

# A biológia szerepe az egészségvédelemben

**Nagy Kinga**

nagy.kinga@mail.bme.hu

2017.10.24



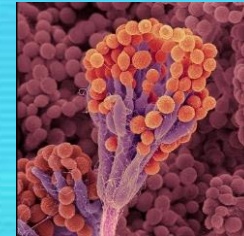
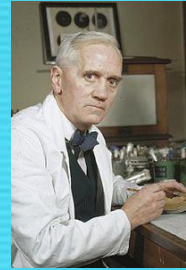
# Mikróbák az ember szolgálatában (Néhány példán keresztül bemutatva)

- Antibiotikumok (gombák, baktériumok)
- Restriktációs enzimek (baktériumok)
- Hőstabil polimerázok (baktériumok, archeák)
- Genome editing, géncsendesítés (baktériumok, eukarióták)

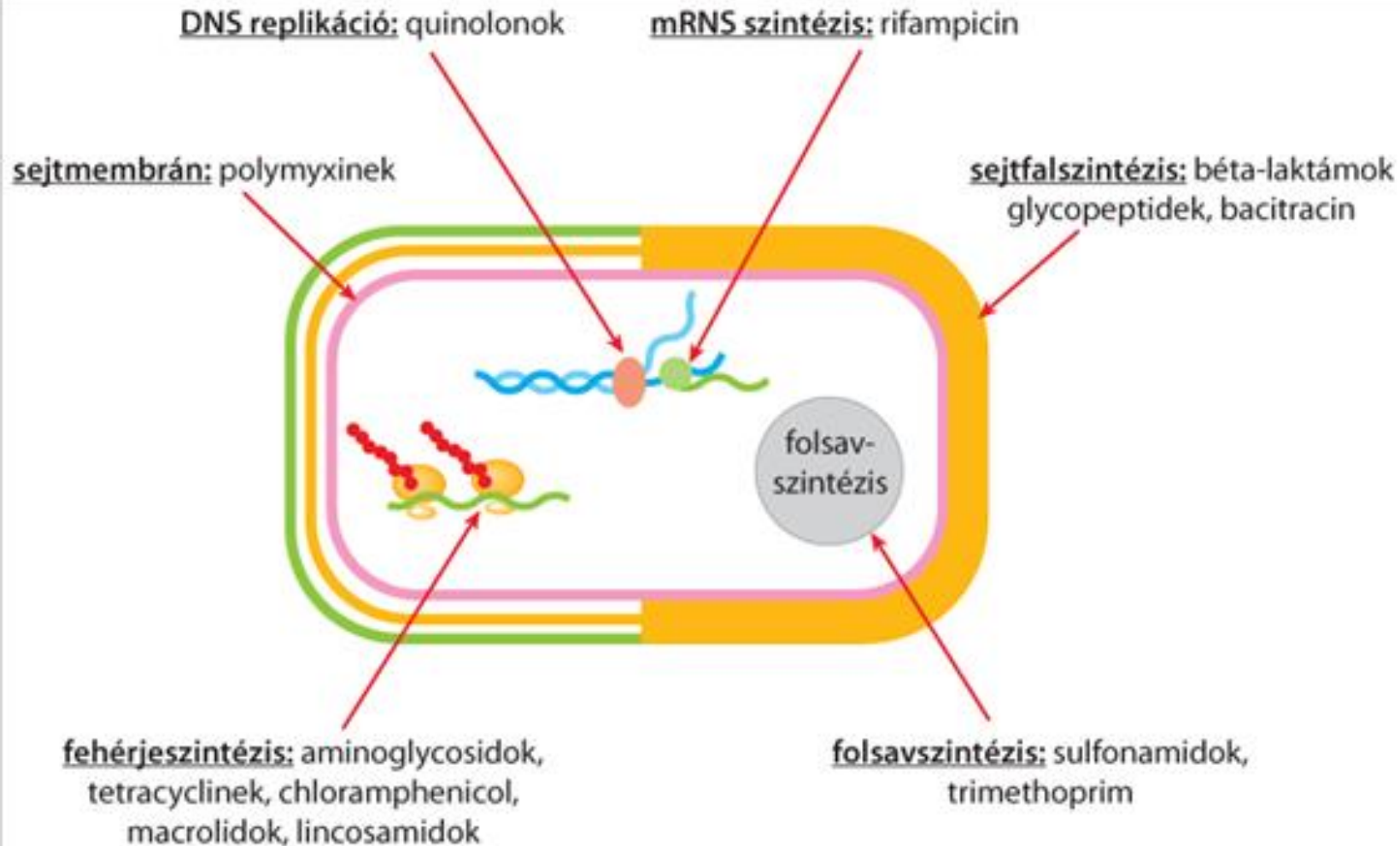


# Antibiotikumok

- Alexander Fleming (1928)
- *Penicillium notatum*
- Gram-pozitív baktériumok ellen hatásos, ellenben a Gram-negatívokkal szemben hatástalan.
- Emberi beteget a világon először 1942. március 14-én John Bumstead és Orvan Hess kezelt sikeresen penicillinnel.
- 1945-ben orvosi Nobel-díj.



