

Prof. dr VLADIMIR GLIŠIN
doc. dr RADOMIR CRKVENJAKOV

Genetičko inženjerstvo i biotehnologije u Jugoslaviji

Septembra 1983. godine u Bostonu u SAD održana je najznačajnija naučna konferencija, odnosno jubilej iz oblasti biologije. Konferencija je bila posvećena tridesetogodišnjici otkrivanja strukture DNK (deoksiribonukleinske kiseline). Glavni protagonisti otkrića su bili Džejms Votson (*James Watson*) i Frensis Krik (*Francis Crick*). To otkriće, kao i dvojica naučnika, dalo je pečat modernoj biološkoj misli, tehnici, koja se zove rekombinantna DNK, odnosno novoj biotehnologiji neslučenih mogućnosti, a samim tim i novoj čovekovo; civilizaciji.

U svom uvodnom izlaganju Džejms Votson je izrekao zanimljivu misao: »Ako ste danas mladi, onda nemate drugi izbor nego da postanete molekularni biolog«. To će tako potrajati najmanje sledećih dvadeset godina, predviđao je Votson, za koje vreme će molekularna biologija rešiti osnovna pitanja embriologije i diferencijacije ćelije. To je preduslov za »totalno« razumevanje funkcionisanja žive ćelije, tj. celokupnog organizma. Da li su takva predviđanja sa tim postavljenim rokovima realno ostvarljiva — teško je proceniti. Verovatno su suviše optimistička. Međutim, ono što je tačno i ono što se bez preterivanja može tvrditi jeste to da će, osim mikroelektronike, genetičko inženjerstvo i biotehnologija zasnovana na njemu bar do polovine sledećeg veka predstavljati okosnicu svih čovekovih delatnosti, a samim tim ući u sve pore našeg života. Ako je to tako, onda je potrebno detaljnije razmotriti koje će sve oblasti naučnog i tehnološkog razvoja zavisiti od napretka genetičkog inženjerstva i biotehnologije.

Na osnovu toga ćemo onda pokušati da sagledamo koje su moguće reperkusije takvog razvoja kod nas i šta sve treba da preduzimamo u društvu i u Armiji da bi smo se ravnopravnije uključili u tu novu civilizaciju. Bilo kakvo zaostajanje u tome može u skoroj budućnosti da nas dovede u veću tehnološku podređenost od inostranstva, što ne bi odgovaralo našoj vojnoj i političkoj nezavisnosti.

Šta je genetičko inženjerstvo?

Genetičko inženjerstvo predstavlja novu tehnologiju (počela je intenzivno da se razvija poslednjih pet godina) koja omogućava uvođenje gena jedne biološke vrste (ili veštačkih gena) u ćeliju drugog domaćina koji može biti mikroorganizam ili ćelija biljke ili životinje. Geni jedne biološke vrste se mogu uvesti u ćelije novog domaćina tako da ponovo funkcionišu, a rezultat njihove aktivnosti može biti sinteza velikih količina specifičnih proteina (recimo: hormoni, enzimi, antigeni za vakcine i sl.), ili oni mogu da dodaju domaćinu neke nove biohemijske osobine koje on prethodno nije imao, ali mu sada daju određene biološke prednosti koje mogu imati i vrlo veliki ekonomski značaj.¹ Očigledno da genetičko inženjerstvo predstavlja nescrpan potencijal primenljiv u različitim privrednim granama. Ono je, istovremeno, i takva tehnologija koja je visoko složena i neposredno se oslanja na vrhunska dostignuća fundamentalnih istraživanja u oblasti molekularne biologije i genetike, a i moderne biotehnologije.

Bitna razlika genetičkog inženjerstva primenjenog u biotehnologiji u odnosu na druge tehnologije ovog veka: kosmičke, nuklearne, tehnologije novih materijala, mikroelektronike i sl. jeste da ne zahteva velika materijalna sredstva, te je njen razvoj, sa tog aspekta, dostupan skoro svim zemljama, izuzev najsiromašnijih. Ta tehnologija se zasniva na prirodnim, samoobnovljivim sirovinama, ne zahteva životnu sredinu, poboljšava kvalitet življenja i zahteva mnogo manje energije od drugih vrsta tehnologija. Ona značajno doprinosi proizvodnji i preradi hrane i poboljšava zdravlje stanovništva preko svoje primene u poljoprivredi, prehrambenoj industriji, medicini, veterini, rudarstvu, energetici, hemijskoj industriji itd.

