

Metody przenoszenia informacji genetycznej i ich wpływ na zdrowie człowieka

*Paweł Kowalczyk¹, Urszula Jankiewicz²

¹Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów, Wydział Rolnictwa i Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa
P.o. Kierownika Zakładu: dr hab. Barbara Łotocka

²Katedra Biochemii, Wydział Rolnictwa i Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa

METHODS OF TRANSFER OF GENETIC INFORMATION AND ITS IMPACT ON HUMAN HEALTH

S u m m a r y

HGT (called Horizontal Gene Transfer) consists of the transfer of genetic material from one cell to another of the same type (common in prokaryotic between different bacterial species), between cells or between other unrelated organisms (found in eukaryotes). In 1984, then called HGT concepts as interspecies gene flow introduced Michael Syvanen and it gradually developed. This type of transfer is inseparably connected with the concept of a broad host range (between prokaryotic and eukaryotic) when the body can transfer genes of representatives of different species and even generations. The adsorption of the bacteriophage to the cellular surface of its host unleashes a cascade of reaction, the final product being the formation of new virions and infection of new cells. Most important aspects of the bacteriophage development cycle concern the conditions in which the metabolic apparatus of the host is being taken over by the virus and the assembly and formation of new bacteriophages. Head maturation is a complex process which requires many different structural proteins and enzymes to interact together. Proteases responsible for the proteolytic cleavage of structural and scaffolding are poorly described and still require research. Despite intensified studies there is still little information about substrate specificity, optimal conditions for enzyme activity or the regulation of activity *in vivo*.