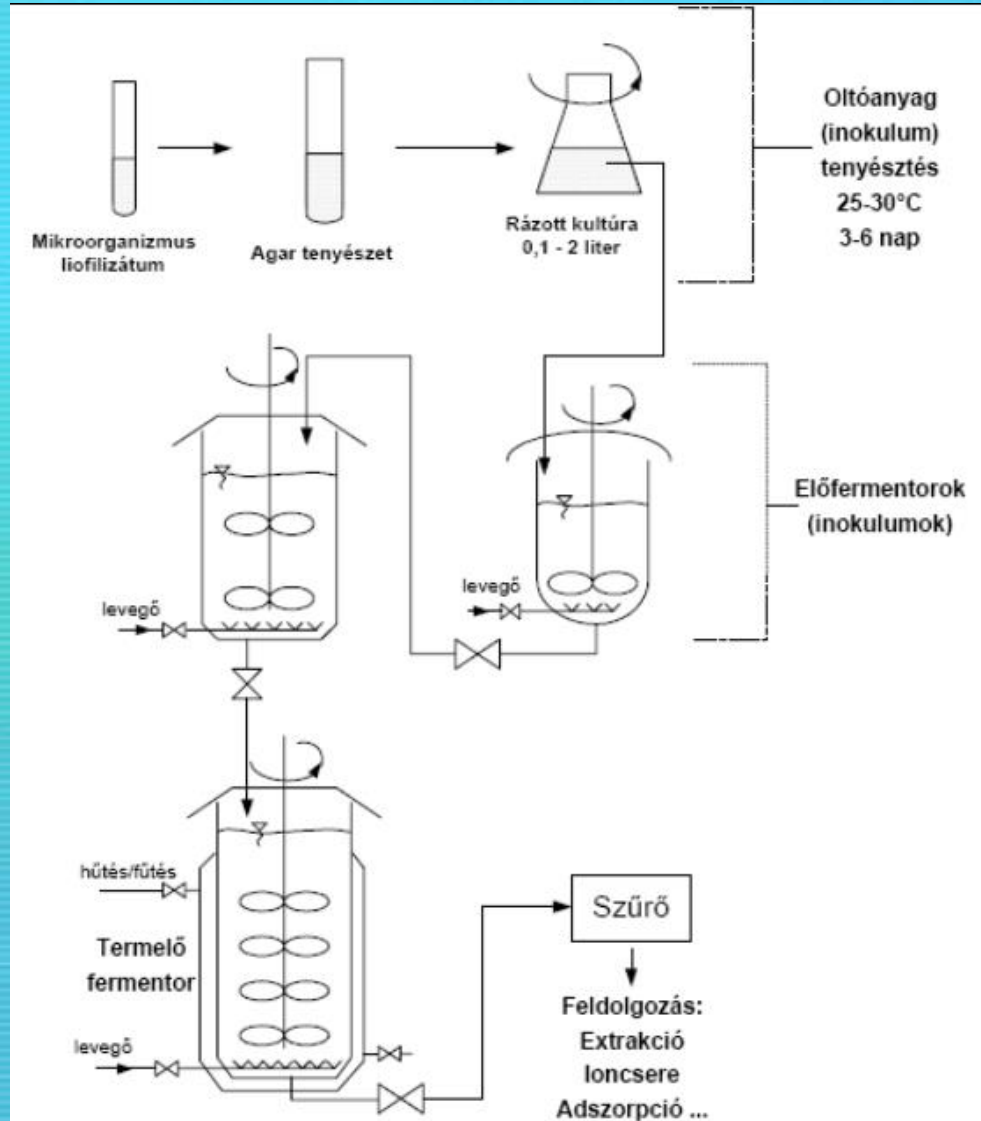
# Antibiotikum típusok



# Antibiotikumok előállítása

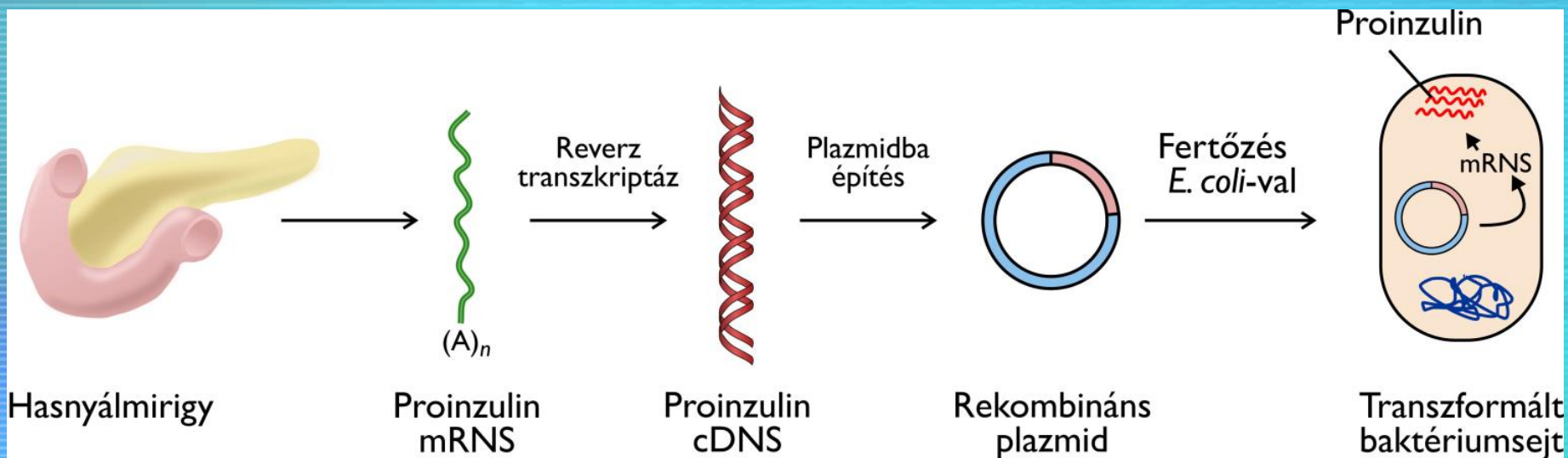
- Sugárgombák
- Mikroszkópikus gombák
- Baktériumok

Napjainkban a fenti három mikroorganizmus család segítségével előállított ismert antibiotikumok száma ~12000.



# Rekombináns fehérje termelés – Gyógyítás és alap kutatás

Restrikciós enzimek (baktériumok), hőstabil polimerázok (baktériumok, archeák)



A legelső, gyógyászati célra használható **rekombináns humán** fehérjét *E. coli* sejtekben állították elő (rekombináns **inzulin**)  
Genentech 1978

# Rekombináns fehérje termelés – Gyógyítás és alap kutatás

- Genetikailag módosított baktériumokkal:
  - véralvadási faktorok
  - növekedési hormonok
- *Saccharomyces cerevisiae* (élesztő):
  - hepatitis B vírus (HBV) elleni vakcina
- Emlős szövettenyészetekben:
  - szöveti plazminogén aktivátor (tPA) (infarktus után azonnal adva a vérrögképződés megelőzhető)
  - VIII-as faktor (hiánya vérzékenységet (A típusú hemofíliát) okoz)
  - eritropoetin (EPO) (hatására indul be az őssejtek differenciálódása vörösvérsejteké)



# Rekombináns fehérje termelés – Gyógyítás és alapkutató

Egyéb E. coli-ba vagy élesztőbe klónozott humán gének:

- IX-es véralvadási faktor
- Interferonok és interleukinek (az immunrendszer szabályozásában szerepet játszó fehérjék)
- GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) - **csontvelő átültetés után** alkalmazzák.
- G-CSF (granulocyte colony-stimulating factor) - **kemoterápián átesett betegeknél** alkalmazzák.
- ADA (adenosine deaminase), az SCID (severe combined immunodeficiency – **súlyos kombinált immunhiányos állapot**) **kezelésére** használnak.
- Angiostatin és endostatin (sejtszaporodás-gátló szerek) - **rákellenes terápiákban** alkalmazzák őket.
- Paratiroid hormon (pajzsmirigyhormon)
- Leptin (zsírsejtek szintetizálják, hipotalamusz receptorokhoz kötődik, elősegíti bizonyos étvágycsökkentő szabályozó molekulák termelődését, ezáltal **csökkenti az éhségérzetet**)





# Rekombináns fehérje termelés – Gyógyítás és alapkutatás

## Hibridóma sejtek

Az immunizált állat lépének B sejtjeit  
ellenanyagot termelnek, de rövid  
életűek.

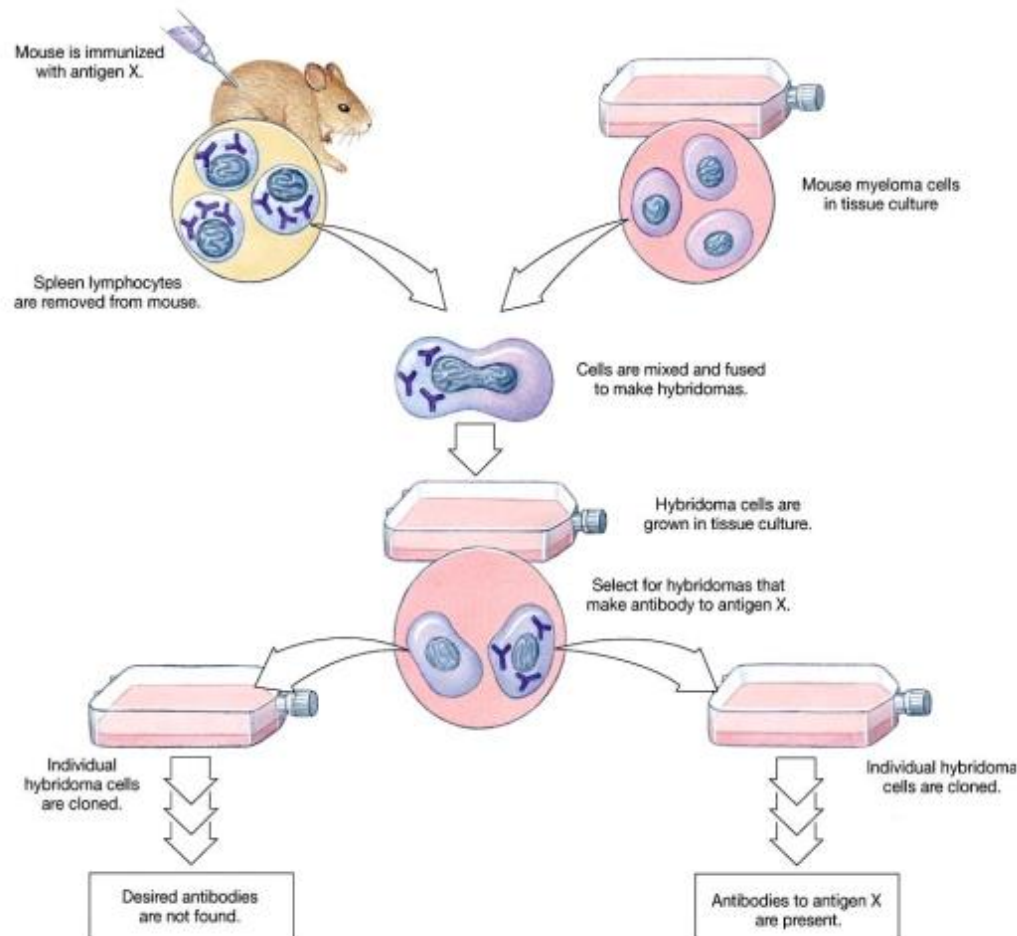
A mieloma sejtek (B tumorsejtek)  
nem termelnek, de 'halhatatlanok'.

