

Molekulární biotechnologie

Nový obor, který vznikl koncem
70. let 20. století

(č.1)

Molekulární biotechnologie je založena

- Na přenosu genů z jednoho organismu do druhého
- Jeden organismus má gen, který kóduje užitečný protein
- V druhém organismu dochází (ve velkém, průmyslově) k syntéze proteinu kódovaného přeneseným genem

Vznikem molekulární biotechnologie

- Začíná molekulárně biotechnologická revoluce – poslední velká revoluce 20. století

Přenos genů z jednoho organismu do druhého umožňují

- Techniky genových manipulací

Molekulární biotechnologie vznikla

- Fúzí biotechnologie (tradiční průmyslové mikrobiologie) a technik genových manipulací

Strategii přenosu genů z jednoho organismu do druhého vypracovali

- Cohen S.N., Chang A.C.Y. 1973
Recircularisation and autonomous replication of a sheared R-factor DNA in *E. coli* transformants. PNAS USA 70, 1293-1297.
- Cohen S.N., Chang A.C.Y., Boyer H.W., Helling R.B. 1973, Construction of biologically functional bacterial plasmids in vitro. PNAS USA 70, 3240-3244.

Cohen a spol.

- Založili firmu Genentech v roce 1976

Firma Genentech

- 14.10. 1980 se na burze v New Yorku během 20 minut výrazně zdvihla hodnota akcií (nejrychlejší vzrůst v historii)
- Firma byla 4 roky stará
- Specializovala se na genetické inženýrství
- Pracovali v ní vědci, co vypracovali techniky přenosu genů

Vědci firmy Genentech

- Izolovali lidský gen, kódující inzulin
- Včlenili ho do vektoru (plasmidu)
- Přenesli ho do bakteriálních buněk *E. coli*
- Bakteriální buňky využili jako biologické továrny na výrobu lidského insulínu (obou polypeptidových řetězců)
- Po purifikaci byly oba polypeptidy zkompletovány a použity
- pro léčbu diabetiků alergických na prasečí insulín

Přenos genů technikami rekombinantní DNA

- Byl tehdy něco nevídaného
- Dnes běžná záležitost, rozšířená po celém světě
- U nás od r.1980
- Využívá se v molekulární biotechnologii
- A při studiu (analýze) jakékoliv buňky

Termín biotechnologie

- Poprvé použil v r. 1917 maďarský zemědělský inženýr Karl Ereky
- Pro zpracování biologických materiálů a pro průmyslové fermentace

Definice biotechnologie dnes

- (průmyslové) využití vědeckých a inženýrských principů
- při zpracování surovin (materiálů)
- biologickými činiteli (organismy, buňkami nebo jejich součástmi)
- s cílem získat užitečné produkty (zboží či služby)

Typický biotechnologický proces pro získání čistého produktu ze suroviny

- 3 základní kroky
- (Glick a spol. 2006)

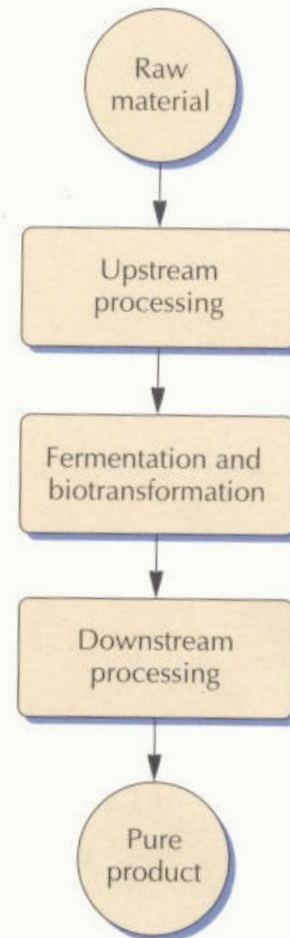


Figure 1.1 Principal steps of a bioengineered biotechnology process. Parenthetically, Karl Ereky's scheme entailed

Zaměření biotechnologie v 60. a 70. letech na optimalizaci

- Na optimalizaci upstream procesů, downstream procesů a konstrukci bioreaktorů
- Na optimalizaci procesu biotransformace (tj. produkci žádané látky organismy) – nejobtížnější, těžko řešitelné - výroba ve velkém pomoci přirozeně se vyskytujících mikroorganismů nebyla optimální