Key words: transformation, transduction, conjugation, homologous recombination

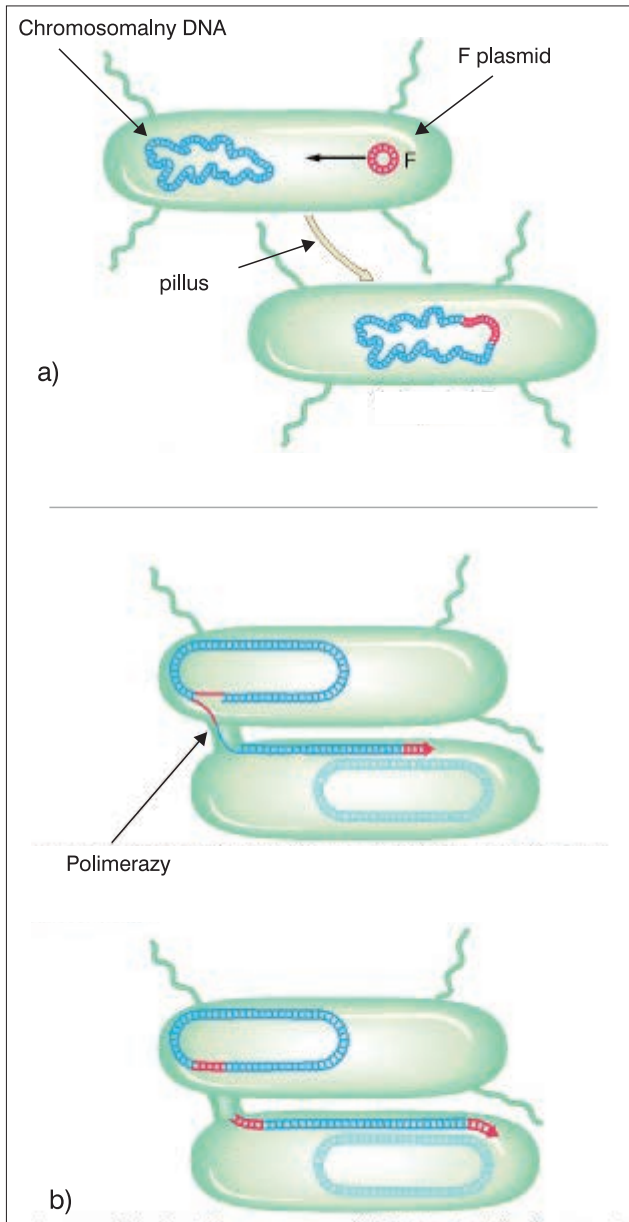
WSTĘP

Horizontalny transfer genów (ang. HGT, *Horizontal Gene Transfer*) zwany także poziomym transferem genów, polega na przeniesieniu materiału genetycznego z jednej komórki do drugiej tego samego typu (powszechnie występuje w organizmach prokariotycznych) między różnymi gatunkami bakterii poprzez procesy koniugacji, transdukcji oraz transformacji, pomiędzy innymi komórkami np. bakteriami a drożdżami lub m.in. niespokrewnionymi organizmami (również w komórkach eukariotycznych) np. bakteriami i owadami, grzybami a zwierzętami. W 1984 roku Michael Syvanen wprowadził koncepcję HGT jako międzygatunkowego przepływu genów i stopniowo ją rozwijał. Ten rodzaj transferu jest nierozdzielnie związany z pojęciem szerokiego zakresu gospodarza (między organizmami prokariotycznymi i eukariotycznymi), kiedy informacja genetyczna może być przenoszona przez przedstawicieli różnych gatunków, a nawet pokoleń. Na przykładzie adsorpcji bakteriofaga do komórkowej powierzchni gospodarza, wyzwolana jest kaskada reakcji, a w konsekwencji tworzenie nowych wirionów, które doprowadzają do zakażeń nowych komórek i tworzenia nowych bakteriofagów.

RODZAJE HORYZONTALNEGO TRANSFERU GENÓW

Ten typ wymiany materiału genetycznego został dobrze i wcześniej poznany głównie wśród organizmów prokariotycznych dzięki mechanizmom: koniugacji, transdukcji i transformacji.

Koniugacja – w wieloetapowym procesie przekazywania genów przez bezpośredni fizyczny kontakt komórek dawcy i biorcy za pomocą pili ułatwiających zajście procesu. Gdy przez pilę przechodzi DNA między bakteriami tego samego gatunku, określa się to jako transfer pionowy, gdy między różnymi gatunkami – jest to transfer poziomy. Proces koniugacji rozpoczyna się od kontaktu czubka piliusa z odpowiednim receptorem na powierzchni komórki innej bakterii. Następnie zostaje on unieruchomiony i ulega retrakcji, a później degradacji, doprowadzając do bezpośredniego kontaktu osłon komórkowych. Umożliwia to lokalne ściśle zespolenie błon. Pary komórek, które połączyły się w ten sposób, są wystarczająco stabilne i gotowe do przekazania DNA (ryc. 1). W czasie przekazywania materiału genetycznego następuje już synteza nowych genów z materiałem genetycznym naturalnie występującym u danej bakterii. Koniugacja najbardziej przypomina proces płciowy występujący u *Eukaryota*. Została opisana



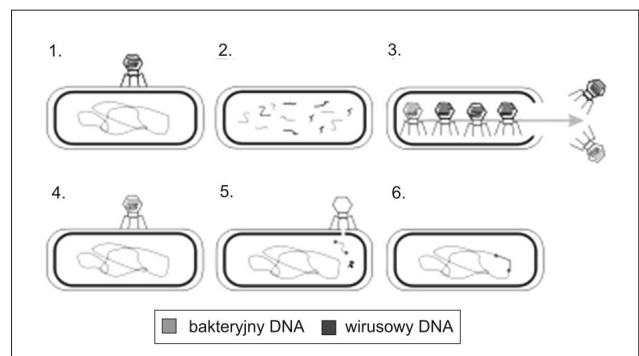
Ryc. 1. Mechanizm zachodzenia koniugacji u bakterii: a) przeniesienie plazmidów między różnymi komórkami danej populacji poprzez mostek koniugacyjny za pomocą pili, przez który przechodzą specjalne nośniki DNA, tj. plazmidy (koniugacyjne – które tworzą połączenia w postaci mostków koniugacyjnych; mobilizowane – mające zdolności do samoistnego przenoszenia informacji, nie tworzą mostków koniugacyjnych) oraz transpozony koniugacyjne poprzez jednoniciowe nacięcie w odpowiednim miejscu plazmidu przez określone białko. Po przekazaniu plazmidu jego liniowa forma ulega cyrkularyzacji; b) synteza nici komplementarnych w komórce dawcy przebiega w sposób ciągły, a w komórce biorcy poprzez fragmenty Okazaki udziałem polimeraz bakteryjnych.

po raz pierwszy w 1964 roku przez amerykańskiego genetyka Joshuę Lederberga (1) u wielu gatunków bakterii, w tym u sinic. Prawdopodobnie dzięki koniugacji powstały w krótkim czasie lekooporne bakterie, takie jak *Shigella* oporna na różne antybiotyki lub gronkowiec złocisty (*Staphylococcus aureus*) oporny na penicylinę.

