

Niezwykle szybki rozwój metod biologii molekularnej i inżynierii genetycznej wywołał „rewolucję” w poznaniu podstaw molekularnych dziedziczenia i pokazał nowe możliwości w biologii i genetyce, medycynie, rolnictwie oraz przemyśle biotechnologicznym. Jednym z takich przykładów może być odkrycie technologii daktyloskopii molekularnej (*DNA fingerprinting*), pozwalającej rozwiązywać ważne problemy określania różnorodności genetycznej i podobieństwa organizmów na poziomie struktury (sekwencji nukleotydowej) DNA. Podstawowymi instrumentami tej analizy są znaczniki (*markers*) molekularno-genetyczne, najczęściej klonowane fragmenty DNA, dzięki którym można wykrywać różnice w strukturze pierwszorzędowej (sekwencji) DNA oraz fragmenty polimorficzne. Najbardziej skutecznymi znacznikami polimorfizmu są powtarzające się miniselekty DNA. W 1985 r. A. Jeffreys po raz pierwszy wykorzystał określony typ sekwencji DNA do ich hybrydyzacji z DNA człowieka i wykazał istnienie wielu miejsc (*loci*) odznaczających się wysoką zmiennością i charakteryzujących się indywidualnym polimorfizmem, stabilnością somatyczną oraz mendlowskim typem dziedziczności. Metoda ta zwana jest *DNA fingerprinting*, a my chcemy zaproponować polski termin „daktyloskopia genu”.

Inną rodzinę często zmieniających się sekwencji wykryto za pomocą sondy DNA faga M13, w różnych organizmach prokariotycznych i eukariotycznych. Daje to możliwość piętnowania poszczególnych chromosomów i genów, poznanie struktury genetycznej populacji, badań ewolucyjnych, rozwiązania niektórych problemów systematyki itd. Wszelkie informacje genetyczne o danym organizmie określające jego wzrost, rozwój i właściwości zakodowane są w języku DNA w genomie, czyli w genach. Dokładna liczba genów w wyższych organizmach nie jest znana. W przybliżeniu można przyjąć wielkość 30–100 tys. co odpowiada zaledwie 3–5% wielkości genomu. W biologii molekularnej mówimy o ewolucyjnej stabilności genów oraz uniwersalności mechanizmów określających ich działanie. Dzięki temu można badać ekspresję genów w układach heterologicznych, co ma podstawowe znaczenie, np. w biotechnologii. Ponadto poznane geny z jednego organizmu (np. *Drosophila*) często wykorzystywane są jako sondy DNA dla wyodrębniania (klonowania) homologicznych genów innych organizmów (np. człowieka). Jest faktem oczywistym, że u przedstawicieli każdego gatunku (np. u ludzi) geny kodujące te same białka zbudowane są tak samo. Czasami zdarza się jednak, że u różnych ludzi, geny tych samych białek różnią się budową samego genu lub fragmentów oskrzydlających gen. Do takich różnic zaliczyć możemy zamiany, delecje, insercje pojedynczych nukleotydów lub określonej sekwencji nukleotydów, a także bardziej skomplikowane mechanizmy, jak np. inwersja: Wszelkie zmiany w strukturze DNA (mutacje) mogą być obojętne lub letalne, które u człowieka prowadzą do różnych chorób. Zjawisko występowania różnic w budowie DNA u różnych przedstawicieli populacji danego organizmu nazywa się polimorfizmem DNA.

Polimorficzne fragmenty DNA analizowane są za pomocą enzymów restrykcyjnych, rozdziału na żelach agarozowych oraz przenoszenia na membranę (*blotting*) w celu analizy hybrydyzacyjnej z określonymi sondami. W 1978 r. D. Botstein, R. Davies i M. Skolmer zaproponowali hipotezę, że dowolne anomalne sekwencje DNA, mogą same stanowić sondy (*markery*)

polimorfizmu dla analizy genetycznej. Na tej podstawie utworzono kolekcję klonowanych, markerowych sekwencji DNA.

Wielki wkład do badań zmiennych sekwencji DNA wniósł A. Jeffreys. Badając gen mioglobiny człowieka zauważył, że w jednym z intronów znajduje się sekwencja (tzw. minisatelit), zbudowana z 4 powtarzających się sekwencji 33 nukleotydowych. Wykorzystując tę minisatelitę jako sondę wykazano obecność szybko zmieniających się sekwencji.

Ta nowa technika biologii molekularnej, którą będziemy nazywać daktyloskopią genomową, znalazła szybko praktyczne zastosowanie w wykrywaniu chorób genetycznych, medycynie sądowej oraz innych pokrewnych działach nauki.

*Adres dka korespondencji:*

Jan Barciszewski, Instytut Chemii Bioorganicznej PAN, ul. Noskowskiego 12,  
61-704 Poznań.

## NOWOŚCI!

### Monoklonalne przeciwciała skuteczne w zwalczaniu wstrząsu septycznego?

Xoma Corporation (Berkely, Kalifornia USA) przedstawiła dane na konferencji dotyczącej czynników przeciwbakteryjnych i chemioterapeutyków w Huston, Texas USA. Z danych tych wynika, iż przeciwciała monoklonalne w skrócie Mab (ang. *Monoclonal antibodies*) skierowane przeciwko mureinie bakterii gram ujemnych są skuteczne w zwalczaniu wstrząsu septycznego – głównej przyczyny śmierci pacjentów po ciężkich wypadkach lub zabiegach operacyjnych. Przeciwciała nazwane Mab E5 wydają się skuteczne jedynie, jeśli podane są wkrótce po infekcji lub przed wystąpieniem objawów wstrząsu septycznego.

Gram ujemne bakterie żyjące normalnie w przewodzie pokarmowym dostają się do krwi pacjentów w czasie ciężkich wypadków i operacji wykonywanych na przewodzie pokarmowym. We krwi uwalniają toksyny odpowiedzialne za wystąpienie objawów wstrząsu septycznego. Na około 200 tysięcy przypadków wstrząsu septycznego obserwowanych rocznie w Stanach Zjednoczonych 80 tysięcy kończy się śmiercią. Stosowanie antybiotyków jest zupełnie bezużyteczne w przypadku występowania toksyn bakteryjnych we krwi.

Mab E5 otrzymane przez firmę Xoma redukują liczbę zgonów do 50% pod warunkiem jednak, iż przeciwciała podane są odpowiednio wcześnie. Nie zaobserwowano żadnego wpływu jeśli podano je już po wystąpieniu objawów wstrząsu.

U połowy pacjentów traktowanych tym lekiem zaobserwowano pojawienie się przeciwciał skierowanych przeciwko Mab E5, co sugeruje, że terapia ta nie może być u nich powtarzana.

Dawka Mab E5 stosowana u pacjentów wynosiła 2 mg/kg ciała, podczas zwiększania dawki leku (2,5 mg do 7 mg/kg) ciała zaobserwowano zwiększenie śmiertelności.

*Anna Obuchowicz*

Opracowano na podstawie: Xoma Mab cuts death from septic shock (1989), *Biotechnology News*, 9, 23.