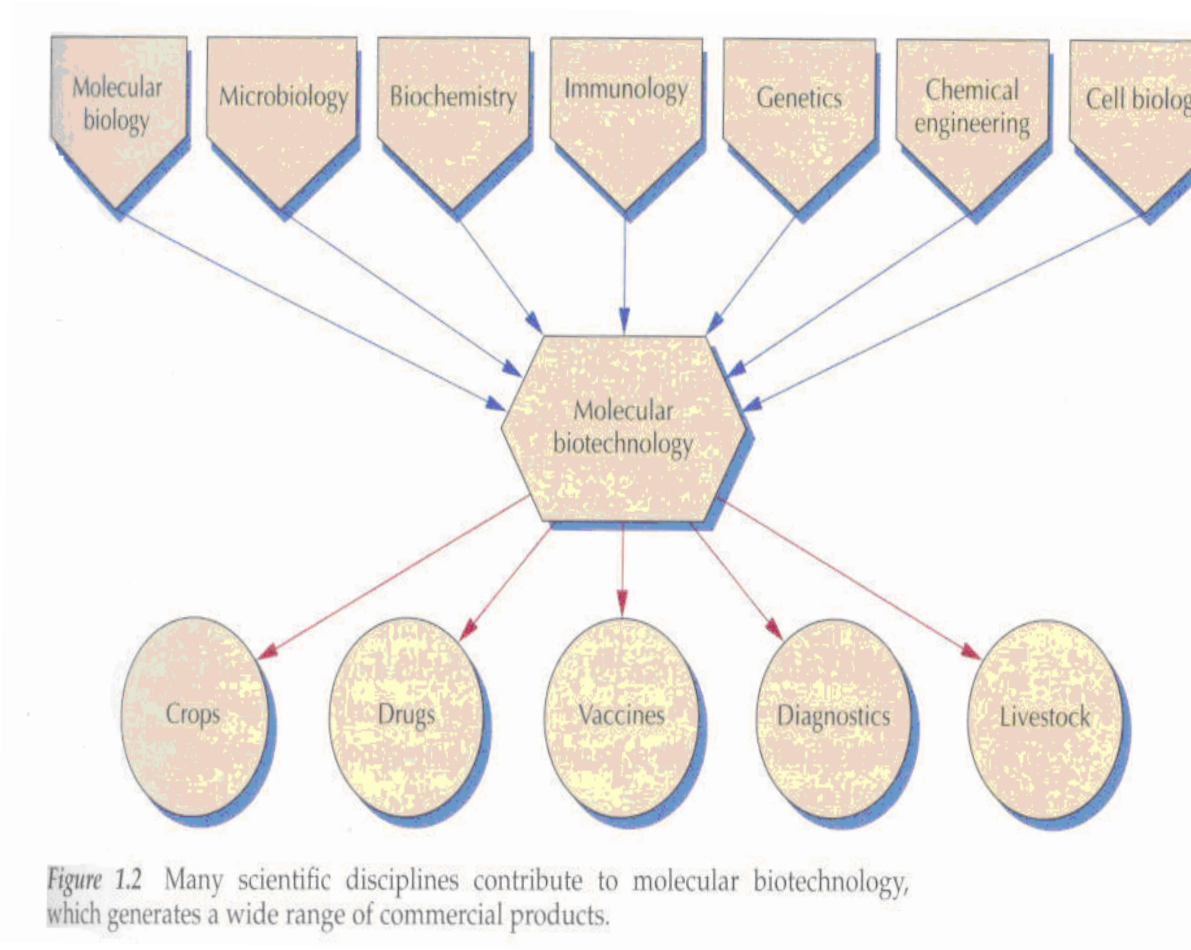
Zlepšování vlastností kmenů

- Pomocí mutagenese a selekce mutantů s žádanými vlastnostmi bylo často limitováno biologicky
- Účinně lze optimalizovat biotransformaci vytvářením vysoce produktivních kmenů pomocí technik rekombinantní DNA

Molekulární biotechnologie

- Je multioborová disciplína
- využívá řadu oborů

Multioborová disciplína (Glick a spol. 2006)



Základní mezníky ve vývoji molekulární biotechnologie (Glick a spol. 2006)

