



Morska biotechnologia

Agnieszka Lewandowska, Artur Padzik, Wojciech Sawuła
studenci V roku Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii
Uniwersytet Gdański i Akademia Medyczna, Gdańsk

Marine biotechnology

Summary

Research in the field of marine biotechnology generates advanced technologies for enhancing cultivation of aquatic species, producing pharmaceuticals, biomaterials and other industrial products and developing environmental bioremediation. Application of modern techniques in marine science promotes also understanding of biological and ecological processes in the oceans.

Key words:

aquaculture, biofilms, biopesticides, biopolymers, bioremediation, marine biotechnology, nutraceuticals, pharmaceuticals, seafood.

1. Wprowadzenie

„Zastosowanie nowoczesnych narzędzi biotechnologii, biologii molekularnej i komórkowej w stosunku do morskich organizmów i ekosystemów zapoczątkowało rewolucję w biologii morza. Zmiany o fundamentalnym znaczeniu i bezprecedensowym wpływie na naukę i ekonomię będą następować w wykładniczym tempie ... w najbliższej dekadzie dokona się zasadnicza przemiana nie tylko w zasobie wiedzy, ale i w spojrzeniu na podstawowe zagadnienia od dawna nurtujące biologów morza” (1).

Polimeraza Taq oraz wyhodowanie transgenicznych ryb to chyba najszerzej znane przykłady powiązania biotechnologii z organizmami wodnymi. Obrazują one dwa możliwe podejścia do tego zagadnienia: 1) co badanie organizmów morskich może wnieść do biotechnologii i przemysłu? 2) co biotechnologia może wnieść do badań morza i hodowli organizmów wodnych? Środo-

Adres do korespondencji

Agnieszka Lewandowska,
Międzyuczelniany Wydział
Biotechnologii UG-AMG,
Katedra Biologii
Molekularnej
i Komórkowej,
ul. Kładki 24,
80-822 Gdańsk;
e-mail:
agnan@biotech.univ.gda.pl

biotechnologia

4 (55) 220–227 2001

wisko wodne naszej planety stanowi ogromny, nie wykorzystany dotąd obszar wydajnych „pól uprawnych”. Podejmuje się hodowlę organizmów wodnych w celu uzyskania produktów o znaczeniu gospodarczym: żywności i dodatków do niej, środków farmaceutycznych i szerokiej gamy użytecznych związków chemicznych. Rozwiązania biotechnologiczne w tej dziedzinie dotyczą zarówno poprawy cech istotnych z punktu widzenia hodowcy, w tym wydajności rozmnażania i przyspieszenia wzrostu, jak i bezpieczeństwa produktów dla konsumenta. Morza i oceany świata kryją unikatowe zasoby informacji genetycznej oraz bioróżnorodności. W wielu krajach (m.in. w USA i Japonii) prowadzi się badania w poszukiwaniu nowych, użytecznych związków chemicznych.

2. Produkcja żywności

2.1. Poprawa cech organizmów hodowlanych

W hodowli ryb i ośmiornic dąży się do uzyskania osobników triploidalnych, gdyż dodatkowy zestaw chromosomów jest korzystny z punktu widzenia hodowcy (1). Nieparzysta liczba chromosomów zaburza proces tworzenia gamet. Sterylność organizmu ułatwia kontrolę hodowli i redukuje zagrożenie zachwiania równowagi ekosystemu. Poza tym zwielokrotnienie kopii genów odzwierciedla się w zwiększeniu ilości czynników wzrostowych, zatem triploidalne ryby są większe niż osobniki dzikie.

Prowadzi się intensywne badania nad tilapią (*Oreochromis* sp.), rybą cieszącą się dużą popularnością na rynku zarówno w Azji, jak i w USA. Dążenie do poprawy cech użytkowych, takich jak np. wielkość osobników i okres hodowli, doprowadziło do uzyskania tilapii ulepszonej genetycznie (GIFT – *genetically improved tilapia*). Opracowano metodę hodowli wyłącznie samców (GMT – *genetically male tilapias*), które są większe i rosną szybciej od samic.