Transdukcja – jest jednym z najwydajniejszych procesów przekazywania genów przez bakteriofagi (wirusy bakteryjne) jako do komórki bakterii z zastosowaniem różnych metod i technik stosowanych w biologii molekularnej w oparciu o wektory będące pochodnymi faga lambda, retrowirusów, lentiwirusów oraz adenowirusów. W chwili obecnej znalazła szerokie zastosowanie w terapiach przeciwnowotworowych oraz w terapii genowej, w której to indukują się komórki produkcji określonych białek występujące w niedomiarze lub jest ich brak w organizmie podczas procesów metabolicznych, np. hemofilii. W terapii genowej z udziałem transdukcji stosuje się metodę *ex vivo*. Metoda *ex vivo* polega na wyizolowaniu komórek z organizmu pacjenta, wprowadzeniu do nich terapeutycznego DNA lub RNA i ponownym podaniu ich pacjentowi. Dobrym przykładem jest leczenie dzieci cierpiących na X- i ADA-SCID (ciężki złożony niedobór immunologiczny spowodowany mutacją genu deaminazy adenylozynowej – ADA). Jest to choroba genetyczna dziedziczona autosomalnie (recesywnie). Ogólny schemat procesu przedstawia rycina 2. Do receptorów obecnych na powierzchni komórki bakteryjnej przyczepia się fag, który może doprowadzić do infekcji litycznej bądź lizogenii. Zjawisko zostało odkryte już w roku 1952 przez Lederberga i Zindera w procesie infekcji komórek bakteryjnych bakteriofagami (2).

W I etapie bakteriofag zakaża komórkę bakteryjną własnym swoistym DNA, łącząc się z białkami receptorowymi na błonie bakterii. Następnie w II etapie bakteryjne i bakteriofagowe kwasy nukleinowe zostają pocięte przez enzymy wirusowe na mniejsze fragmenty, tzw. infekcja lityczna, po czym następuje replikacja DNA fagowego (która doprowadza do śmierci komórki). Kolejno w III etapie następuje szybkie pakowanie DNA fagowego do kapsydu (główki faga) i powstają kompletne wiriony, które opuszczają komórkę bakteryjną; kapsydy, w których nastąpiło błędne upakowanie DNA bakteryjnym zaznaczono kolorem szarym. W następnym etapie (IV) bakteriofag niosący bakteryjny DNA zakaża kolejną bakterię z uśmierconej komórki (etap V). Bakteryjne DNA komórki dawcy zostaje wstrzyknięte do komórki biorcy (etap VI). DNA z komórki dawcy zastąpiło fragment DNA biorcy.

Transformacja – jest to proces polegający na wprowadzeniu do komórki obcego materiału genetycznego (DNA), zwłaszcza niewielkiej jego porcji, obejmującej

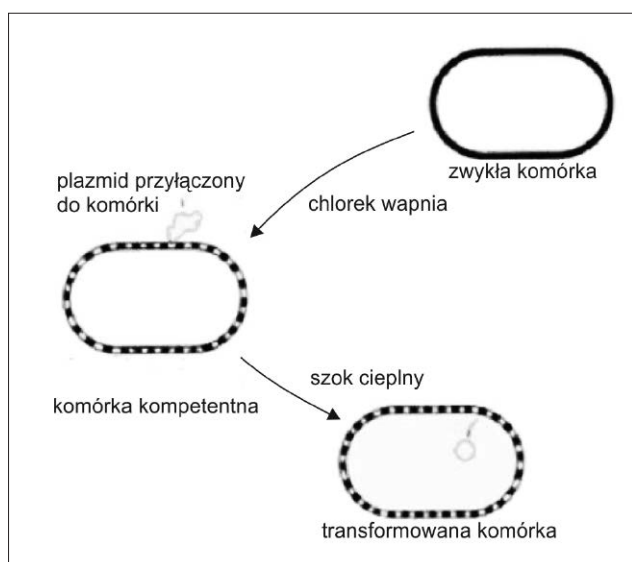


Ryc. 2. Przebieg transdukcji bakteriofagiem na przykładzie cyklu litycznego.

jeden do kilku genów. Zmodyfikowana w ten sposób komórka oraz – w przypadku organizmów wielokomórkowych – zregenerowany z niej organizm noszą nazwę transformanta. W zależności od rodzaju zastosowanego wektora lub jego braku transformacje dzieli się zwykle na bezwektorową (transformacja bezpośrednia) i wektorową (transformacja pośrednia). Transformacja bezpośrednia (bezwektorowa) komórek eukariotycznych bywa czasem nazywana transfekcją. Metoda ta wykorzystywana jest w laboratoriach, służy m.in. do klonowania genów. Polega ona na wystawianiu błony komórkowej bakterii na szok osmotyczny, cieplny lub na działanie pola elektrycznego o dużym napięciu, co zmusza komórkę do pobrania DNA z otoczenia. Ten rodzaj transformacji, odmiennie od naturalnej, wprowadza do komórki nienaruszony, dwuniciowy DNA w postaci plazmidu lub liniowego odcinka (ryc. 3).