A kétféle sejt fúziójával hibrid sejteket  
(hibridóma) lehet előállítani.

A hibrid sejtek közül kiválogathatók  
a folyamatosan osztódó és Ig-t  
termelő klónok.

Ezek elszaporítva felhasználhatók  
ellenanyagok gyártására.

→ „humanizálás”



# Rekombináns fehérje termelés – Gyógyítás és alapkutató

## Gyógyszerként használt ellenanyagok

- Az **Avastin** meggátolja új erek, kapillárisok keletkezését, hatásos tumor-ellenes hatással rendelkezik.  
Az Avastin egy humanizált, VEGF-ellenes monoklonális ellenanyag



A **Remicade**, az **Infliximab**, a **Humira** a TNF hatását gátolja, reumás artritiszben, Crohn betegségben, krónikus gyulladós esetekben gyógyító hatású.

Hasonlóképpen, az IL-1 ellenes hatású **Anakinra** is nagyon hatásos krónikus gyulladós kórképekben.

A vaksághoz vezető makula degeneráció kezelésére alkalmas a **Lucentis** (Ranimizumab).

+ Diagnosztikában és alapkutatóban használt ellenanyagok

<http://web.med.u-szeged.hu/mdbio/hun/anyagok/2011-2012/II.felev/ga/rekomb.pdf>

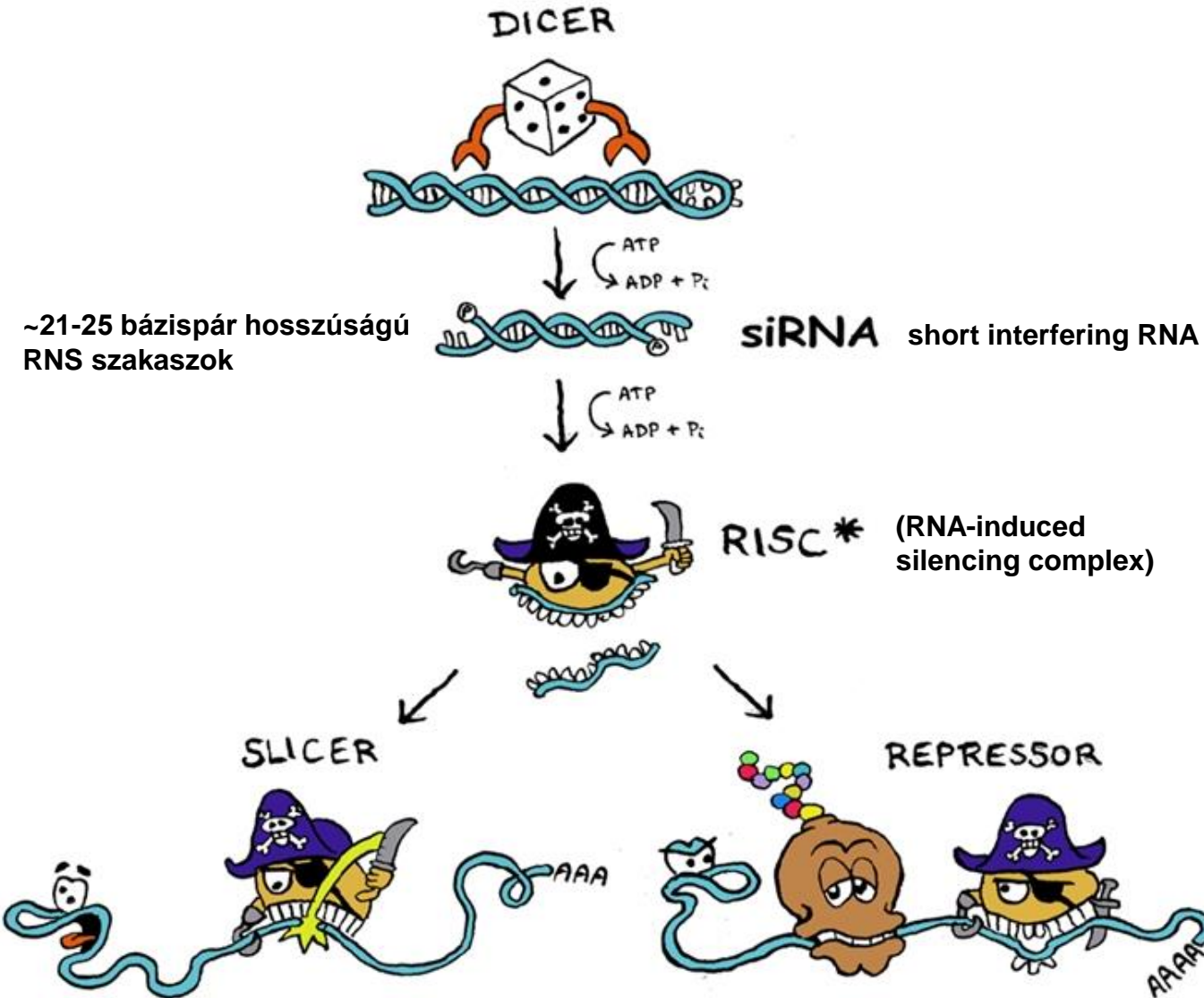
# Géncsendesítés

- gének kifejeződésének szabályozása
- vírusgének hatásának blokkolása
- 2006-ban Nobel-díj