Biotechnolodzy zajmują się też poszukiwaniem genów odpowiedzialnych za przystosowanie organizmów do różnych warunków życia. W przypadku tilapii badane jest dostosowanie do dużego zasolenia, gdyż oprócz odmiany słodkowodnej (*O. niloticus*) znana jest odmiana nadająca się do hodowli w wodzie słonej (*O. mossambicus*). Badania te stwarzają możliwość zwiększenia różnorodności gatunków hodowlanych w zbiornikach słonowodnych. Pojawiła się też szansa poprawienia odporności na zimno. Wyizolowano czynnik chroniący arktyczne ryby przed skutkami życia w niskich temperaturach (do ok. $-1,5^{\circ}\text{C}$). Jest to grupa białek (*antifreezing proteins*, AFPs), które obniżają temperaturę zamarzania osocza i ograniczają tworzenie się kryształków lodu w tkankach. Dalsze badania mają na celu wprowadzenie genów dla AFP do ryb hodowlanych (2,12).

2.2. Bezpieczeństwo żywności

Techniki biotechnologiczne stanowią cenne narzędzie kontroli jakości i bezpieczeństwa żywności. Wiele tropikalnych gatunków ryb zawiera toksyny. Wskutek obecności w środowisku wodnym zanieczyszczeń przemysłowych w biomase akumulują się toksyczne związki. Dodatkowo duże zagrożenie stwarzają patogeny. Czynniki te znacząco ograniczają przydatność „morskiego białka” dla przemysłu spożywczego. Uzyskano nowe możliwości poznania przyczyn tych zjawisk (np. mechanizmu produkcji toksyn przez ryby i mikroorganizmy) oraz wykrywania czynników ryzyka (bakterii produkujących toksyny, patogenów, antropogennych zanieczyszczeń chemicznych). Opracowano testy do identyfikacji *Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Listeria monocytogenes* w żywności czy *Vibrio vulnificus* w wodach rekreacyjnych. Test oparty na technice ELISA wykrywa zakażenie ostryg przez *Vibrio cholerae* oraz może służyć do sprawdzania czy produkty spożywcze są bezpieczne. Do wykrywania morskich birnawirusów (będących patogenami wielu ryb i bezkręgowców) czy wirusów martwicy trzustki służy test oparty na RT-PCR. Możliwość szybkiej i pewnej identyfikacji patogenów w akwakulturach zapewni bezpieczeństwo żywności wytwarzanej z organizmów wodnych (1).

2.3. Przetwórstwo żywności

Nutraceutyki, tj. dodatki ułatwiające przetwórstwo żywności lub służące poprawieniu jej jakości, są otrzymywane m.in. z mikroorganizmów morskich. Należą do nich witaminy, aminokwasy, kwasy tłuszczowe i inne związki chemiczne. Nutraceutykiem dostępnym na rynku i stosowanym głównie jako antyutleniacz jest astaksantyna otrzymywana z *Haematococcus*, słodkowodnego glonu. Technologie hodowli wodorostów pozwalają na przemysłową produkcję biopolimerów (karagen, kwas alginowy, agar), cennych dla przemysłu spożywczego i kosmetycznego.

Organizmy morskie dostarczają również enzymów wykorzystywanych w przetwórstwie spożywczym. Bardzo cenne są enzymy z morskich ekstremofili, wyróżniające się odpornością na wysokie temperatury. W badaniach przeprowadzonych nad *Thermotoga neapolitana* wyizolowano termostabilną α -galaktozydazę (1). Enzym znajdzie zastosowanie w przetwarzaniu soi na paszę, gdyż rozkłada oligomery melibiozy (składnika soi słabo przyswajanego przez kurczaki i świnie). Przygotowanie paszy wymaga też obróbki termicznej, w celu rozłożenia inhibitorów proteaz. Termostabilna α -galaktozydaza pozwoli na przeprowadzenie procesu w jednym etapie, bez ryzyka unieczynnienia enzymu.

3. Zastosowania techniczne

Z morskich mikroorganizmów otrzymuje się również enzymy, np. odporne na duże zasolenie i wysoką temperaturę, wykorzystywane w innych gałęziach przemysłu. Haloperoksydazy (wbudowujące w związki atomy chlorowców) mogą znaleźć zastosowanie w przemyśle chemicznym. Z *Vibrio alginolyticus* wyizolowano kolagenazę i 6 proteaz, w tym zasadową egzoproteazę serynową odporną na działanie detergentów. Proteazy są stosowane np. do oczyszczania membran używanych w procesie odwróconej osmozy. Japończycy wykorzystują glony do nadprodukcji dysmutazy ponadtlenkowej (4).