W metodach wektorowych wykorzystuje się określony organizm pośredniczący, przenoszący transgen do komórki-biorcy (wektor do transformacji). W metodach bezpośredniej transformacji stosuje się różne sposoby ułatwienia transgenom pokonywania bariery błonowej komórki-biorcy:

- za pomocą środków chemicznych zwiększających przepuszczalność błony, stosowane w roztworze wraz z DNA (glikol polietylenowy do roślinnych izolowanych protoplastów, chlorek rubidu, chlorek wapnia do chemicznej transformacji bakterii). Przykładem jest przeniesienie DNA z komórek bakterii rodzaju *Agrobacterium* do komórki roślinnej. Nieliczne doniesienia dowodzą także transfer genów między bakterią *Escherichia coli* a komórką drożdży *Saccharomyces cerevisiae* (3),
- wstrzeliwanie cząsteczek DNA przy pomocy armatki genowej (metoda biolistyczna – do transformowania komórek zwierząt, grzybów i roślin, zarówno dwu-, jak i jednoliściennych; najczęściej wykorzystywana metoda bezpośredniej transformacji roślin),



Ryc. 3. Ogólny schemat transformacji bezwektorowej (transfekcji).

- elektrotransformacja – w odróżnieniu od elektroporacji stosowanie nie krótkotrwałego impulsu wysokiego napięcia, ale prądu stałego o niewielkim napięciu (np. 50-100 V), działającego przez kilkanaście minut (w tej metodzie DNA wprowadzane jest więc do komórek na zasadzie elektroforezy; stosowana sporadycznie do transformowania roślin),
- wstrzykiwanie DNA do komórki biorcy albo nawet bezpośrednio do jej jądra (mikroiniekcja – głównie do transformowania zwierząt).

HORYZONTALNY TRANSFER GENÓW A ORGANIZMY MODYFIKOWANE GENETYCZNIE

Gen wprowadzony na zasadzie transformacji do komórki-biorcy zwany jest ogólnie transgenem. Transformant i jego potomstwo dziedziczące transgeny nazywa się organizmami transgenicznymi lub organizmami genetycznie zmodyfikowanymi, czyli GMO. Otrzymywanie transformantów, czyli transformacja genetyczna naturalna jest istotą inżynierii genetycznej. Gdy przenoszony jest cały genom do innej komórki albo jego większe fragmenty, np. kilka chromosomów, to wtedy takie modyfikacje o większym zakresie są już domeną inżynierii komórkowej, biologii molekularnej, hodowli rekombinacyjnej i inżynierii chromosomowej. Regułą jest, że nawet jeśli zabiegowi transformacji poddaje się cały organizm, organ czy inną dużą grupę komórek, transgen dociera tylko do niektórych z nich (nie dotyczy to jedynie mikroiniekcji). Dlatego po przeniesieniu transgeny, zwykle połączonego z różnymi sekwencjami pomocniczymi i tworzącego z nimi tzw. konstrukt, trzeba hodować modyfikowany obiekt w obecności czynników selekcyjnych, tak by wyszukać nieliczne zwykle transformanty. DNA przekazywany drogą transformacji naturalnej wiąże się z powierzchnią komórki bakteryjnej, gdzie jest trawiony przez enzymy i powstaje frakcja jednoniciowa DNA. Następnie DNA jest przenoszony na drodze aktywnego transportu do cytoplazmy komórki za pomocą przenośnika białkowego. Wchodzący do cytoplazmy DNA może zostać włączony do chromosomu biorcy na drodze rekombinacji homologicznej, jeśli tylko zawiera sekwencje identyczne z chromosomem biorcy. Komórki *S. pneumoniae* prawdopodobnie wykorzystują ten typ rekombinacji do wymiany między sobą białek odpornych na penicylinę. Transformacja naturalna jest rzadko spotykana u bakterii żyjących w ciele człowieka i zwierząt, zachodzi jedynie u bakterii patogennych dla człowieka jak np. u *S. pneumoniae* lub bakterii powodujących rzeżączkę. Większą zdolność do transformacji naturalnej wykazują mikroorganizmy wodne i glebowe. Bakterie glebowe mogą swobodnie transformować, gdyż ich DNA jest związany z cząsteczkami gleby i tym samym jest chroniony przed działaniem enzymów degradujących DNA (nukleazy), natomiast w ciele ludzkim są obecne nukleazy, które mogą niszczyć DNA przez rozcinanie wiązań wodorowych w obrębie podwójnej helisy.