# Géncsendesítés

## RNS interferencia

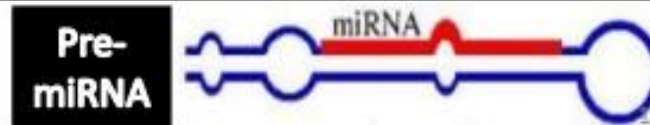


<http://www.mrns.hu/hirek/rns-interferencia-virusok-es-emlos-sejtek>

# Géncsendesítés

## RNS interferencia

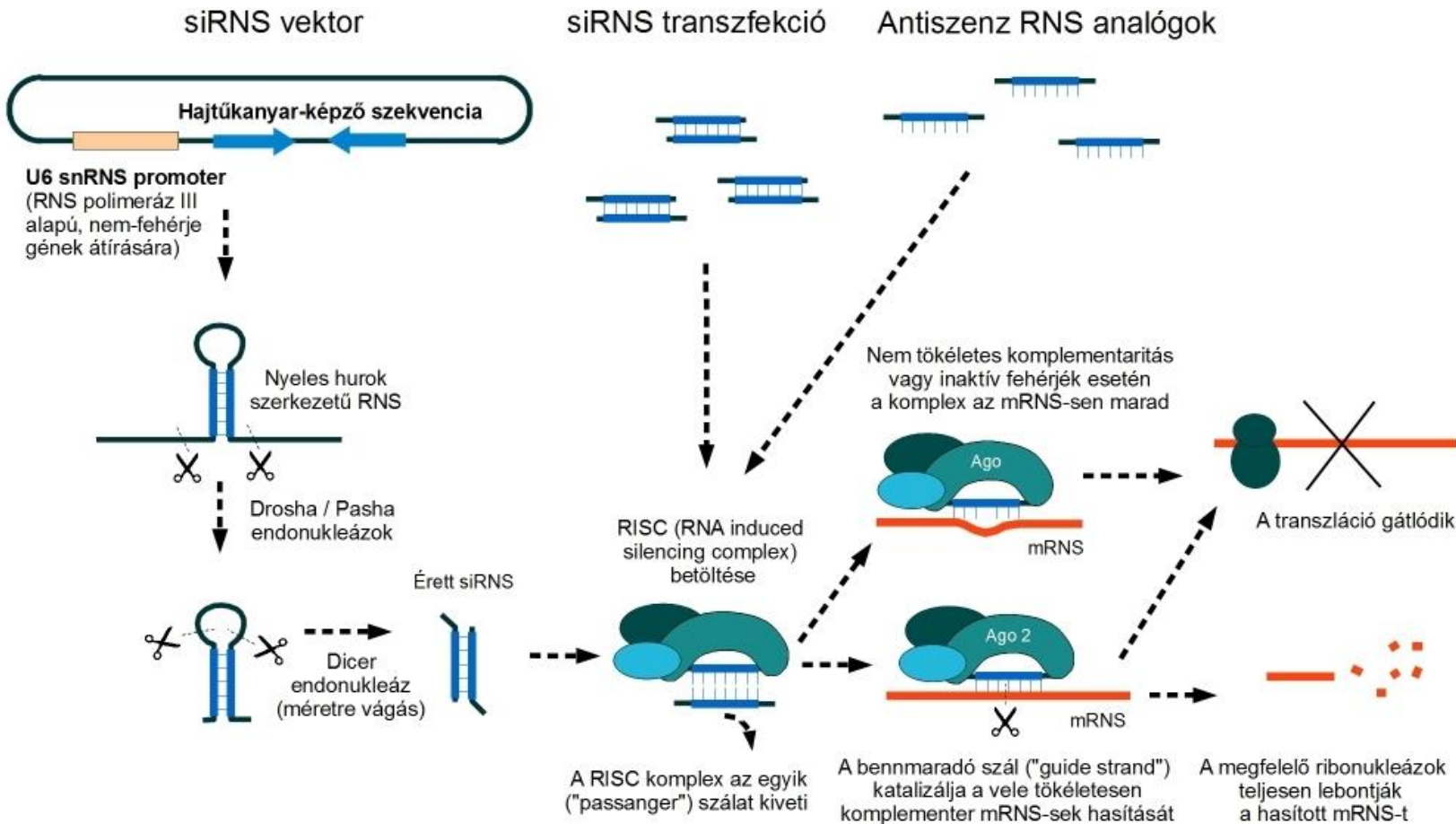
siRNA	miRNA
Exogenous	Endogenous
21-25 nt RNAs	~23 nt RNAs
dsRNA	Initially ssRNA but converted into hairpin secondary structure
Most commonly responses to foreign RNA(Viral, transposable elements, repetitive elements or artificial transgene insert)	Regulates post-transcriptional gene expression
100% complementary to target RNA	Not often 100% complementary to target RNA
Produced in large population	Only single small RNA
Effective but not tissue specific Silencing	Precise and tissue specific Silencing



<https://www.slideshare.net/mariyazaman58/role-of-antisense-and-rna-based-gene-silencing-in-crop-improvement>

# Géncsendesítés

## RNS interferencia (mesterséges)



[http://elte.prompt.hu/sites/default/files/tananyagok/Genotechnologia/ch14\\_s06.html](http://elte.prompt.hu/sites/default/files/tananyagok/Genotechnologia/ch14_s06.html)

# RNS interferencia alapú terápiák

Pl.:

- citomegalovírus IE2 génje ellen: fomiversen (antivirális szerként)
- apolipoprotein-B ellen: mipomersen (hiperlipidémia kezelésére)
- HIV esetében a gazdaszervezet sejtjein lévő receptorokat és koreceptorokat próbálják kikapcsolni
- daganatok kifejlődésében szerepet játszó, sejtosztódást szabályozó gének kifejeződésének gátlása?

## Nehézségek:

- a megfelelő nukleotid-analógok gyakran instabilak, továbbá hajlamosak gyulladást és egyéb nem kívánatos (off-target) válaszokat okozni.
- az új RNS-analóg gyógyszerek előállításának legnagyobb nehézsége, hogy a testi sejtekbe egyelőre nem tudjuk igazán hatékonyan bejuttatni a megfelelő nukleotid-analógokat.



# Genome editing

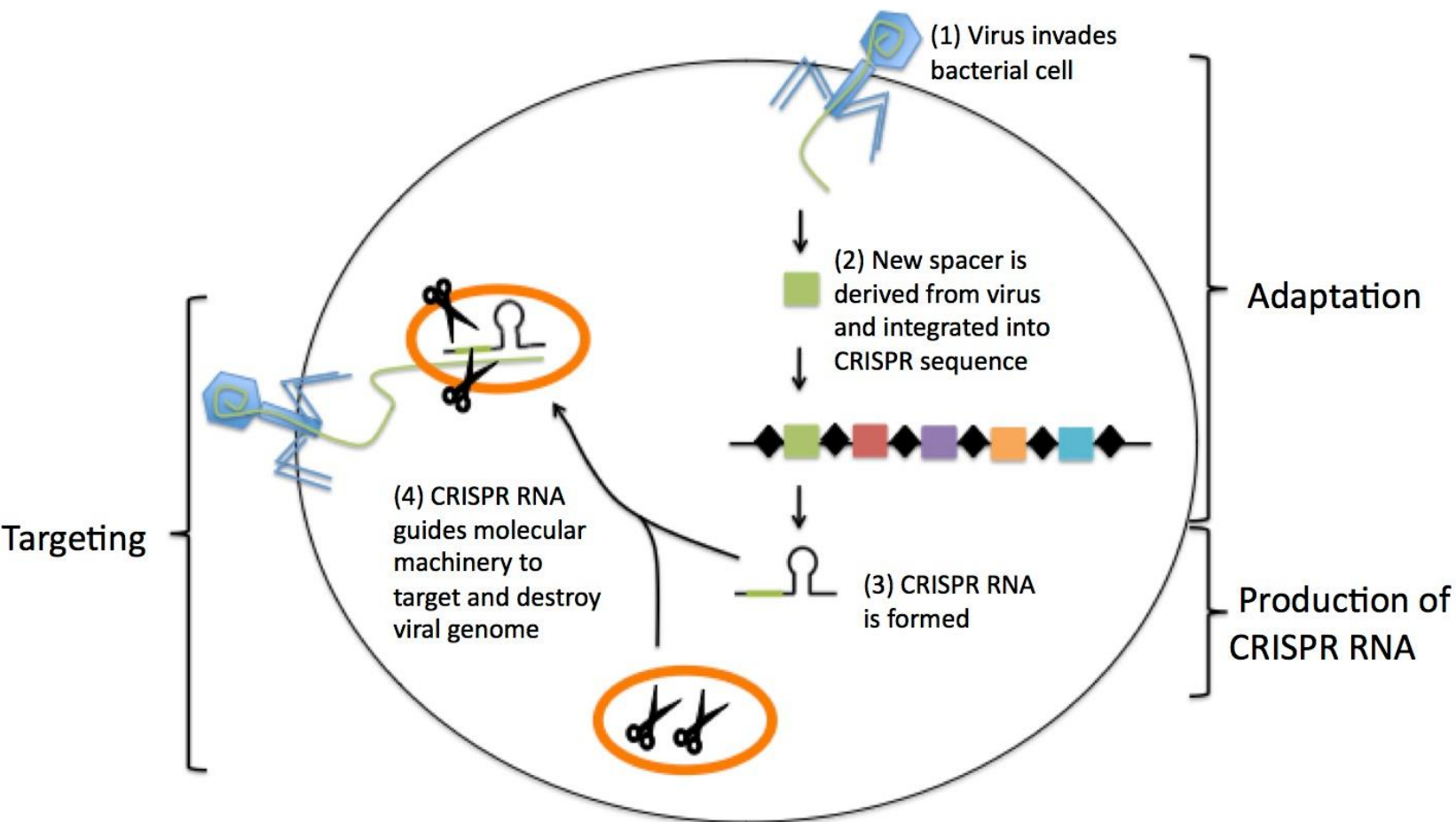
- Fehérjék funkciójának vizsgálata
- Gének kiütése, illetve beillesztése
- Mutációk létrehozása
- Genetikai betegségek gyógyítása?