¹ Na primer, otpornost biljaka na herbicide, ili sposobnost da se razmnožava u vrlo kiselim sredinama, što je potrebno pri dobijanju metala mikrobiološkim izluživanjima ili prilikom dodatnog »ispumpavanja« nafte mikrobiološkim putem.

Dosadašnja iskustva rekombinantne DNK u fundamentalnoj nauci i biotehnologiji

Tehnika koja čini osnovu ovog napretka je tehnika tzv. rekombinantne DNK (deoksiribonukleinske kiseline). Po svom konceptu ona je jednostavna, ali u praksi izuzetno složena. Metodologija tehnike rekombinantne DNK sastoji se od ubacivanja stranog gena koji je odgovoran za određeni željeni proizvod u drugi organizam pod uslovima pod kojima će novoubačeni gen biti mnogo produktivniji nego geni domaćina.

Jedan od najkorisnijih organizama za ovu svrhu do sada se pokazao mutant bakterije *Escherishia coli* koja nije bila u stanju da sintetizuje triptofan. Nezavisno od hromozomskih DNK, u bakteriji postoje mali kružni molekuli DNK (plazmidi), koji sadrže gen za sintezu triptofana. Spolja uneti gen može da se ubaci i neposredno iza gena triptofana tako da se onda oba ta gena eksprimiraju istovremeno. Ako se u kulturi mutančnih bakterija *E.coli* ove ćelije pomešaju sa ovako *in vitro* rekombinovanim plazmidima, onda će neki od plazmida ući u ćeliju, a ako se istovremeno u medijum doda triptofan onda će u tako rekombinovanim ćelijama da rastu samo one ćelije u koje je ušao plazmid sa triptofanskim genom. Dakle, samo na taj način će te ćelije moći da prežive i da se dalje razmnožavaju. Mehanizmi biohemijske regulacije u *E.coli* su takvi da se plazmid može u svakoj ćeliji da replikuje i od 20 do 40 puta. S obzirom na to da je potreba za triptofanom vrlo velika, onda se i gen za triptofan kao i susjedni, spolja uneti gen, preferencijalno eksprimiraju.

Triptofanski mutant bakterije *E.coli* nije uvek najbolji izbor za proizvodnju zasnovanu na tehnici rekombinantne DNK. Drugi mutanti te bakterije mogu biti i pogodniji, pa čak i plazmidi drugih prokariota mogu biti prikladniji. Međutim, bakterija *E.coli* će se još dugo koristiti za sintezu mnogih proteina. O tom mikroorganizmu se zna veoma mnogo i trenutno svi proteinski proizvodi koji se nalaze na kliničkom ispitivanju proizvedeni su u bakteriji *E.coli*. Treba napomenuti da prokariotske ćelije, tu uključujemo i *E.coli*, nisu u stanju da sintetizuju glikoproteine, tj. da za protein vežu i karbohidrati fragment. Međutim, kao što je to bio slučaj sa vakcinom za besnilo, gde je klasičan antigen jedan glikoprotein, tako je i tu bilo dovoljno sintetisati samo proteinski deo koji je indukovao ista antitela kao i nativni glikoprotein.

Naravno, u nekim slučajevima treba očekivati da će u primeni moći da se koriste samo glikoproteini, a ne samo čist protein. U tom

slučaju bakterija *E.coli* neće moći da se koristi kao domaćin. Osim ovih nedostataka, pri korišćenju *E.coli* javlja se i problem spontane reverzije mutanata u divlji tip, a gustina ćelija do koje bakterije mogu da rastu je ograničena. Osim toga, bakterije *E.coli* uglavnom ne izlučuju svoj proizvod u medijum, a istovremeno sintetišu i jedan endotoksin. Suprotno bakteriji *E.coli*, kvasac koji takođe ima svoje plazmide, može da se kultiviše do vrlo velikih gustina, vrlo je stabilan na povratne mutacije, ne proizvodi toksine i proteine izlučuje u medijum. Pored toga, kvasac je i eukariot, tako da može da sintetiše glikoproteine. Zbog svih tih prednosti mnogi proizvođači užurbano rade na korišćenju kvasca kao domaćina za sintezu proteina dobijenih putem tehnike rekombinantne DNK. Najsvježiji primer korišćenja kvasca *Saccharomyces cerevisiae*, kao domaćina za sintezu glikoproteina sa svim prednostima koje taj organizam pruža, jeste humani interferon — IFN- β .

