

Co i jak kontroluje przemieszczające się geny?

Przemieszczające się geny (ang. *transposable elements* – TE) zostały wykryte we wszystkich organizmach dotychczas badanych. Posiadają one zdolność wywoływania mutacji poprzez wbudowywanie się lub opuszczanie swojego *locus* (ang. *insertion or excision*). Aktywność TE kontrolowana jest genetycznie, poprzez bodźce środowiskowe oraz warunki rozwojowe roślin. Regulacja podczas rozwoju rośliny jest ściśle powiązana z określoną tkanką (ang. *tissue specificity*). Drugą istotną cechą TE jest okres aktywności (ang. *timing*). Z wyjątkiem Mutator TE w kukurydzy, które działają w późnym stadium rozwoju rośliny, ogólnie uważa się, że TE działają samoistnie, spontanicznie w odpowiedzi na zaistniałe warunki.

Autorzy prezentowanego artykułu próbują odpowiedzieć na pytanie zamieszczone w tytule poprzez analizę intogenezy warstwy aleuronowej w bielmie kukurydzy. Jest to idealna tkanka do tego rodzaju badań ze względu na pojedynczą warstwę komórek. Poszczególne podziały komórkowe można śledzić dzięki pojawieniu się fioletowych sektorów u roślin o odpowiedniej kompozycji genetycznej. Powstawanie tych sektorów uzależnione jest od syntezy antocjanu, kontrolowanego przez wyłączanie się trzech odmiennych TE (Mu, Spm, Ac/Ds) w dwóch miejscach na chromosomie Bz2 i C2. Badania przeprowadzono na roślinach o różnej kombinacji TE. Etapy rozwojowe rośliny określono na podstawie ilości podziałów komórkowych w warstwie aleuronowej, licząc komórki przy użyciu kamery video.

Stwierdzono, że częstotliwość odłączania się trzech wymienionych TE zmienia się drastycznie w czasie rozwoju warstwy aleuronowej, zwiększając się lub zmniejszając nawet 30-krotnie. Dodatkowo zaobserwowano, że zmiany te zachodzą w czasie tego samego podziału komórkowego jednocześnie w przypadku wszystkich trzech TE. Fakt ten sugeruje, że okres aktywności TE jest kontrolowany przez roślinę a nie przez specyficzne właściwości danego TE. TE działa w odpowiedzi na sygnały płynące „z góry”; czas jego aktywności jest określony przez roślinę-gospodarza. Charakter takiej kontroli nie jest znany. Możliwy jest wpływ zmian w metylacji C w czasie rozwoju aleuronu.

Na razie wiadomo co kontroluje. Na odpowiedź „jak” trzeba jeszcze poczekać.

Joanna Werner

Opracowano na podstawie: A. Levy, V. Walbot, (1990), *Science*, 248, 1534–1537.

Osiągnięcia biologii molekularnej i patenty

„Od przybytku głowa.... boli?”

Wysiłki hodowców amerykańskich lat czterdziestych zaowocowały między innymi, w utworzeniu ogólnokrajowej sieci kolekcji najważniejszych roślin uprawnych. Obecnie funkcjonują w USA liczne banki genetyczne skupiające materiały hodowlane pszenicy, ryżu, kukurydzy, ziemniaka, owsa, jęczmienia, soi, pomidora, fasoli i innych warzyw, trzciny cukrowej, słonecznika, bawełny, tytoniu, różnych owoców i orzechów, a nawet drzew iglastych. Hodowcy zwierząt zadbali o kolekcję bydła i trzody chlewnej, genetycy o zbiór linii genetycznych mysz, muszki owocowej, bakterii i drożdży.

Kolekcji podlegają dwa rodzaje materiałów: naturalne linie genetyczne (ang. *germ plasm stocks*) i zmodyfikowane linie genetyczne (ang. *genetic stocks*). Pierwsze, obejmują stare i nowe odmiany, gatunki dzikie zebrane w czasie wypraw dookoła świata i linie hodowlane otrzymane na drodze tradycyjnej hodowli. Drugie, to linie wytworzone za pomocą szeroko pojętej inżynierii genetycznej, a więc mutanty, cytologiczne warianty, jak translokacje i inwersje, aneuploidy itp. Zadaniem każdego ośrodka kolekcji jest przechowywanie, prowadzenie dokumentacji, ocena, regeneracja i udostępnianie materiałów osobom i instytucjom zainteresowanym.

Burzliwy rozwój biologii molekularnej, a co za tym idzie, napływ specyficznie zmodyfikowanych materiałów genetycznych powoduje, że obecne przechowalnie pękają w szwach. Dodatkowo, tradycyjne pomieszczenia już nie zaspokajają nowych potrzeb. Brak jest nowoczesnie wyposażonych laboratoriów do prowadzenia hodowli tkankowych, do właściwego przechowywania sklonowanych genów czy sond genetycznych; brak jest odpowiednio wyszkolonego personelu. Poza tym współczesny biolog molekularny, w przeciwieństwie do tradycyjnego hodowcy, zgłasza zapotrzebowanie na dużą ilość materiału, który w jego rękach ulega jednorazowemu zużyciu bez możliwości regeneracji. Powiększa to konieczność namnażania materiałów.