# Genome editing CRISPR/Cas9

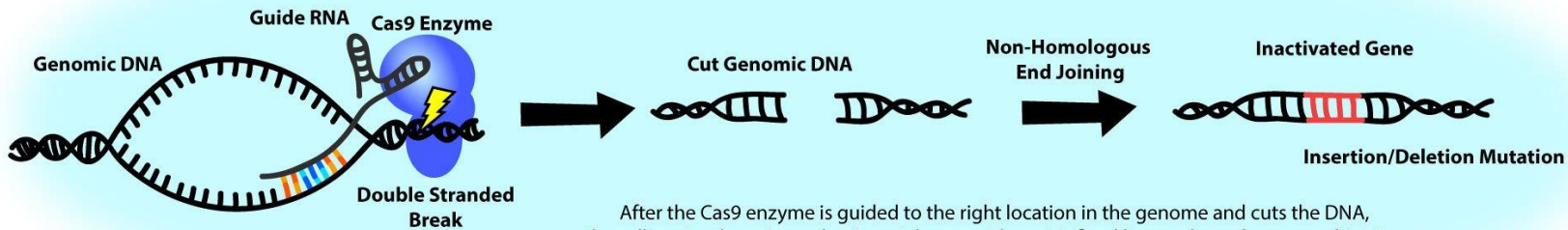
Bakteriális immunrendszer



<http://sitn.hms.harvard.edu/flash/2014/crispr-a-game-changing-genetic-engineering-technique/>

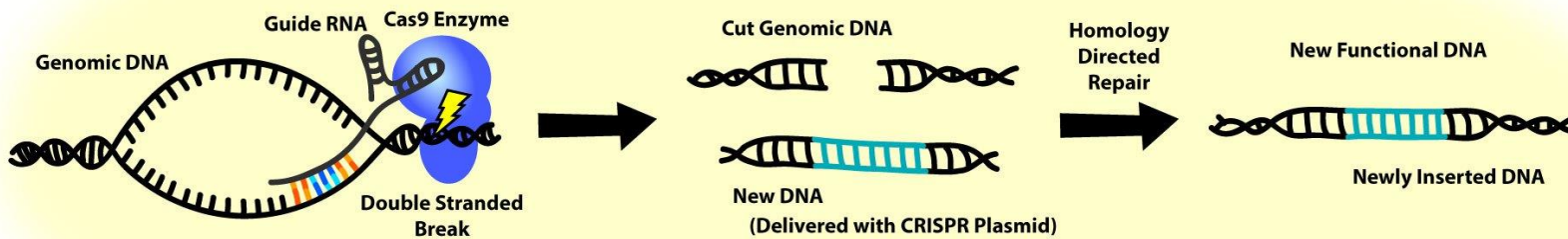
# Genome editing CRISPR/Cas9

## Gene Silencing with CRISPR



After the Cas9 enzyme is guided to the right location in the genome and cuts the DNA, the cell's natural repair mechanisms take over. The cut is fixed by non-homologous end joining. This process is error-prone and does not perfectly replace the cut DNA, often resulting in an insertion or deletion mutation which silences the gene.

## Gene Insertion with CRISPR

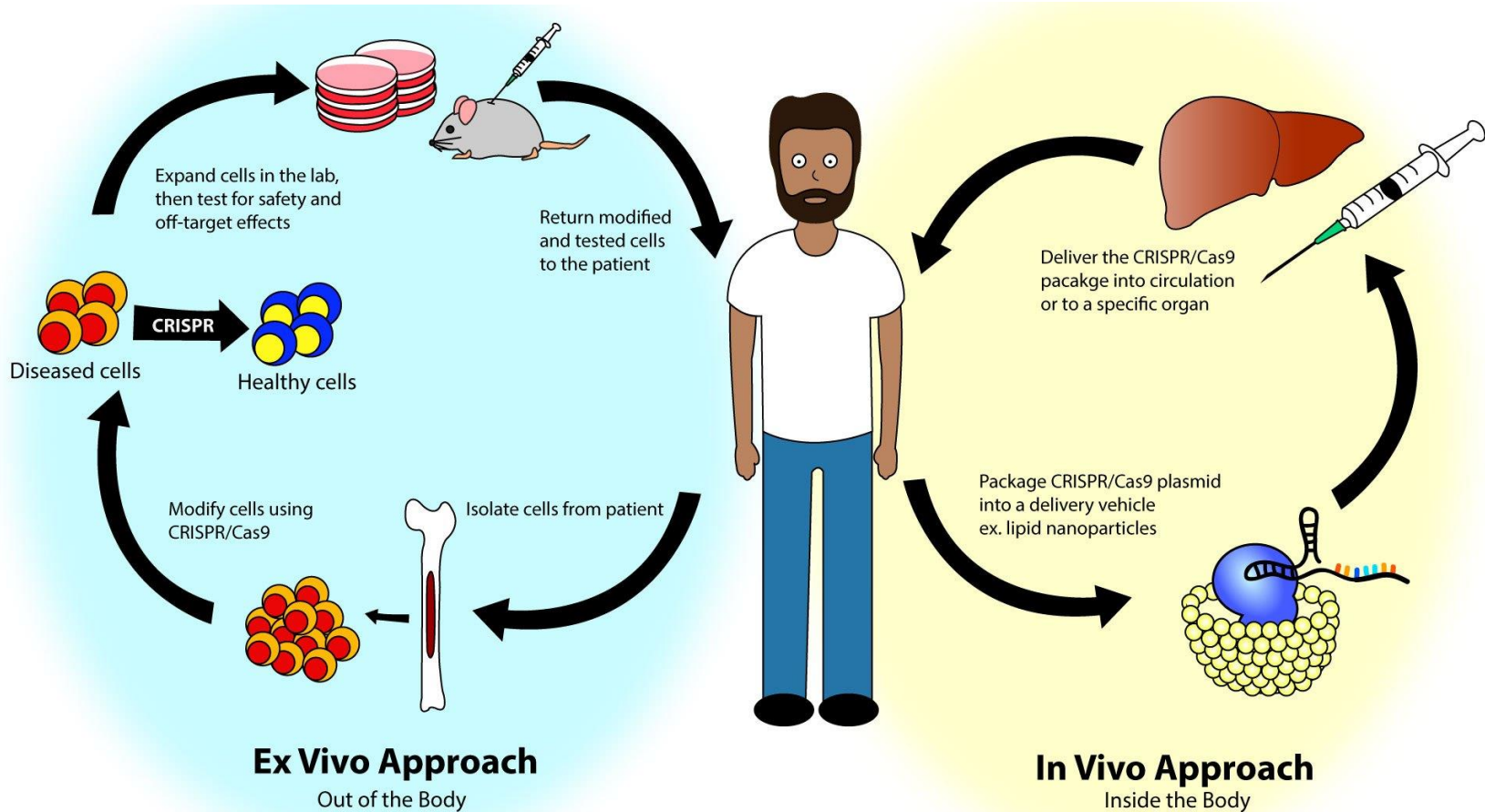


To insert a gene, the new gene is added into the original CRISPR plasmid. It is designed to line up perfectly with the cut DNA strands, so the cell uses a different technique, homology directed repair, to incorporate a new stretch of DNA into the genome.