Monoklonska antitela. Sada je već moguće konstruisati dugoživeće linije sisarskih ćelija koje proizvode jedinstvena antitela. Takve ćelije su bile korišćene za pripremanje antitela prema mnogim virusima, bakterijama, gljivama i parazitima. Ta tehnika se već primenjuje u proizvodnji dijagnostičkih sredstava. Čelijske linije se pripremaju *in vitro* pomoću fuzije limfocita imunizovanih životinja i tumorskih ćelija, obično mijeloma. Hibridne ćelije tada stiču sposobnost da proizvode specifična antitela, a i da se neprestano razmnožavaju.

Dijagnoza i lečenje različitih kancera je stalna preokupacija savremene biologije i medicine. Monoklonska antitela su već pripremljena protiv različitih vrsta kancer-ćelija. Nađeno je da su neke kancer-ćelije mnogo antigenije nego odgovarajuće normalne ćelije, što znači da odgovarajuća antitela nalaze više mesta da se vežu za ćelije raka nego za normalne ćelije. Dabome, antitela mogu da se iskoriste i kao vektori za dopremanje toksičnih hemikalija koje će se specifično koristiti protiv kancer-ćelija. Posle takvog unošenja otrovnih hemijskih jedinjenja u organizam, okolno tkivo ili ostali organi ostaju neoštećeni. Čini se da je za dogledno vreme takav pristup lečenju kancera jedino racionalan i da takva istraživanja i kod nas treba da imaju prioritet, posebno što se u naučno manje razvijenim sredinama, pa i kod nas istraživanja ovakvog tipa uopšte ne vrše.

Inženjerstvo proteina. Kao što je rečeno, ako imamo instrukciju koju nam daje neki gen i ako se steknu svi biohemijski i fiziološki uslovi, onda organizam može da sintetiše protein odgovarajućeg gena. Poreklo matrica može da bude iz nekog drugog organizma ili

moгу biti veštački, odnosno hemijski sintetisani. Nalazimo se na početku velikog istraživačkog poduhvata koji će omogućiti da prekradjamo i konstruišemo i proteine po našoj želji. Cilj takvog inženjerstva je da se stvore superiorniji enzimi koji će se koristiti u različitim industrijama, da se stvore hormoni koji će imati mnogo veće specifične biološke aktivnosti nego odgovarajući prirodni proizvodi, itd.

Broj tako sintetisanih proteina je neograničen. Dosadašnja primena takvog koncepta je bila izuzetno korisna i to:

Prvo, nađeno je da i mali peptidski lanac jednog proteinskog antigena može da u nekom organizmu indukuje sintezu antitela. Koristeći poznat redosled aminokiselina proteina, košuljice virusa, sintetizovani su odgovarajući mnogo manji peptidi koji su bili isto tako sposobni da stvaraju antitela kao i do sada korišćene vakcine. Pri tom, na osnovu imunoloških testova utvrđena su neka primitivna pravila. Naime, sintetizovani peptidi, koji su bili izrazito hidrofobni i koji su sadržavali manje od šest aminokiselina, nisu bili efikasni induseri sinteze antitela, a duži, solubilni peptidi, koji su sadržavali i aminokiselinu prolin, bili su efikasni. To pravilo važi za sve do sada ispitane antigene svih virusa.

Drugo, poznato je da se katalitičke funkcije enzima odvijaju zahvaljujući njihovim različitim osobinama. Na primer, enzimi koji vrše funkciju u nekom termofilnom organizmu mogu da izdrže temperaturu i do 100°C, dok kod mezofilnih organizama oni se razore i pri mnogo nižim temperaturama. Među organizmima je velika razlika u odnosu na pH-optimum i mnoge druge fizičko-hemijske uslove pri kojima neki enzim treba da funkcioniše. Evolucija nam je s tim u vezi ostavila vrlo važnu pouku — moguće je oselektovati takvu strukturu i sastav proteina koji je najpogodniji za datu primenu. Korišćenjem sintetskih gena i tehnike rekombinantne DNK u mogućnosti smo da *poboljšamo evolucione procese*. Dakle, proteinsko inženjerstvo će imati značajne reperkusije na industrijsku proizvodnju putem biokatalizatora.