W konsekwencji, nowe linie genetyczne w postaci specyficznego DNA, szczepu bakterii z unikatowym plazmidem, materiały roślinne opisane pod względem molekularnym (izoenzymy czy RFLP) pozostają w wąskim kręgu. Instytucje przystosowane do prowadzenia nowoczesnych kolekcji to prywatne kompanie, które pracują na własny rachunek w atmosferze konkurencji i niechętnie udostępniają swój materiał ludziom „spod innego parasola”.

Dodatkową blokadę w przepływie i wymianie linii genetycznych pomiędzy hodowcami i genetykami stanowi zjawisko opatentowywania nowych materiałów i technologii. Co prawda prawnicy USA pracują nad nowym prawem patentowym, ale czy powstrzyma ono zalamującą się wymianę?

Obowiązek płacenia świadczeń nie pozostaje bez echa na rynku wymiany międzynarodowej. Część krajów Europy Zachodniej wprowadza również patenty na linie genetyczne. Tymczasem nieustannie organizuje się wyprawy do krajów Trzeciego Świata w celu kolekcjonowania nowych gatunków. W dobie patentu rośnie niezadowolenie krajów rozwijających się, które bezpłatnie udostępniają swoje zbiory naturalne. Powstaje zatem pytanie czy i jak ustalić odpłatność za prawo do kolekcjonowania?

Zaplecze nauki amerykańskiej, choć bogate w aparaturę, ubożeje w przepływ ważnych materiałów genetycznych. Niektórzy twierdzą, że wymaga ono gwałtownej reorganizacji, dano temu wyraz na sympozjum „Plant Genetic Resources and Their Utilization in Agriculture”, North Carolina, Kwiecień 7–9, 1989 r. Wśród hodowców coraz częściej „każdy sobie rzepkę skrobie”.

Joanna Werner

Opracowano na podstawie: Shands H. L., (1990), *Journal of Heredity*, 81, 7–10; Goodman M. M., (1990), *Journal of Heredity*, 81, 11–16. Department of Crop Science, North Carolina State University.

Glikol polietylenowy dokonuje fuzji zerwanych włókien nerwowych?

Na Uniwersytecie w Texasie (Austin, Texas, USA) podjęto badania na zwierzętach polegające na zastosowaniu glikolu polietylenowego (PEG) do łączenia przeciętych włókien nerwowych. Technika ta, jak dotąd, okazała się skuteczna w 80–100% przypadków naprawy głównego pnia nerwowego dżdżownicy i co więcej fuzja zachodzi w czasie krótszym niż jedna minuta. Badacze po przecięciu pnia nerwowego dżdżownicy nasycali obydwa jego końce w roztworze o niskim stężeniu NaCl i jonów Ca^{+2} . Niskie stężenie soli powoduje rozszerzenie wnętrza aksonu

i całkowite „otwarcie” przeciętych końców, podczas gdy wapń dezaktywuje enzymy, które mogłyby uszkodzić białka wewnątrz nerwu. Następnym etapem jest traktowanie przeciętych włókien nerwowych PEG, który rozpuszcza błony i łączy końce przeciętych aksonów. Przyпуска się, że technika ta mogłaby być skuteczna w łączeniu postrzępionych końców zerwanych nerwów.

W przypadku łączenia nerwów u ludzi, dużym problemem jest fakt, że w pniach nerwowych ssaków występuje ogromna ilość małych aksonów splecionych ze sobą. Teoretycznie więc, aby technika ta była skuteczna, każde włókno nerwowe powinno być właściwie połączone z jego odciętą połową. Jednakże, jak podają badacze, wystarczy 10% właściwych wtórnych połączeń, aby nastąpiło znaczne odzyskanie zdolności ruchu.

Doniesienie to poprzedzone było przez badania przeprowadzone w Szwajcarii, gdzie włókna rdzenia kręgowego szczurów, zregenerowano po traktowaniu ich przeciwciałami monoklonalnymi blokującymi inhibitory wzrostu nerwów (Biotechnology News 2/1/90 p. 2).

Więcej danych na temat fuzji włókien nerwowych za pomocą PEG znaleźć można w PNAS, 87, 1990, 1471.

Alicja Ziemowicz

Opracowano na podstawie: PEG fusion restores severed nerves, (1990), Biotechnology News, 10, 3.

Czynnik wzrostu I monoklonalne przeciwciała zapobiegają odrzuceniu międzygatunkowych przeszczepów wysp Langerhansa

Na Uniwersytecie Waszyngtońskim opracowano technikę zapobiegającą odrzuceniu przeszczepów przeprowadzanych między tymi samymi i różnymi gatunkami zwierząt.