<http://sitn.hms.harvard.edu/flash/2017/genetic-surgery-future-conversation-dr-john-doench-crispr-genome-editing/>

# Genome editing

Pl.: sarlósejtes vérszegénység gyógyítása



<http://sitn.hms.harvard.edu/flash/2017/genetic-surgery-future-conversation-dr-john-doench-crispr-genome-editing/>

# Molekuláris terápiák

## Súlyos immunhiányos betegség (SCID) terápiája:

(adenozin dezamináz (ADA) hiánya okozza)

deoxi-adenozin  $\longrightarrow$  deoxi-ATP  $\longrightarrow$  TŰNETEK

↓ ADA hiány

STOP

deoxi-inozin

↓

hipoxantin

↓

xantin

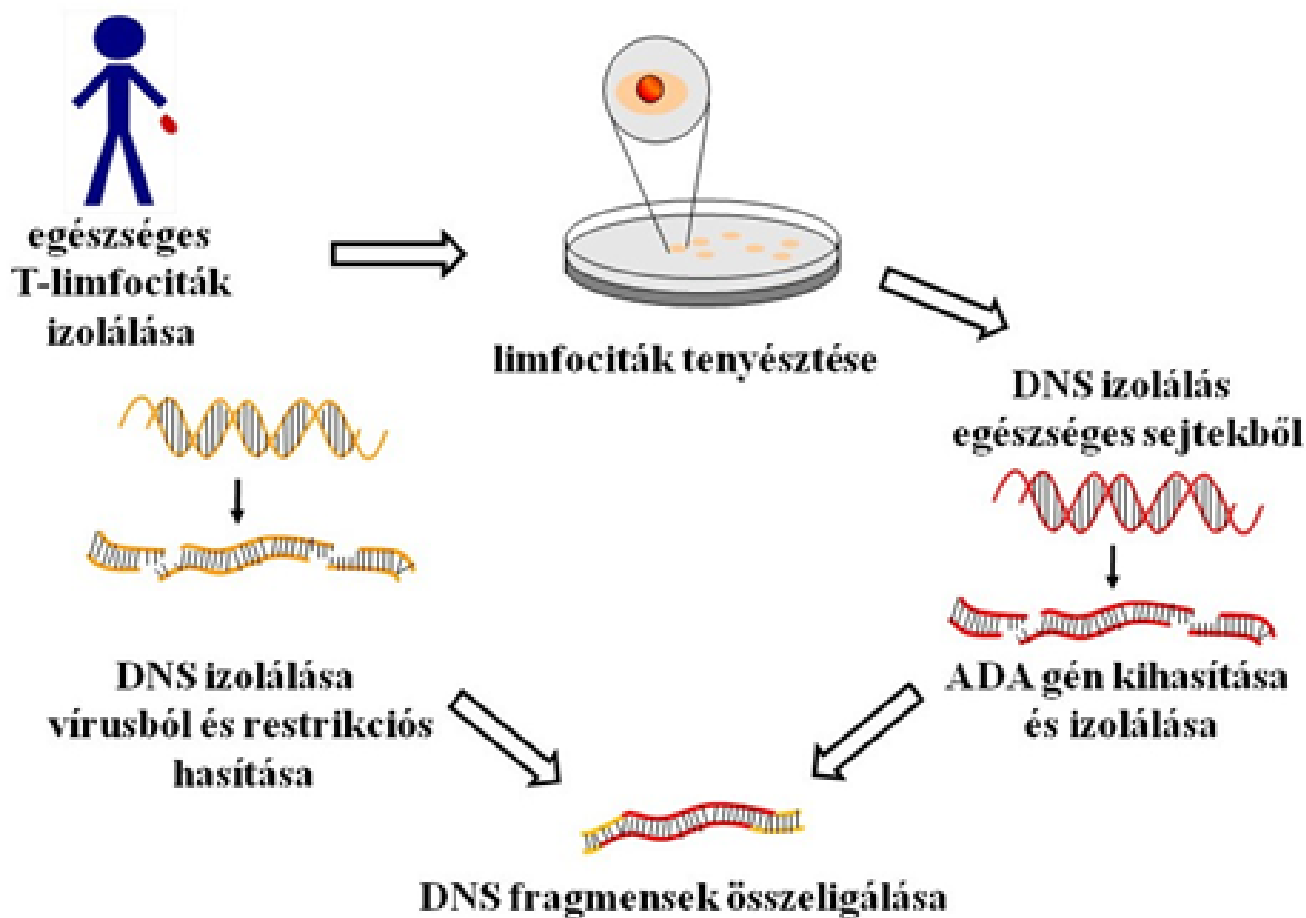
↓

húgysav

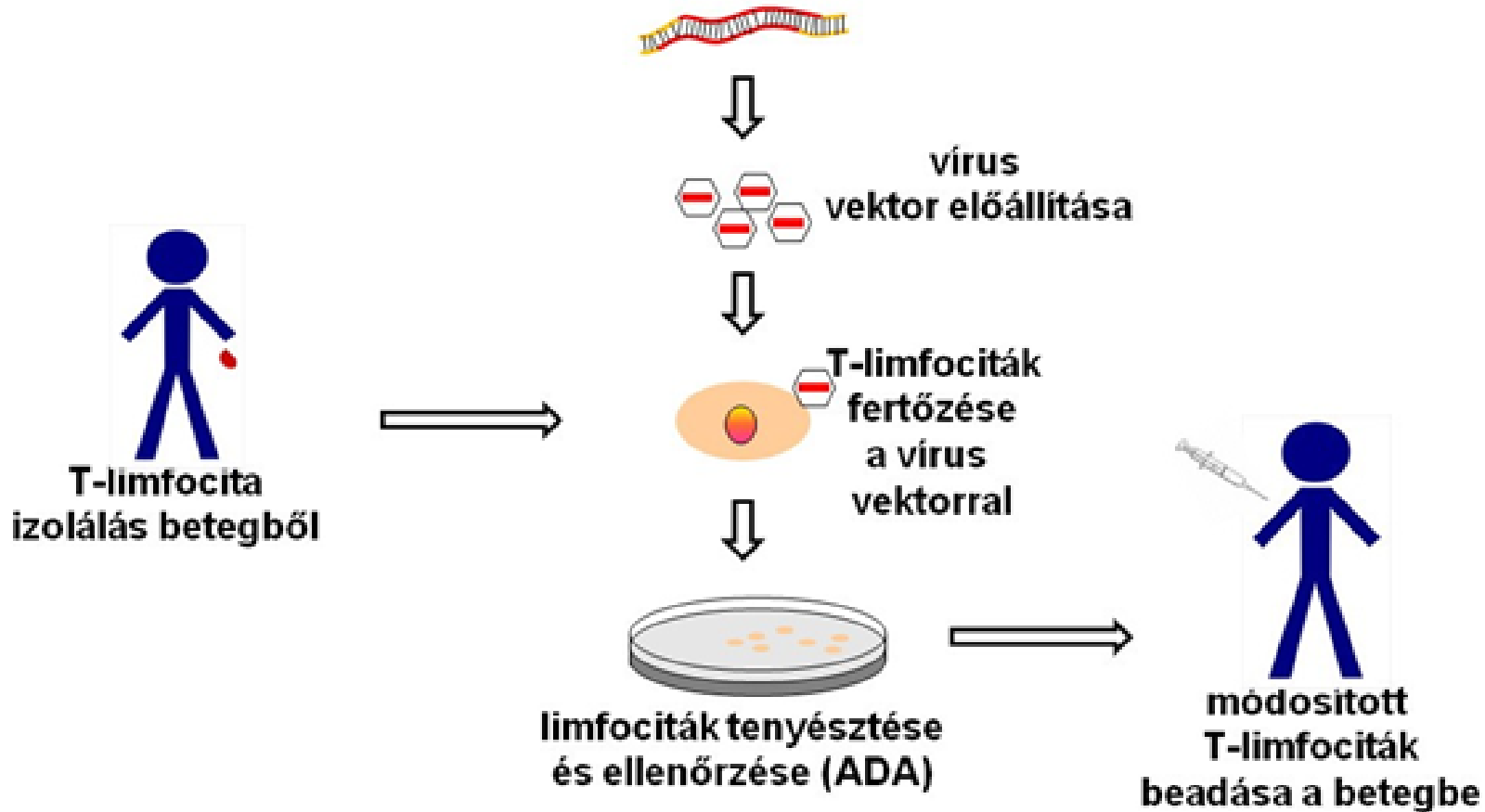
dATP szint megnő, ami a T és B-sejtek kialakulását gátolva súlyos immunhiányos állapotot eredményez „buborék fiú” betegség