Istraživanja u poljoprivredi. Već pedesetak godina selekcioneri mogu da dobiju različite sorte kulturnih biljaka sa poboljšanim karakteristikama, kao što su veći prinosi, veća otpornost na razne štetočine, nutritivne vrednosti i sl. Ta tehnika će i dalje biti vrlo značajna, ali će biti i potpomognuta tehnikama genetičkog inženjerstva čiji je razvoj upravo u toku.

Kultura tkiva je i do sada dala izuzetne rezultate, pa se određene biljke dobijene kulturom tkiva i komercijalno prodaju. Ako se jednoj biljnoj ćeliji dozvoli da proliferiše, tada ćelije u potomstvu imaju

često sadržaj hromozoma koji se razlikuje od roditeljske ćelije. Poliploidija, aneuploidija i hromozomski rearanžman su uobičajene pratne pojave kod kulture biljnih tkiva. To je istovremeno i vrlo veliki potencijal za dobijanje novih sorti biljaka koje imaju bolje osobine nego roditeljska biljka. Mase ćelija se ponašaju prema herbicidima i otrovima za biljke na isti način kao i cela biljka.

Druga metoda kojom se dobijaju druge vrste biljaka je kada se u jednoj ćeliji spajaju hromozomi poreklom iz dve različite biljke. To je prvi put bilo urađeno još šezdesetih godina sa pšenicom i raži. Prve dobijene biljke su bile inferiornije od roditeljskih, ali su naknadnim ukrštanjem dobijene sorte koje su, na primer, tolerantnije na siromašna zemljišta nego što je to pšenica.

Izmena hromozoma preko fuzije protoplasta sigurno predstavlja najveći potencijal za poboljšanje prinosa u biljnoj proizvodnji. Protoplasti se dobijaju tako što se sa ćelija uklanja ćelijski zid koji je sastavljen poglavito od celuloznog materijala. Kada se dva protoplasta dovedu u dodir, dolazi do njihove fuzije i novi entitet sadrži hromozome iz obe ćelije. Na ovaj način moguće je mešanje hromozoma i seksualno inkompatibilnih vrsta. Kombinacija nesrodnih hromozoma je uvek praćena eliminacijom hromozoma ili iz jednog ili iz oba roditelja. Međutim, nikada se ne događa da svi hromozomi jedne roditeljske ćelije budu tokom kultivisanja eliminisani. Stoga, i tu postoji vrlo značajan potencijal za stvaranje novih vrsta biljaka. Neposrednija promena je u fuzionisanju protoplasta srodnijih vrsta koje su seksualno inkompatibilne. Na taj način može da se dobije širok spektar otpornosti na bolesti ako se genetski materijal primitivne vrste ubaci u komercijalni kultivar.

Naravno, pored ovih tzv. klasičnih genetskih manipulacija, putem genetičkog inženjerstva moći će se bitno menjati i poboljšati osobine genoma. U ovom trenutku je napredak kod biljaka sporiji od onoga koji se odvija kod mikroorganizama i životinja, jer ukupno znanje molekularne biologije biljaka zaostaje. Međutim, kada se uspe, koristi od genetičkog inženjerstva biljnog materijala možda će biti i veće nego kod životinja. Ako navedemo samo primer transplantacije sistema gena za fiksiranje vazdušnog azota iz bakterija u neku kulturnu biljku, a koja će verovatno biti ostvarena za desetak godina, a možda i ranije, onda nije teško sagledati sve koristi od ovakvog poduhvata.

Genetičko inženjerstvo sistema fotosinteze i poboljšanje efikasnosti fotosinteze tim putem trajno bi rešilo problem i energije i ishrane ljudi. Trenutno se mnogo radi na šumskom drveću, pri čemu

bi trebalo da se dobije drveće sa intenzivnijim rastom, samim tim i kraćim vremenom za dobijanje upotrebljive biomase.