Z badań Paula Lacy i in. wynika, że połączenie transformującego czynnika wzrostu (ang. *transforming growth factor B* (TGF- β)) i monoklonalnych przeciwciał przeciwko γ -interferonowi (INF- γ), drastycznie obniża częstość odrzucania przez myszy transplantowanych wysp Langerhansa pochodzących od szczura, zaś monoklonalne przeciwciała anty INF- γ hamują odpowiedź immunologiczną biorcy na przeszczep. Nie wiadomo dokładnie, w jaki sposób TGF- β redukuje immunogenność przeszczepów. Z wcześniejszych badań przeprowadzonych na ludzkich komórkach śródbłonka wynika, że TGF- β hamuje wiązania atakujących limfocytów, TGF- β hamuje również ekspresję cząsteczek przylegania ICAM-1. Stwierdzono ponadto, że traktowanie materiału dawcy jedynie TGF- β opóźnia a nie chroni przed odrzuceniem przeszczepów.

Podczas przeprowadzanych badań wyspy Langerhansa pochodzące od szczurów hodowano przez 7 dni w 37°C w obecności TGF- β otrzymanego na drodze rekombinacji *in vitro*, a następnie transplantowano do myszek z objawami cukrzycy. Myszy te otrzymały drogą iniekcji monoklonalne przeciwciała anty INF- γ przed i po transplantacji. Ponad 100 dni przeżyło ok. 75% przeszczepów, tj. trzykrotnie więcej niż w przypadku przeszczepów nie traktowanych TGF- β i monoklonalnych przeciwciał anty INF- γ . Ponadto około połowa z tych myszy akceptuje również drugi przeszczep od tego samego dawcy.

Alicja Ziemianowicz

Opracowano na podstawie: (1990), Biotechnology News, 10, 2-3.

Identyfikacja chromatyny z *Lophopyrum* w genomie pszenicy przy użyciu powtarzających się sekwencji DNA wyizolowanych z *Lophopyrum elongatum*

Powtarzające się sekwencje nukleotydowe (PSN) są szeroko rozpowszechnione wśród roślin; stanowią niekiedy 90% całego genomu; mogą być zlokalizowane w pojedynczym chromosomie lub też równomiernie rozmieszczone we wszystkich. PSN wykorzystuje się do identyfikacji hybrydów z somatycznych krzyżówek protoplastów, do oznaczania chromosomów, jak

również w badaniach ewolucyjnych. Sekwencje specyficzne dla danego gatunku diploidalnego wykryte w poliploidach pozwalają na ustalenie ewolucyjnego pochodzenia i kierunku introgresji.

Diploid *Lophopyrum elongatum* (synonim *Agropyron elongatum*) jest blisko spokrewniony z *Triticum*; dla hodowców jest źródłem informacji o odporności na choroby pszenicy i tolerancji na glebę o silnym zasoleniu. Ustalenie obecności znaczników molekularnych (ang. *molecular markers*) charakterystycznych dla *Lophopyrum* w genomie pszenicy jest ważne dla hodowli i badań ewolucyjnych.

Materiał roślinny do badań stanowiło łącznie 18 gatunków *Triticum* i *Lophopyrum*, jak również linie hodowlane określone jako ang. *disomic substitution lines*, gdzie homologiczne chromosomy pszenicy odmiany ang. *Chinese Spring* (genomy ABD) zastąpiono odpowiednim chromosomem a *L. elongatum* (E); oraz ang. *ditelesomic addition lines*, gdzie do normalnego garnituru chromosomowego pszenicy dołączono odpowiednie telosomiki ($2n=42+2t^E$).

PSN izolowano z genomowego DNA *L. elongatum*. Spośród 3160 kolonii transformowanych bakterii *Escherichia coli*, wyselekcjonowano 36, które posiadały plazmidy z wbudowanymi PSN. DNA plazmidy wykazały silną hybrydyzację z DNA różnych gatunków *Lophopyrum* przy braku homologii z DNA gatunków *Triticum*. Obie sekwencje (230 i 300 par zasad) wykryto w każdym z siedmiu chromosomów *Lophopyrum*.

W następnym etapie badań wykorzystano wyizolowane PSN do identyfikacji chromatyny z *Lophopyrum* u rekombinantów *Lophopyrum*–pszenica, stosując analizę *Southern blot*. Użycie PSN pozwoliło na ustalenie miejsca *crossing-over* pomiędzy chromosomem pszenicy 3D a 3Ag z *Lophopyrum*; na określenie wielkości wymienionego fragmentu z precyzją przewyższającą obserwacje mejozytyczne. Z tego też względu autorzy artykułu uważają, że PSN są pierwszorzędnym narzędziem do nowoczesnej analizy cytogenetycznej.

Joanna Werner

Opracowano na podstawie: Hong-Bin Zhang and Jan Dvorak, (1990), *Genome*, 33, 283–293.

BIBLIOTEKA
INSTYTUTU CHEMII BIOORGANICZNEJ
POLSKIEJ AKADEMII NAUK
ul. Noskowskiego 12/14
61-704 POZNAŃ