[http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/0011\\_1A\\_Molekularis\\_terapiak\\_hu\\_book/ch03s04.html](http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/0011_1A_Molekularis_terapiak_hu_book/ch03s04.html)

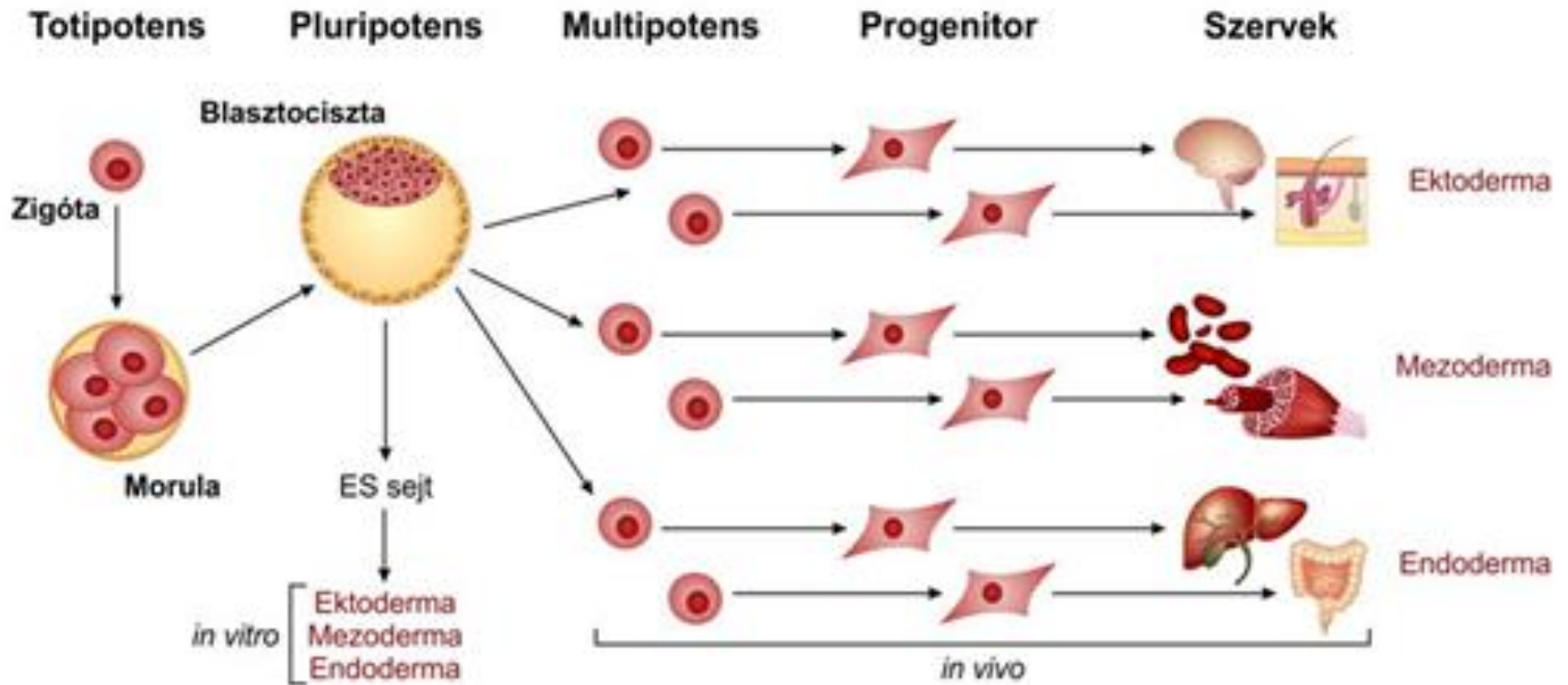
# Molekuláris terápiák



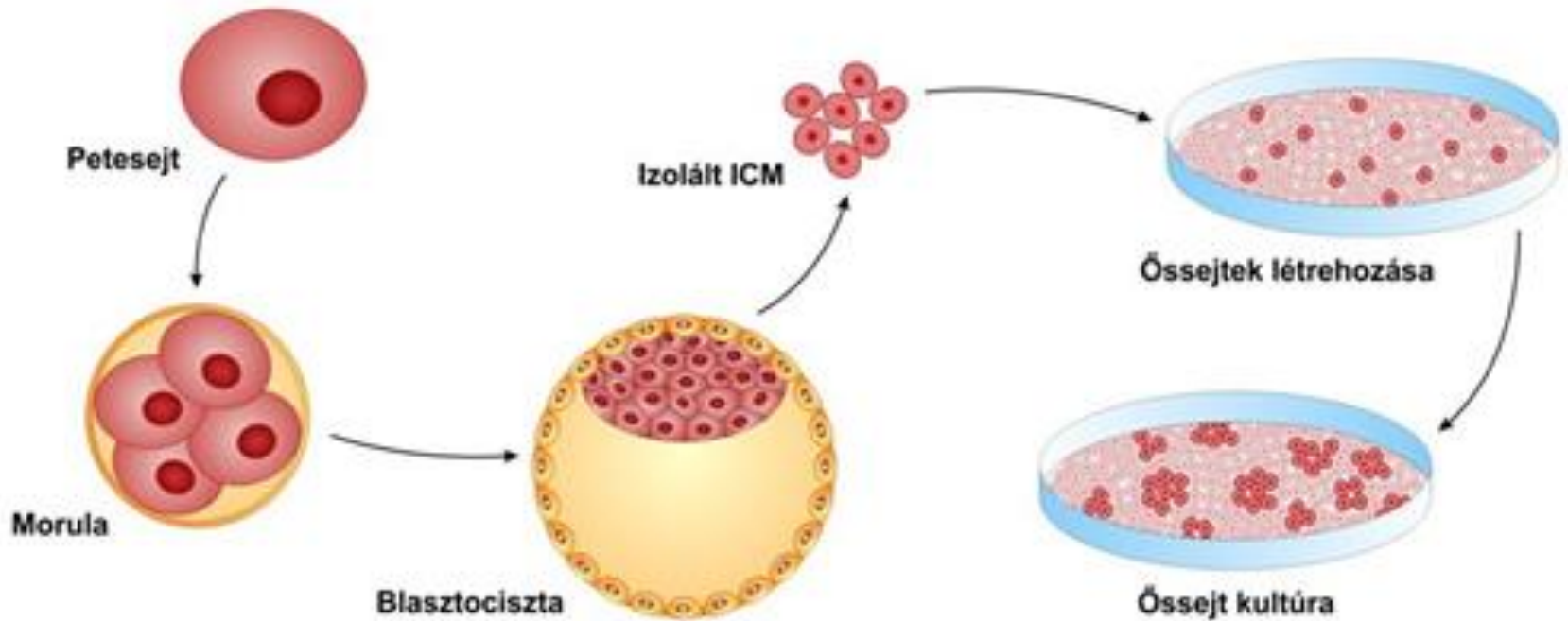
# Molekuláris terápiák



# Össejtek



# Embrionális őssejt kultúra létrehozása

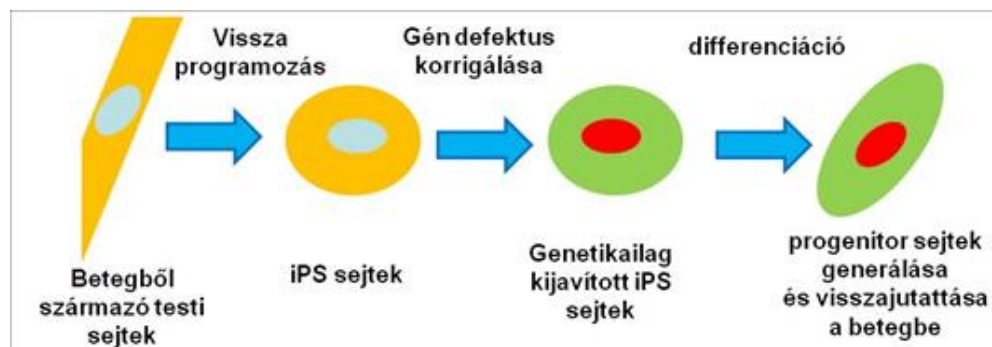
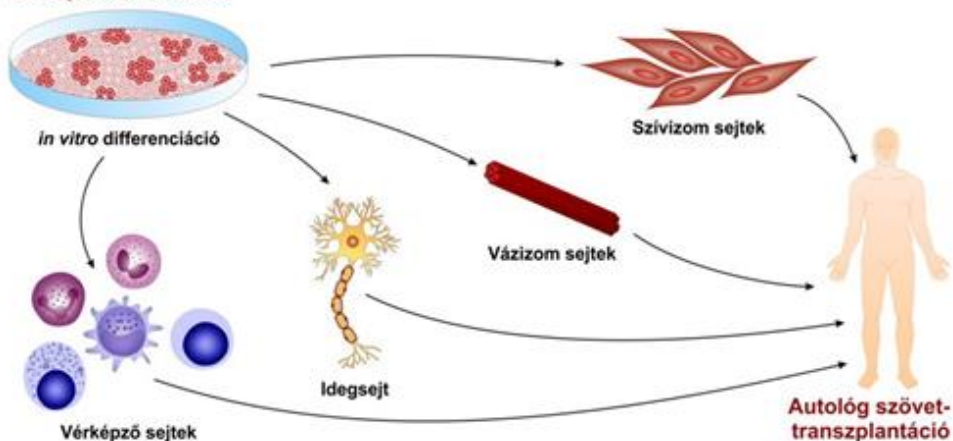


In vitro fertilizáció során (lombik bébi program) feleslegben megmaradó blasztociszták (hólyagcsirák) felhasználhatók őssejt forrásként.



# Embrionális őssejt alapú regeneratív medicina

## ES sejtek létrehozása



Példa: A Falconi anémia esetében ezzel az eljárással sikerült a vérképző sejtek defektusát kijavítani humán iPS sejtekkel ex vivo.

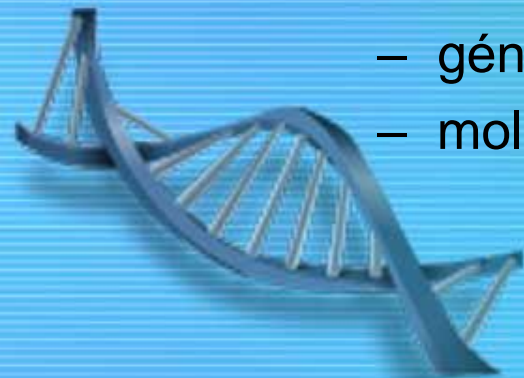
# Összefoglalás

- Antibiotikumok:
  - gombák és baktériumok termelik
  - baktériumok szaporodását gátolja / elpusztítja azokat
  - több támadáspont
- Rekombináns fehérjék:
  - humán inzulin előállítása baktériumokkal
  - a fehérje tulajdonságaitól függ a termelőtörzs kiválasztása
  - poliklonális, monoklonális és humanizált ellenanyagok



# Összefoglalás

- Géncsendesítés:
  - exogén és endogén útvonal
  - alacsonyabb rendűekben immunrendszer része, magasabb rendűekben génszabályozás
  - mesterségesen bevitt csendesítő RNS-ekkel gének funkciójának vizsgálata
  - terápiák és nehézségek
    - Genome editing (CRISPR/Cas9):
      - bakteriális immunrendszer
      - gének kiütése és beillesztése is lehetséges
      - molekuláris terápiák



# Összefoglalás

- **Őssejtek:**
  - pluripotens sejtek – bármilyen testi sejt létrehozására alkalmasak
  - blasztocitákból (hólyagcsíra) izolálhatóak vagy differenciálódott sejtekből visszaalakíthatóak
  - korlátlan osztódás
  - genetikailag módosíthatóak
  - terápiás veszélyek (daganatok kialakulása), etikai kétségek



Köszönöm a figyelmet!



# Szószedet

- Prokarióták: sejtmag nélküli élőlények (baktériumok és archeák)  
<https://hu.wikipedia.org/wiki/Prokari%C3%B3t%C3%A1k>  
<https://hu.wikipedia.org/wiki/Arche%C3%A1k>
