* 8, 205-213, dotyczącą biochemicznych cech różnych szczepów *A. tumefaciens*.

R. H. Hamilton (s. 45-46) w eseju „Utrata zdolności wywoływania guzów” komentuje publikację Hamiltona i Falla (1971) opublikowaną w *Experientia* 22, 229-230, o utracie guzotwórczych właściwości *A. tumefaciens* pod wpływem wysokich temperatur.

van Montagu (s. 49-50) w eseju „Odkrycie Ti plazmidu” komentuje publikację van Larebeke i wsp. (1975) opublikowaną w *Nature* 255, 742-743, a dotyczącą transferu plazmidu Ti między szczepami *A. tumefaciens* wywołującymi guzowatość oraz nie mającymi tych zdolności.

B. Watson i E. W. Nester (s. 53-55) w eseju „Plazmid był zawsze obecny” komentują publikację B. Watsona i wsp. (1975) opublikowaną w *J. Bacteriol.* 123, 255-264.

M. P. Gordon w eseju „Moje życie z fitohormonami” (s. 66-67) komentuje przedrukowaną publikację Chiltona i wsp. (1977) z *Cell* 11, 263-271, a dotyczącą trwałego wprowadzenia plazmidu DNA do komórki roślinnej.

M. Drummond w eseju „Miałem szczęście być tam” (s. 77-78) komentuje publikację Drummonda i wsp. (1977) opublikowaną w *Nature* 269, 535-536, a dotyczącą transkrypcji obcego DNA bakteryjnego plazmidu w guzach *A. tumefaciens*.

M. Holster w eseju „Przygody w agrobakteriologii” (s. 81-82) komentuje pracę Holstera i wsp. (1980) opublikowaną w *Plasmid* 3, 212-230, a dotyczącą przełomowych badań nad funkcjonalną organizacją plazmidu pTiC58 *A. tumefaciens*.

M. F. Tomashow w eseju „Nareszcie!!! T-DNA zostało włączone” (s. 102-104) komentuje publikację Tomashow i wsp. (1980) opublikowaną w *Cell* 19, 729-739, a dotyczącą organizacji sekwencji Ti plazmidu w guzach *A. tumefaciens*.

D. J. Garfield w eseju „Gdy wykałaczką ma znaczenie: wykorzystanie genetyki mikroorganizmów i znakowania transpozonów celem zmapowania T-DNA” (s. 116-118) komentuje publikację Garfielda i wsp. (1981) opublikowaną w *Cell* 27, 143-153, opisującą szczegółowe mapy T-DNA *A. tumefaciens* uzyskane na drodze miejscowej mutagenezy.

L. Otten w eseju pt. „Krzyżowanie, liczenie i kalkulowanie! T-DNA spełnia prawa Mendla” (s. 130-132) komentuje pracę Ottena i wsp. (1981) opublikowaną w *Mol. Gen. Genet.* 183, 209-213, opisującą, że Ti plazmidy *A. tumefaciens* przenoszą do roślin tytoniu geny zgodnie z prawami Mendla.

M.-D. Chilton w eseju pt. „Skąd *A. tumefaciens* »wie« jaki jest T-DNA na plazmidzie” komentuje pracę Yadeva i wsp. (1982) opublikowaną w „*Proc. Natl. Acad. Sci*

U.S.A." 79, 6322-6326, opisującą bezpośrednie przenoszenie T-DNA nopalinowego Ti plazmidu do rośliny na zasadzie „konja trojańskiego”.

S. E. Stackel w eseju „Jaki zdolny spryciarz” (s. 145-149) komentuje dwie prace: (1) Stackela i wsp. (1985) opublikowaną w *Nature* 318, 624-629, a dotyczącą identyfikacji sygnałnych molekuł produkowanych przez zranione rośliny, które aktywują transfer T-DNA *A. tumefaciens*; oraz (2) Stackela i wsp. (1986) opublikowaną w *Nature* 322, 706-712 i dotyczącą wytwarzania molekuł jednoniciowego T-DNA podczas pierwszej fazy transferu T-DNA.

M. Yanofsky w eseju pt. „Wczesne wydarzenia podczas procesu transferu T-DNA” (s. 162-164) komentuje pracę Yanofsky i wsp. (1986) opublikowaną w *Cell* 47, 471-477, w której wykazano, że operon *virD* *A. tumefaciens* koduje swoistą endonukleazę.

A. Herrera-Estrella w eseju „VirD umieszcza T-DNA w jądrze komórki roślinnej” (s. 172-174) komentuje pracę Herrera-Estrelli i wsp. (1990) opublikowaną w *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 87, 9534-9537, w której wykazano, że aminowa część białka *Agrobacterium* ViD2 kieruje β -galaktozydozę do jądra komórek tytoniu.