HORYZONTALNY TRANSFER GENÓW Z KOMÓREK BAKTERYJNYCH DO ROŚLINNYCH

Przykładem jest Gram-ujemna glebowa bakteria *Agrobacterium tumefaciens*, która powoduje powstawanie tumorowatych narośli na roślinach dwuliściennych

dzięki zdolności do przenoszenia DNA do komórek roślinnych (4). Bakteria ta jest używana jako wektor w biotechnologii do otrzymywania roślin transgenicznych na zasadzie przekazywania DNA przez komórkę bakteryjną do komórki roślinnej. Proces ten nadzorują białka komórek roślinnych oraz białka pochodzące od bakterii. Przez długi czas sądzono, że transformować za pomocą *Agrobacterium* można tylko komórki roślin dwuliściennych. Po pewnym czasie okazało się, że także i rośliny jednoliściennych. W ten sposób otrzymano transgeniczny ryż, kukurydzę, pszenicę i wiele innych jednoliściennych, a sposób integracji T-DNA jest u jednoliściennych łudząco podobny do tego z dwuliściennych, co wskazywałoby na udział tej samej grupy enzymów w tym procesie. Innym przykładem transferu horyzontalnego jest leghemoglobina – białko bardzo podobne do hemoglobiny (barwnika krwi charakterystycznego dla kręgowców), występująca tylko w rodzinie motylkowatych. Prawdopodobnie gen leghemoglobinowy został pobrany i przeniesiony na rośliny motylkowate przez bakterie.

HORYZONTALNY TRANSFER GENÓW Z KOMÓREK BAKTERII DO DROŻDZY

Transfer informacji genetycznej między komórkami bakterii *E. coli* a modelowymi do badań komórkami drożdży *S. cerevisiae* został opisany przez badaczy (5). Mechanizm tego procesu przypomina bardzo bakteryjną koniugację.

HORYZONTALNY TRANSFER GENÓW Z KOMÓREK BAKTERII DO OWADÓW

Zespół badaczy z Uniwersytetu w Rochester oraz Instytutu w Rockville pod kierownictwem prof. Jacka Warrena odkryli kompletny genom pasożytniczej bakterii *Wolbachia* na drugim chromosomie DNA muszki owocowej (*Drosophila melanogaster*). Geny pochodzące od bakterii podlegały identycznemu dziedziczeniu jak geny owadzie. Prawdopodobnie do wchłonięcia całego genomu bakterii doszło podczas procesu naprawy DNA w procesach BER (ang. *Base Excision Repair*) i NER (ang. *Nucleotide Excision Repair*) przez komórki owadów (5).

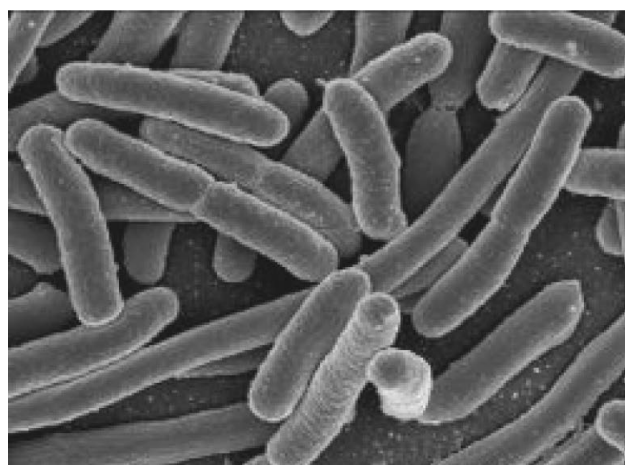
HORYZONTALNY TRANSFER GENÓW Z KOMÓREK BAKTERII DO KOMÓREK LUDZKICH

Dobrze udokumentowany jest transfer T-DNA *A. tumefaciens* do komórek ludzkich, który wskazuje, że zasięg gospodarzy tej bakterii jest praktycznie nieograniczony. Pierwsze objawy oddziaływania komórek *Agrobacterium* na człowieka pojawiły się w środowisku szpitalnym, były one wtedy postrzegane jako bakterie nieszkodliwe dla człowieka. Jednak w 2002 roku doszło do bakteremii, czyli obecności komórek bakteryjnych we krwi, spowodowanej przez *Agrobacterium radiobacter*. Wszystkie te zakażenia były związane z zakładaniem cewników, wenflonów, wszczepianiem zastawek, przeszczepem szpiku kostnego. Zakażeń doznawały więc osoby o obniżonej odporności, a do zakażenia dochodziło bakterią całkowicie niepatogenną dla roślin, mianowicie *Agrobacterium radiobacter*. Brak patogenności, a tym samym nieprzystatność do transformacji jest spowodowana brakiem