Produktów przemysłowych dostarczają też organizmy wyższe. Z małża jadalnego uzyskuje się wodoodporny klej, który może znaleźć zastosowanie medyczne, np. do naprawy kości lub zębów. Nowe, nietoksyczne i łatwo rozkładalne biopolimery, np. wytwarzane ze skorup ostryg, mogą zastąpić dotychczasowe syntetyczne dodatki do środków powierzchniowo czynnych (1). Odkrycie w koralowcach mikrocienkich włókien krystalicznych (podobnych do światłowodów) może spowodować rewolucję w dziedzinie telekomunikacji i przemyśle informatycznym.

Dla pewnych dziedzin gospodarki człowieka morskie organizmy mogą stanowić poważny problem. Mikroorganizmy ułatwiają korozję stalowych powierzchni. Porastanie kadłubów statków jest niekorzystne z punktu widzenia hydrodynamiki. Prowadzi się intensywne badania nad zrozumieniem mechanizmów przylegania mikroorganizmów, tworzenia się biofilmów na powierzchniach kadłubów statków i budowli morskich oraz nad sposobami zahamowania tego procesu. Zaobserwowano, że pewne szczepy bakterii mogą zapobiegać adhezji innych organizmów (5). Wyizolowano związek ograniczający przyleganie bardzo różnych gatunków, od bakterii do fitoplanktonu. W skorupach ostryg zidentyfikowano organiczny składnik, który hamuje powstawanie kryształów węglanu wapnia, głównego składnika niepożądanych osadów.

4. Ochrona środowiska

4.1. Bioremediacja

Istnieją szerokie możliwości zastosowania morskich organizmów w ochronie środowiska. Dzięki biotechnologii udoskonalane są techniki biodegradacji odpadów przemysłowych (np. ropy naftowej, trójchloroetyleny, kreozotu, wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych) (6). Szczepy bakterii z grupy *Alcanivorax* posiadają zdolność rozkładu *n*-alkanów oraz produkcji środków powierzchniowo czynnych. Opracowywane są nowe metody oczyszczania środowiska z metali ciężkich. Jednokomórkowe glony i sinice (*Chlamydomonas reinhardtii*, *Synechococcus*) z wklono-

wanym genem ludzkiej bądź ptasiej metalotioneiny, białka specyficznie wiążącego metale, lepiej rosną w zanieczyszczonych wodach i wydajniej akumulują metale ciężkie (1).

4.2. Biomonitorowanie

Dużą rolę w ochronie środowiska naturalnego może odegrać biomonitorowanie czyli wykorzystanie żywych organizmów jako wskaźników do wykrywania zmian parametrów środowiska. Przykładem może być gen bioluminescencji *lux* z morskiej bakterii *Vibrio fischeri* wklonowany do operonu odpowiedzialnego za degradację toluenu. Świecenie roztworu zawierającego transgeniczne bakterie świadczy o obecności toluenu i zachodzącej biodegradacji. Test oparty na genie *lux* stosuje się również do jakościowego i ilościowego określania zawartości herbicydów w środowisku (1). Obecność herbicydu powoduje spadek intensywności świecenia genetycznie zmodyfikowanych sinic.

4.3. Nieszkodliwe pestycydy

Obiecujące są badania nad naturalnymi pestycydami uzyskiwanymi z morskich organizmów. Padan™ wykazuje silne działanie toksyczne przeciwko larwom drążącym łodygi ryżu czy szkodnikom drzew cytrusowych (4). Insektycydy z gąbek są skuteczne przeciwko konikom polnym oraz szkodnikom upraw tytoniu. Związki o mniejszej szkodliwości dla środowiska, słabszych efektach ubocznych, a zarazem większej specyficzności, mogą z powodzeniem zastąpić syntetyczne pestycydy.