- Eukarióták: sejtmaggal illetve több membránnal határolt sejtalkotóval rendelkeznek  
<https://hu.wikipedia.org/wiki/Eukari%C3%B3t%C3%A1k>
- Restriktív endonukleázok: olyan enzimek, amelyek képesek felismerni egy rövid nukleotidszekvenciát a kétszálú DNS-en belül és azon a helyen – vagy a közelében – elvágni a DNS-t; bakteriális „immunrendszer” része – vírusok elleni védekezés  
[https://hu.wikipedia.org/wiki/Restrikt%C3%B3s\\_endonukle%C3%A1z](https://hu.wikipedia.org/wiki/Restrikt%C3%B3s_endonukle%C3%A1z)
- Hőstabil polimerázok: extrém termofil baktériumokból / archeákból izolált DNS polimerázok (akár 95 °C-on is működőképesek)  
<https://hu.wikipedia.org/wiki/DNS-replik%C3%A1ci%C3%B3>  
[http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop412A/2011\\_0079\\_wunderlich\\_molbio/ch07s06.html](http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop412A/2011_0079_wunderlich_molbio/ch07s06.html)
- Plazmid DNS: általában gyűrű alakú, kettős szálú DNS-molekulák – genetikai információk átadása sejtek között a kromoszómától függetlenül  
<https://hu.wikipedia.org/wiki/Plazmid>



# Szószedet

- T-limfociták: immunsejtek - a sejtés immunválaszért felelősek  
<https://hu.wikipedia.org/wiki/T-limfocita>
- B-limfociták (B sejt): az adaptív immunrendszer nyiroksejtjei - ellenanyagokat termelnek  
<https://hu.wikipedia.org/wiki/B-limfocita>
- Őssejtek: korlátlan osztódásra képesek – sejttenyészetekben fenntarthatóak
- Totipotens: az összes (embrionális és extraembrionális) szövet és szerv létrehozására képes. Ilyen a megtermékenyített petesejtet.
- Pluripotens: Csökkent potenciával rendelkező őssejt, mely nem képes extraembrionális szövet létrehozására, de mindhárom csíralemez kialakítására és ivarsejtek képzésére is alkalmas. Ilyen az embrionális-őssejt.
- Multipotens: Csökkent potenciával rendelkező őssejt, mely nem képes ivarsejt létrehozására, de bármely más sejttípus kifejlődhet belőle. Ilyenek a szervezet szöveti őssejtjei.
  - Progenitor: felnőtt szervezetben az előd- (progenitor) sejtek a test javító mechanizmusaként szolgálnak, a specializált sejteket felfrissítve, valamint a vér, bőr vagy az emésztőrendszer szöveteinek normális megújulásában is közreműködnek.

<https://hu.wikipedia.org/wiki/%C5%90ssejt>