Mikrobiološko inženjerstvo. Već nekoliko desetleća industrijski mikroorganizmi proizvode antibiotike. Pronađeni su odlični antibiotici, a njihov prinos je bio povećavan uzastopnim mutacijama i selekcijama iskonskih niskoproizvodnih mikroorganizama. Poslednjih tri-deset godina farmaceutska industrija se uglavnom bila koncentrisala na proizvodnju antibiotika putem fermentacije. Moderne metode koje se zasnivaju na poznavanju metaboličkih puteva i regulatornih mehanizama uključenih u represiju i indukovanje gena odgovornih za sintezu datog antibiotika pružaju i sada šansu za njegovu proizvodnju. Stoga, rekombinantna DNK i fuzija protoplasta će se koristiti za menjanje genetike proizvodnje antibiotika. Dakle, postoje otvorene mnoge opcije za genetičko manipulisanje mikroorganizmima koji proizvode antibiotike.

Drugi sekundarni metaboliti mogu se, takođe, genetski manipulirati za povećanje prinosa ne samo antibiotika, već i drugih supstanci važnih za lečenje protiv parazita, insekata i korova. Zatim, mikroorganizmi mogu da se genetičkim inženjerstvom tako obrade da proizvode korisne polisaharide (dekstran, ksantan i sl.), enzime, arome i bezbroj drugih supstanci.

Prema tome, celu oblast genetičkog inženjerstva i nove biotehnologije možemo sumirati u sledeću konstataciju: *jedini činioci koji ograničavaju pronalaženje novih korisnih supstanci putem genetičkog inženjerstva su naše opredeljenje, maštovitost, umnost, talenat i sloboda stvaralaštva.*

Proizlazi, dakle, da u Jugoslaviji *moramo* razvijati istraživanja u genetičkom inženjerstvu i doslednije primenjivati njegove rezultate, jer je ono jedna od značajnih tehnologija budućnosti kojom, skromnim ulaganjima, možemo izbeći tehničko-tehnološku zavisnost od najrazvijenijih zemalja.

Genetičko inženjerstvo u Jugoslaviji

Ako želimo da razvijamo genetičko inženjerstvo i na njemu zasnovanu biotehnologiju, opravdano je da se postave sledeća pitanja: da li se zahtevi ovih istraživanja uklapaju u postojeću organizovanost naučnoistraživačkog rada u nas; da li je moguće drugačije organizovanje u kadrovskoj i finansijskoj sferi; da li je moguće institucio-

nalno organizovanje ovih istraživanja na način koji bi odgovarao našim uslovima koji bi, bili zasnovani na proverenim svetskim iskustvima?

Pokušaćemo da odgovorimo na ova pitanja na osnovu rezultata višegodišnjeg rada u našem istraživačkom timu. Napominjemo da se ovo razmatranje ne odnosi na organizovanje fundamentalnog istraživanja u molekularnoj biologiji u kojem se koristi tehnika genetičkog inženjerstva, već da je isključivo reč o usmerenim i primenjenim istraživanjima radi dobijanja konkretnog proizvoda.

Najsvrsishodnije je prethodno razmotriti svetska iskustva u organizaciji usmerenih istraživanja uopšte i posebno u genetičkom inženjerstvu, a zatim ta iskustva prilagoditi našim uslovima prihvatajući ono što je pozitivno i dajući naša rešenja za ona pitanja organizacije koja se odnose na naše specifičnosti. Zašto se zalažemo za primenu svetskih iskustava? Osnovni razlog je taj što su ona ispunila zahteve najtežeg kriterijuma, a to je uspeh. Ako je cilj istraživanja tehnologija dobijanja nekog unapred zadatog proizvoda na najefikasniji način, onda tehnologija, koja je ujedno i kompetitivna, koja može da pretenduje da sa svojim proizvodom osvoji svetsko tržište, može to da postigne jedino ako se primene sva vrhunska svetska naučna i tehnološka znanja, dostupna preko naučne i stručne literature, ličnih kontakata i sl.

Iz tog dosledno primenjenog kriterijuma proizlazi da ničija stručnost nije unapred priznata, već se proverava konkretnim rezultatom u funkciji celine projekta. To je bitan preduslov uspešne saradnje stručnjaka različitih profila u složenom naučnoistraživačkom timu. Ne može biti delotvoran onaj način organizacije rada koji dozvoljava da cehovske granice surevnjivosti, i ispoljavanje pojedinačnih interesa u smislu »znam to najbolje, jer je to moja struka«, utiču na efikasnost rada u timu.