plazmidu pTi. Badania *in vitro* nad przenoszeniem T-DNA do jąder ludzkich komórek HeLa pokazały, że istotną rolę odgrywają tu kompleksy NLS i importyny. Zależą one także od bakteryjnych białek wirulencji oraz białek umożliwiających adhezję bakterii do komórek gospodarza. Dane literaturowe wskazują, iż bakterie patogenne wykorzystują podobne mechanizmy w przyłączaniu się do powierzchni komórek roślinnych i zwierzęcych. Na przykład roślinne białko budową i funkcją podobne do witronektyny prawdopodobnie działa jako receptor dla *Agrobacterium*, a zwierzęce witronektyny pełnią istotną rolę w kolonizacji gospodarzy przez szereg patogennych gatunków bakterii, takich jak streptokoki z rodzaju *Staphylococcus aureus*. Ponadto analiza genetyczna linii ludzkich komórek transgenicznych uzyskanych poprzez transformację genetyczną z użyciem *Agrobacterium* potwierdza, iż wzór integracji T-DNA do genomu ludzkiego jest zbliżony do wzoru z komórek roślinnych. Odkrycie to ma istotne znaczenie, gdyż może przyczynić się do pokonania bariery transportu DNA przez błonę jądrową szczególnie w komórkach dzielących się, a tym samym spowodować rozwój terapii genowej z zastosowaniem *Agrobacterium* jako wektora (5, 6).

ZNACZENIE MEDYCZNE HORYZONTALNEGO TRANSFERU GENÓW NA ZDROWIE CZŁOWIEKA

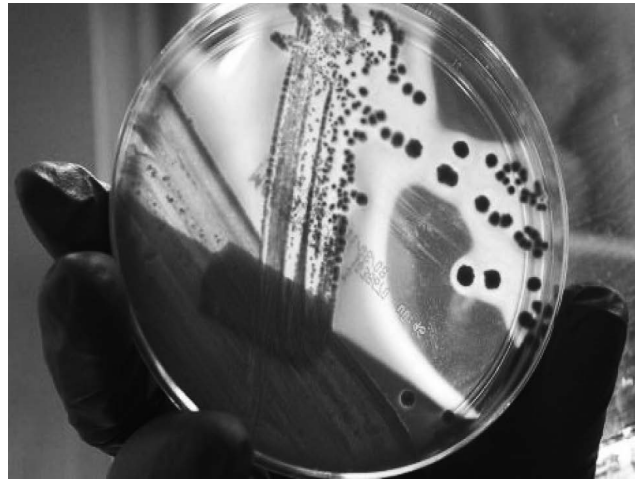
Horyzontalny transfer genów ma nieobojętny wpływ na zdrowie ludzi. Wykazano, że zjawisko to ma wpływ na oporność bakterii na antybiotyki, ewolucje bakterii chorobotwórczych. Za przykład można podać powstawanie bakterii określonej mianem „*Escherichia coli* zabójca”, szczególnie typ *E. coli* O157:H7 (EHEC), która może doprowadzić do zespołu hemolityczno-mocznikowego. Patologiczna odmiana bakterii okrężnicy jelita grubego powstała na drodze horyzontalnego transferu genów, które to zostały pobrane przez faga z bakterii *Shigella* i umieszczone w genomie bakterii *E. coli*. Bakteria pałeczki okrężnicy *Escherichia coli* ma kształt pałeczki, stąd ta nazwa (ryc. 4). Jej naturalne siedlisko bytowania w organizmie to jelito człowieka i zwierząt. Stanowi ona aż 1% z ogólnej liczby innych mikroorganizmów flory układu pokarmowego człowieka. Źródłem zakażenia



Ryc. 4. Pałeczka okrężnicy – widok z mikroskopu.

jest człowiek i zwierzęta będące nosicielami szczepów chorobotwórczych dla ludzi. *E. coli* możemy także „zakażać się” w pierwszych godzinach życia, gdy przechodzimy przez kanał rodny matki (7).