5. Farmakologia

Ekosystem wód morskich, zwłaszcza dna morskiego i raf koralowych, może być bogatym źródłem cennych, nie znanych dotąd leków. Współzawodnicząc o pokarm i przestrzeń, organizmy raf koralowych wykształciły skuteczne mechanizmy obrony chemicznej. Nowe klasy biologicznie czynnych związków są niezwykle cenne dla przemysłu farmaceutycznego. Wiele z nich nie wywołuje niebezpiecznych objawów ubocznych lub działa na bazie innych mechanizmów niż dotychczas stosowane leki. Jest to szczególnie istotne w sytuacji rosnącego zagrożenia związanego z lekoopornością patogenów i nowotworów. Nowy mechanizm działania odkryto w przypadku pseudopterozyny z karaibskiego koralowca, wykorzystywanej w przemyśle kosmetycznym (7). Otrzymany z pacyficznej gąbki (*Luffariella variabilis*) manoalid, który nie wywołuje objawów ubocznych typowych dla sterydów, jest badany jako potencjalny lek przeciwzapalny i przeciwbólowy. *TransDiscodermolide* z gąbki z Wysp Bahama ma

działanie immunosupresyjne i może znaleźć zastosowanie w transplantologii do zapobiegania odrzuceniom przeszczepów. Bardzo intensywnie badane są leki przeciwnowotworowe. Wyizolowana z koralowca (*Eleutherobia*) eleuterobina to nowy związek o silnym działaniu cytotoksycznym, skuteczny nawet w bardzo niewielkich stężeniach. Charakteryzuje się dużym podobieństwem do taksolu, wytwarzanego z cisa leku hamującego podziały komórek nowotworowych, a nie powoduje tak poważnych jak on efektów ubocznych (7, 8). Również w leczeniu osteoporozy mogą być wykorzystane nowe związki, jak *Debromohymenialdisine* z gąbki pospolitej w wodach Australii (7). Z morskich ślimaków z rodzaju *Conus* wyizolowano konopeptydy, obiecujący nowy środek w terapii astmy. W przeciwieństwie do dotychczas stosowanych leków nie powodują systemowych efektów ubocznych (9).

Okazuje się, że promieniowce (tradycyjne źródło ponad 70% antybiotyków naturalnych) zasiedlają nie tylko środowisko lądowe. Naukowcy badający gąbki z Wielkiej Rafy Koralowej stwierdzili, że organizmy te żyją w symbiozie z wielką liczbą mikroorganizmów, z których ok. 1/4 należy do grupy *Actinomycetes*. Obecnie planują podjąć hodowlę nowych gatunków promieniowców lub klonować geny biosyntezy antybiotyków do szczepów bakterii, które mogą być łatwo hodowane na dużą skalę (10). Oba podejścia oszczędzają naturalny ekosystem i są znacznie bardziej opłacalne niż próby hodowli gąbek. Przypuszcza się, że wiele z substancji ekstrahowanych z wyższych organizmów jest w istocie produkowana przez współżyjące z nimi mikroorganizmy. Potwierdzenie tej hipotezy byłoby bardzo obiecujące, gdyż dostosowanie obecnych technologii przemysłowej hodowli mikroorganizmów do wymagań morskich gatunków wymagałoby stosunkowo niewielkich modyfikacji (7).

6. Biologia molekularna

Techniki biologii molekularnej wykorzystują biopolimery otrzymywane z glonów (m.in. agar). Liczne zastosowania w biotechnologii mogą znaleźć enzymy z termofilnych bakterii. Izolowane są termostabilne polimerazy, ligazy, endonukleazy. Odkryto polimerazę, która po wstępnej inkubacji w warunkach wysokiego ciśnienia hydrostatycznego, jest stabilna w warunkach normalnego ciśnienia. Okazało się też, że wirusy są zaskakująco liczne w środowisku morskim. Mogą stać się doskonałym narzędziem do wprowadzania obcego materiału genetycznego do alg odpornych na klasyczne techniki inżynierii genetycznej.