Table 1.1 Selected developments in the history of molecular biotechnology

Date	Event
1917	Karl Ereky coins the term <i>biotechnology</i>
1940	A. Jost coins the term <i>genetic engineering</i>
1943	Penicillin produced on an industrial scale
1944	Avery, MacLeod, and McCarty demonstrate that DNA is the genetic material
1953	Watson and Crick determine the structure of DNA
1961	The journal <i>Biotechnology and Bioengineering</i> is established
1961–1966	Entire genetic code deciphered
1970	First restriction endonuclease isolated
1972	Khorana and coworkers synthesize an entire tRNA gene
1973	Boyer and Cohen establish recombinant DNA technology
1975	Kohler and Milstein describe the production of monoclonal antibodies
1976	First guidelines for the conduct of recombinant DNA research issued
1976	Techniques developed to determine the sequence of DNA
1978	Genentech produces human insulin in <i>E. coli</i>
1980	U.S. Supreme Court rules in the case of <i>Diamond v. Chakrabarty</i> that genetically manipulated microorganisms can be patented
1981	First commercial, automated DNA synthesizers sold
1981	First monoclonal antibody-based diagnostic kit approved for use in the United States
1982	First animal vaccine produced by recombinant DNA methodologies approved for use in Europe
1983	Engineered Ti plasmids used to transform plants
1988	U.S. patent granted for a genetically engineered mouse susceptible to cancer
1988	PCR method published
1990	Approval granted in the United States for a trial of human somatic cell gene therapy
1990	Human Genome Project officially initiated
1990	Recombinant chymosin used for cheese making in the United States
1994–1995	Detailed genetic and physical maps of human chromosomes published
1996	First recombinant protein, erythropoietin, exceeds \$1 billion in annual sales
1996	Complete DNA sequence of all the chromosomes of a eukaryotic organism, the yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , is determined
1996	Commercial planting of genetically modified crops
1997	Nuclear cloning of a mammal—a sheep—with a differentiated cell nucleus
1998	FDA approves first antisense drug
1999	FDA approves recombinant fusion protein (diphtheria toxin–interleukin-2) for cutaneous T-cell lymphoma

Nejnovější mezníky

- 2004 - sekvencování metagenomu
- 2005 - v genové bance k dispozici 100 gigabází sekvencí nukleotidů
- 2006 - rekombinantní vakcína vůči rakovině děložního čípku
- 2008 – GM obiloviny na $2 \cdot 10^6$ ha
- 2009 – první léčivo produkované transgenním živočichem (koza)

Komeracionalizace produktů molekulární biotechnologie

- 1986 6×10^6 dolarů
- 1993 3.4×10^9 dolarů
- 2000 30×10^9 dolarů
- 2010 nárůst na 125 do roku 2020 na 250×10^9
- V USA přes 1500 biotechnologických firem, úzce se specializují
- I nadnárodní společnosti (Genentech koupila Hoffmann-LaRoche)
- V Japonsku strategické odvětví
- Rozvoj biotechnologií v EU

Biotechnologické firmy se zabývají

- Diagnostikou
- Vývoj nových léčiv - kardiovaskulární onemocnění, rakovina, virová onemocnění aj.
- Transportem léčiv k cílovým buňkám
- Přípravou vakcín
- Genovou terapií
- Problematikou mikročipů
- Tkáňovým inženýrstvím
- Využití kmenových buněk
- Zemědělskou a potravinářskou biotechnologií
- Problematikou životního prostředí
- Energetikou

Molekulární biotechnologie

- Představuje hlavní směr technického vývoje
- Dochází k smazávání rozdílů mezi základním a aplikovaným výzkumem
- Základní výzkum generuje znalosti, které stimulují aplikovaný výzkum
- V aplikovaném výzkumu vznikají problémy, které lze řešit pouze pomocí základního výzkumu

Pozitivní stránky molekulární biotechnologie

- Přesná diagnóza a včasná léčba (infekční a genetická onemocnění)
- Nové léky a vakcíny
- Větší výnosy kulturních plodin rezistentních vůči infekcím, hmyzu, stresům životního prostředí
- Hospodářská zvířata s žádanými atributy (rychlejší růst, lepší využívání krmiv, málo tuku, dárci orgánů)
- Odstraňování polutantů z životního prostředí
- Využití GM mikroorganismů pro produkci různých látek, antibiotik, polymerů, aminokyselin, enzymů
- Produkce významných doplňků stravy důležitých v potravinářském průmyslu a dalších průmyslových odvětvích

Využití výsledků (Glick a spol. 2006)



Figure 1.3 *The Farm*, by Alexis Rockman. According to the artist, “The Farm explores the iconography of agriculture. The Farm is set on a wide-angled field with all its usual trappings—animals, fruits, and vegetable. The situation, however familiar, is far from predictable. A disproportionately enormous and savage cow has an overabundance of teats. The pig is a human organ factory. And the chicken, which

Negativní stránky molekulární biotechnologie

- ? Škodlivost pro jiný organismus nebo životní prostředí
- ? Snížení genetické diverzity
- ? Náhrada tradiční léčby a tradičních chovných a šlechtitelských postupů
- ? Uplatnění technik na zárodečných buňkách
- ? Molekulární diagnostika a právo na soukromí
- ? Patentování a vlastnictví

Otázky

- <http://dailynews.yahoo.com> novinky z oboru molekulární biotechnologie
- PřF 20.9.2011