E. coli spotyka się również w glebie i wodzie, gdzie trafiają z wydzielinami i kałem. Bakterie *E. coli* w kale o temp. 0°C może zachować żywotność ponad rok. Do zakażenia *Escherichia coli* dochodzi zwykle w gorących, egzotycznych krajach, takich jak kraje afrykańskie, azjatyckie. *Escherichia coli* można zarazić się także, jedząc np. surowe warzywa i owoce lub pijąc nieprzegotowaną wodę lub surowe mleko, jedząc sery z niepasteryzowanego mleka, mając bliski kontakt z osobą zakażoną (np. w domu), w wyniku zaniedbań higienicznych, a także poprzez kontakt z zakażonymi zwierzętami. Wywołane tą bakterią objawy występują już po 12-72 godzinach od zakażenia i trwają około tygodnia. Są nimi: biegunka, nazywana tropikalną (krwawy stolec) lub brzuchem Delphi (ostre bóle brzucha), albo ostre wymioty. Wytrzymałość *E. coli* na czynniki środowiskowe jest stosunkowo mała. Ginie ona po 20 minutach ogrzewania w temperaturze 60°C, wrażliwa jest na wszystkie znane środki dezynfekcyjne. Jednakże w środowisku o temperaturze niższej i przy odpowiedniej wilgotności utrzymuje się miesiącami. Bakterie *E. coli* mogą wraz z kurzem przenikać do znajdujących się w salach szpitalnych roztworów, instrumentów chirurgicznych i innych narzędzi. Najczęstsze zakażenia endogenne to, oprócz wcześniej już wymienionych, zakażenia szpitalne. Chorobotwórczość *E. coli* zależy od jej inwazyjności, zdolności do przylegania i adhezji (poprzez fimbrie) oraz możliwości wytwarzania dużej ilości toksyn (typu *Shiga*, endotoksyn LPS oraz α -hemolizyny) przez niektóre szczepy, co może prowadzić do enterotoksemii. Szczepy niehemolityczne bakterii są mniej chorobotwórcze niż szczepy hemolityczne. Bakterie *E. coli*, które są nieszkodliwe w jelicie, mogą powodować schorzenia innych układów, w tym moczowego, gdzie są bardzo częstą przyczyną zakażeń dróg moczowych (60-80%) zarówno u kobiet (zapalenie i cysty jajników), jak i u mężczyzn (zapalenie prostaty). Dodatkowym czynnikiem pooperacyjnym zakażającym jest zakładanie cewników pacjentom. U noworodków oprócz bakterii z rodzaju *Streptococcus agalactiae* są przyczyną zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych oraz układu oddechowego (szpitalne zapalenie płuc). Wynika to z mniejszej odporności młodych organizmów. Wybrane szczepy *E. coli*, np. enterokrwotoczny szczep *E. coli* (EHEC – ang. *Enterohemorrhagic Escherichia coli*, VTEC O157:H7) produkują egzotoksynę i werotoksynę, która prowadzi do bardzo ciężkich zatruc pokarmowych, indukując tzw. zespół hemolityczno-mocznicowy spowodowany spożyciem zepsutego jedzenia (np. wołowiny nieobrobionej termicznie). Podobne działanie wykazuje enterohemolityczny szczep bakterii *E. coli* O104:H4, który dodatkowo prowadzi do rozpadu erytrocytów (tzw. hemoliza), czego objawem jest niewydolność nerek. Niezależne badania sekwencjonowania i analizy funkcjonalnej genomu *E. coli* O104:H4 przez badaczy z Beijing Genomics Institute (BGI) przy współ-



Ryc. 5. Bakteria *E. coli* typ EHEC na płytce Petriego.

pracy z University Medical Center Hamburg-Eppendorf oraz grupy Alexandra Mellmanna z University Hospital of Munster wykazały, że szczep ten nabył pewne zdolności enteroagregacyjnego szczepu *E. coli* (EAaggEC) poprzez horyzontalny poziomy transfer genów ze szczepu wykrytego w 2001 roku w niemieckim mieście Münster (ryc. 5).