P. J. J. Hooykaas w eseju pt. „Od patogena roślinnego do wektora dla roślin, drożdży i grzybów” (s. 179-181) komentuje pracę Bundocka i wsp. (1995) opublikowaną w *EMBO J.* 14, 3206-3214, wykazującą fakt przenoszenia T-DNA z bakterii *A. tumefaciens* do drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, czyli między organizmami należącymi do różnych królestw świata organicznego.

Część II pt. „Wykorzystanie *A. tumefaciens* w inżynierii genetycznej” (s. 191-282) zawiera osiem esejów/komentarzy oraz dwanaście przedrukowanych historycznie ważnych oryginalnych publikacji.

J.-P. Hernalsteens w eseju pt. „Śmiała decyzja” (s. 191-193) komentuje swoją pracę Hernalsteensa i wsp. (1980) opublikowaną w *Nature* 287, 654-656, w której wykazano, że plazmid *A. tumefaciens* jest dobrym wektorem do wprowadzania/przenoszenia obcego DNA do komórek roślinnych.

M.-D. Chilton w eseju pt. „Kurczenie Ti-plazmidu” (s. 197-198) komentuje dwie prace: (1) de Framonda i wsp. (1983) opublikowaną w *BioTechnology* 1, 262-269, która omawia wykorzystanie mini-Ti wektorów w inżynierii genetycznej roślin, oraz (2) pracę Hoekama i wsp. (1983) opublikowaną w *Nature* 303, 179-180, opisującą binarne wektory oparte na oddzielnych rejonach *vir*- i Ti-plazmidu *A. tumefaciens*.

P. C. Zambryski w eseju pt. „Pierwsza bezguzowa roślina traktowana z największą uwagą” (s. 209-211) komentuje prace Zambryski i wsp. (1983) opublikowaną w *EMBO J.* 23, 2143-2050, w której wykazano, że plazmid T wprowadza T-DNA do komórek roślinnych nie zmieniając ich zdolności regeneracyjnych.

L. Herrera-Estrella w eseju pt. „Obce geny mogą być ekspresjonowane w komórkach roślinnych” (s. 220-222) omawia trzy prace: (1) Herrera-Estrella i wsp. (1983) opublikowaną w *Nature* 303, 4803-4807; (2) Fraley i wsp. (1982) opublikowaną w *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 80, 4803-4807; oraz (3) Bevan i wsp. (1983) opublikowaną w *Nature* 304, 184-187.

W pierwszej z nich opisano ekspresję chimerycznych genów przenoszonych do roślinnych komórek za pomocą wektora plazmidu Ti. W drugiej opisano mechanizm ekspresji genów bakterii w komórkach roślin. Natomiast w trzeciej omówiono chimeryczny gen odporności na antybiotyk G418 użyty jako selektywny marker udanej transformacji komórek tytoniu.

K. A. Feldman w eseju pt. „Na każdej płytce były wielokrotne transformanty” (s. 237-239) komentuje pracę Feldmana i Marksa (1987) opublikowaną w *Mol. Gen. Genet.* 208, 1-9, w której wykazano, że *A. tumefaciens* zmienia procesy kiełkowania nasion *Arabidopsis thaliana* w warunkach *in vivo*, a zatem działa także w kulturach tkankowych.

B. Hohn w eseju pt. „Nareszcie *Agrobacterium* zakaża kukurydzę!” (s. 249-251) komentuje pracę Grimskeya i wsp. (1987) opublikowaną w *Nature* 238, 177-179, w której dokonano przełomowego odkrycia wykazując, że *A. tumefaciens* przenosi na zdrowe rośliny kukurydzy wirusa pasiastej mozaiki (MSV).

D. Fischhoff w eseju pt. „Wzloty i upadki w ekspresji genów *Bt* w roślinach” (s. 255-257) komentuje dwie prace: (1) Vaecka M. i wsp. (1987) opublikowaną w *Nature* 328, 33-37; oraz (2) Perlaka i wsp. (1991) opublikowaną w *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 88, 3324-3328. W pierwszej opisano uzyskanie pierwszej transgenicznej rośliny tytoniu (*Nicotiana tabacum*) z genem *CryIA(b)* owadobójczej bakterii *Bacillus thuringiensis*, dzięki czemu ta odmiana tytoniu była odporna na żerowanie gąsienic motyla *Manduca sexta*. Natomiast w drugiej opisano uzyskanie transgenicznych roślin tytoniu (*N. tabacum*) i pomidora (*Lycopersicon esculentum*) z genami *CryIA(b)* *B. thuringiensis*.