7. Oceanografia biologiczna

Postęp biotechnologii morskiej dostarcza narzędzi również dla współczesnej oceanografii biologicznej (1). Ułatwia poszukiwanie odpowiedzi na pytania dotyczące rozprzestrzenienia populacji organizmów morskich, ich przemieszczania się,

ewolucji, adaptacji oraz wzajemnych interakcji. Szybka identyfikacja i klasyfikacja, szczególnie małych, ale ważnych ekologicznie form (fito- i zooplankton), jest możliwa dzięki zastosowaniu sond molekularnych. Techniki biologii molekularnej są wykorzystywane w badaniu genetycznych i molekularnych podstaw zjawisk takich jak rozpoznawanie komórek i relacje symbiotyczne pomiędzy gatunkami. Morskie bezkręgowce służą jako modele w badaniach rozmnażania, rozwoju zarodkowego, powstawania nowotworów, przekazywania sygnałów nerwowych (11).

8. Perspektywy i obawy

Ze względu na specyfikę wykorzystywanych organizmów, pewne zagadnienia związane z morską biotechnologią mogą być nowe dla biur i urzędów patentowych (1). Jednym z istotniejszych problemów jest testowanie w otwartym środowisku organizmów zmodyfikowanych genetycznie. W środowisku morskim w zasadzie nie istnieją bariery ograniczające rozprzestrzenianie. Dodatkowy niepokój budzi możliwość niekontrolowanego przekazywania materiału genetycznego. Kwestia ewentualnego pośredniczenia w transferze genów przez liczne w środowisku morskim wirusy pozostaje nie wyjaśniona. Zjawiska te wymagają dalszych badań.

W rozwoju morskiej biotechnologii przodują Stany Zjednoczone, Japonia i kraje Azji Południowo-Wschodniej. Stany Zjednoczone mają ujemny bilans w obrocie żywnością pochodzenia morskiego w handlu zagranicznym, zatem rozwój produkcji w tym sektorze jest odpowiedzią na zapotrzebowanie rynku (1). Ponadto hodowla jest jednym ze sposobów zapobiegania nadmiernej eksploatacji naturalnych ekosystemów, na co kładzie się silny nacisk. Rozwojowi biotechnologii morskiej sprzyja też ogromna różnorodność życia w wodach tropikalnych i na rafach koralowych. Tam skupiają się poszukiwania nowych substancji czynnych. Powstaje coraz więcej przedsiębiorstw specjalizujących się w badaniu różnorodności chemicznej i genetycznej żywych organizmów, opracowywaniu technologii szybkiej i efektywnej identyfikacji nowych związków oraz automatyzacji metod analizy aktywności biologicznej. W Europie dominują raczej badania związane z ulepszaniem odmian hodowlanych ryb i mięczaków. Dąży się zatem do poszerzenia zakresu badań i zwiększenia ich intensywności. W 1995 r. utworzono The European Society for Marine Biotechnology, które wspiera rozwój i współpracę międzynarodową w tej dziedzinie (12).

Literatura

1. National Sea Grant: Marine Biotechnology <http://www.nsgo.seagrant.org/research/biotech/index.html>
2. Newfoundland and Labrador – Forging Ahead in Marine Biotechnology <http://www.contactcanada.com/articles/article87.html>
3. Antifreeze proteins and their genes: From basic research to business opportunity <http://pubs.acs.org/hotartc1/chemtech/99/jun/fletcher.html>

4. Biotechnology for the 21st Century: New Horizons <http://www.nalusda.gov/bic/bio21/aqua.html>
5. Maryland Sea Grant: Marine Biotechnology <http://www.mdsg.umd.edu/Extension/biotech.html>
6. Marine Biotechnology Institute <http://salmon.mbio.co.jp/mbi/english/research/ersc.html>
7. Marine Medicine Men http://www.sio.ucsd.edu/explorations/med_men/index.html
8. Center for Marine Biotechnology and Biomedicine, the Scripps Institution of Oceanography <http://www.sio.ucsd.edu/research/cmbb/>
9. Biotech, Biotechnology and Pharmaceutical News, Jobs, Companies, Stocks: This is BioSpace.com <http://www.biospace.com>
10. SEA MAY BE SOURCE OF FUTURE MEDICINES, University of Maryland Biotechnology Institute http://www.umbi.umd.edu/nande/news/100200_drhill.html
11. Marine Biotechnology Center <http://www.msi.ucsb.edu/msilinks/MBC/MBCtexts/mbc.htm>
12. The European Society for Marine Biotechnology <http://www.esmb.org/index.htm>