Szczep *E. coli* z roku 2011 odznacza się jednak znacznie większą toksycznością. Bakteria jest odporna na antybiotyki z ośmiu różnych grup lekowych. *E. coli* może indukować powstawanie ropni narządowych, które trwale mogą uszkadzać ściany przewodu pokarmowego i przedostawać się do jamy brzusznej, powodując tzw. nadżerki, co prowadzi do zapalenia otrzewnej (*peritonitis*) lub pęcherzyka żółciowego. W końcowym efekcie może to prowadzić do wstrząsu endotoksycznego zwanego potocznie sepsą. Szczepy patogenne mogą kolonizować także skórę i błony śluzowe jamy ustnej (8-20). □

Piśmiennictwo

1. Warwick K: The Joshua Lederberg Papers: Profiles in Science, National Library of Medicine. Biography 2001; 24(4): 978-982.
2. Clewell DB (ed.): Bacterial Conjugation. Plenum Press, New York 1993.
3. Lorentz MG, Wackernagel W: Bacterial gene transfer by natural genetic transformation in the environment. Microbial Reviews 1994; 58: 563-602.
4. Gelvin SB: *Agrobacterium* and plant genes involved in T-DNA transfer and integration. Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 2000; 51: 223-256.
5. Heinemann JA, Sprague GF: Bacterial conjugative plasmids mobilize DNA transfer between bacteria and yeast. Nature 1989; 340: 205-209.
6. Bergh O, Børsheim KY, Bratbak G, Heldal M: High abundance of viruses found in aquatic environments. Nature 1989; 340: 467-468.
7. Mary ET, Richard EI: Microbial food safety in animal agriculture: current topic. Iowa State Press 2003: 155.
8. Syvanen M, Kado C (eds.): Horizontal Gene Transfer. Academic Press, 2nd edition, New York-London 2002: 445.
9. Syvanen, M: Temporal patterns of eukaryotic evolution suggest extensive polyphyly. [In:] Syvanen M, Kado C (eds.): Horizontal Gene Transfer. Academic Press, 2nd edition, New York-London 2002: 383-395.
10. Institute of Medicine (U.S.): Committee on the Review of the USDA *E. coli* O157:H7 Farm-to-Table Process Risk Assessment: *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef: review of a draft risk assessment. D.C.: National Academies Press, Washington 2002.
11. Friedmann T, Roblin R: Gene

- Therapy for Human Genetic Disease? *Science* 1972; 175(4025): 949-955. **12.** Sheridan C: Gene therapy finds its niche. *Nature Biotechnology* 2011; 29(2): 121-128. **13.** Cideciyan AV, Hauswirth WW, Aleman TS et al.: Vision 1 Year after Gene Therapy for Leber's Congenital Amaurosis. *New England Journal of Medicine* 2009; 361(7): 725. **14.** Fischer A, Hacein-Bey-Abina S, Cavazzana-Calvo M: 20 years of gene therapy for SCID. *Nature Immunology* 2010; 11(6): 457-460. **15.** Ferrua F, Brigida I, Aiuti A: Update on gene therapy for adenosine deaminase-deficient severe combined immunodeficiency. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology* 2010; 10(6): 551-556. **16.** Cartier N, Aubourg P: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Hematopoietic Stem Cell Gene Therapy in X-Linked Adrenoleukodystrophy. *Brain Pathology* 2009; 20(4): 857-862. **17.** Yang ZJ, Zhang YR, Chen B et al.: Phase I clinical trial on intracoronary administration of Ad-hHGF treating severe coronary artery disease. *Molecular Biology Reports* 2008; 36(6): 1323-1329. **18.** Callejas D, Mann CJ, Ayuso E et al.: Treatment of Diabetes and Long-term Survival Following Insulin and Glucokinase Gene Therapy. *Diabetes* 2013 May; 62(5): 1718-1729. **19.** Woods NB, Bottero V, Schmidt M et al.: Gene therapy: Therapeutic gene causing lymphoma. *Nature* 2006; 440(7088): 11. **20.** Thrasher AJ, Gaspar HB, Baum C et al.: Gene therapy: X-SCID transgene leukaemogenicity. *Nature* 2006; 443(7109): E5-E6; discussion E6-7. **21.** Frank KM, Hogarth DK, Miller JL et al.: Investigation of the Cause of Death in a Gene-Therapy Trial. *New England Journal of Medicine* 2009; 361(2): 161-169. **22.** Cepko CL: Emerging Gene Therapies for Retinal Degenerations. *Journal of Neuroscience* 2012; 32(19): 6415-6420. **23.** Syvanen M, Zhou Z, Wharton J et al.: Heterogeneity of the glutathione transferase genes encoding enzymes responsible for insecticide degradation in the housefly. *J Molec Evol* 1996; 43: 236-240.

nadesłano: 28.02.2013
zaakceptowano do druku: 25.04.2013

Adres do korespondencji:
*Paweł Kowalczyk
Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów
Wydział Rolnictwa i Biologii
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Nowoursynowska 159, 02-787 Warszawa
tel.: +48 728-862-717
e-mail: pawel_kowalczyk@sggw.pl