T. Komari w eseju pt. „Transformacja zbóż za pomocą *Agrobacterium*” (s. 268-270) komentuje historyczne znaczenie pracy Hiei i wsp. (1994) opublikowanej w *Plant J.* 6, 271-283, w której po raz pierwszy wykazano możliwość transformacji ryżu (*Oryza sativa*) chociaż wcześniejsze próby transformacji roślin jednoliściennych – podejmowane w różnych ośrodkach badawczych – były nieudane.

Część III zatytułowana „Quorum sensing” (s. 283-291) zawiera jeden esej/komentarz oraz dwie przedrukowane historycznie ważne publikacje.

S. K. Farrand i L.-H. Zhang w eseju pt. „TraR i AAI: autoindukcja idzie głównym nurtem” (s. 283-286) komentują dwie publikacje autorstwa (1) Zhanga i wsp. (1993) opublikowaną w *Nature* 362, 446-447; oraz (2) K. R. Piper i wsp. (1993) opublikowaną w *Nature* 362, 448-450. Pierwsza dotyczy koniugacji i regulacji genowej *Agrobacterium* pod wpływem laktonów N-acylo-L-homoseryny. Natomiast w drugiej wykazano istnienie autoindukcji przy transferze Ti plazmidu *A. tumefaciens*.

Część IV zatytułowana „Sekwencjonowanie DNA” (s. 292-309) zawiera dwa komentarze przeglądowe oraz dwie przedrukowane historycznie ważne oryginalne prace badawcze.

B. Goodner i D. Wood w eseju pt. „Spójrzmy na cały genom pod dwoma różnymi kątami” (s. 292-296) komentują historyczne znaczenie prac (1) D. W. Wood i wsp. (2001) opublikowanej w *Science* 294, 2317-2323; oraz (2) B. Goodner i wsp. (2001)

opublikowanej w *Science* 294, 2323-2328. Miały one przełomowe znaczenie dla technologii transformowania roślin oraz dla roślinnej inżynierii genetycznej, a dobitnie świadczy o tym fakt, że pierwsza ma 51 autorów, a druga – 31 autorów. W pierwszej publikacji opisano cały – naturalny i zmodyfikowany – genom *Agrobacterium tumefaciens* C58. Natomiast w drugiej publikacji opisano zsekwencjonowany genom chorobotwórczego dla roślin szczepu *A. tumefaciens* oraz biotechnologicznie zmienionego komercyjnego szczepu *A. tumefaciens* 58.

Część V „Biologiczne zwalczanie guzowatości korzeni” (s. 310-320) zawiera jeden komentarz oraz dwa przedruki.

A. Kerr i M. Tate w eseju pt. „Mamy dziwną nową bakteriocynę, która zwalcza guzowatość korzeni” (s. 310-312) komentują historyczne znaczenie dwóch prac autorstwa: (1) K. Hay i A. Kerr (1974) opublikowanej w *J. Appl. Bacteriol* 37, 525-530; oraz (2) W. P. Roberts i wsp. (1977) opublikowanej w *Nature* 265, 379-380. W pierwszej opisano możliwości biologicznego zwalczania guzowatości korzeni wywoływanej przez *A. tumefaciens* inokulując korzenie chorych drzew antagonistyczną bakterią *Agrobacterium radiobacter*. Natomiast w drugiej opisano biologiczne zwalczanie guzowatości korzeni drzew stosując antybiotyk Agrocynę 84, która pod względem chemicznym jest 6-N-fosforoamidowym analogiem nukleotydu adeniny.

Muszę przyznać, że „z zapartym tchem” zapoznałem się z treścią omawianej książki i jestem przekonany, że moje odczucia podzieli wiele osób, które książkę wezmą do ręki. Otóż zarówno Wydawnictwo jak i Redaktorzy książki zasługują na wyrazy wysokiego uznania za przyjętą konwencję.

Zainteresowani w przedmiocie specjaliści znajdą bowiem w książce faksymile 38 historycznie przełomowych oryginalnych prac badawczych opublikowanych w latach 1907-1993 w najbardziej prestiżowych czasopismach. Ich zebranie poprzez biblioteki wymagałoby ogromnego wysiłku. Natomiast w 29 esejach/komentrzach, opartych na najnowszej literaturze przedmiotu, zainteresowane w przedmiocie osoby uzyskują jak najbardziej aktualne spojrzenie na metody oraz trendy badawcze w biotechnologii roślinnej i wykorzystaniu jej w praktyce rolniczej.

Jerzy Lipa