Krugovi istraživanja. Pozajmvši termin, istraživački rad u primenjenom genetičkom inženjerstvu bi se mogao predstaviti sistemom koncentričnih krugova. U prvom krugu nalazi se istraživanje metodom rekombinantne DNK — genetičko inženjerstvo u najužem smislu. U drugom krugu nalaze se istraživanja iz neophodnih pratećih disciplina, na primer, mikrobijalna genetika domaćina i genetika davaoca gena, zatim biologija gena u davaocu, dobijanje monoklonalnih imunoloških reagensa, fermentacija (da bi se dobila optimalna količina proizvoda), vrhunska tehnologija za prečišćavanje proizvoda itd. U trećem krugu se nalaze stručnjaci za ekonomiju, pravo, propagandu,

lekari-kliničari za ispitivanje, ako je reč o proizvodu-terapeutskom sredstvu ili pak tehnolozi korisnici proizvoda u industrijskom procesu, itd.

Kakvi su odnosi među krugovima? Čini se da je u tome i najveći problem. Razlog za to je razlika u pogledima na to šta ko treba da obavi u primenjenom genetičkom inženjerstvu. Očito je da postoje tri isključiva mišljenja. Prvo mišljenje se ograničava samo na prvi krug istraživanja. Prema njemu dovoljno je samo stvoriti novi soj sa presađenim genom, soj organizama koji ima određeni ekonomski potencijal, a dalja razrada, tehnološki »scale up«, proizvodnja i eventualno otvaranje tržišta za novi, do sada nedostupan proizvod, stvar je drugih. Prema drugom mišljenju, istraživanja treba da uključe samo dva prva kruga, genetičko inženjerstvo i prateće discipline sa ciljem da se stvori tehnologija na laboratorijskoj skali, a da se investitorima prepusti razvijanje proizvodnje i eksploatacije tehnologije. Treće mišljenje pretpostavlja da je celo istraživanje integralno povezano sa razvojem i proizvodnjom, i da parcijalno, samo za sebe, nema smisla. Prema njemu, istraživanje gubi društveno opravdanje ako ne doprinosi materijalnom razvoju društva. Odgovornost istraživača ne može da se zadrži samo u laboratoriji, već je on dužan da svojim aktivnostima doprinese da naučni rezultat nađe primenu u praksi. Kako, po definiciji, istraživač nudi nešto novo i neprovereno, na njemu je da bude inicijator celokupnog posla. Time se ne misli da je odgovornost stručnjaka iz trećeg kruga manja.

Smatramo da se treba nedvosmisleno opredeliti za integralni pristup, jer on jedini garantuje uspeh bez obzira na društvene uslove. U zapadnim zemljama timovi prvog kruga istraživanja su na univerzitetima, prvog i drugog kruga u većini malih kompanija, a integralni pristup primenjen je u vodećim multinacionalnim kompanijama (Genetech, Cetus, Searle, itd.) i u nacionalnim programima.

U nas je izuzetno težak prenos tehnologije iz laboratorije u proizvodnju. Zbog važećih ekonomskih uslova, favorizovana je preko svake mere kupovina inostrane tehnologije po sistemu »pod ključ«. Neretko se dešava da je prisustvo stranog stručnjaka uslov da tehnologija »ide«, a da je vrhunac naših dostignuća u proizvodnoj tehnologiji, slepo pridržavanje već dobijenog recepta. U takvim uslovima, treba istaći da je pionir svaki onaj ko želi da zaživi proizvodna tehnologija kreirana na bazi domaćih fundamentalnih istraživanja. Zbog toga je negiranje integralnog pristupa, u našim uslovima, jednako mirenju sa neznatnim efektima domaćih istraživanja u oblasti genetičkog inženjerstva, na materijalnu proizvodnju naše privrede. Neminovno, zakonima ekonomske logike, do kraja ovog veka moraće

da se uključuje u privredu nova biotehnologija bazirana na genetičkom inženjerstvu. Postoji opasnost da i tu tehnologiju kupujemo »pod ključ« kao i druge.

U našim uslovima predloženi model bi okupljao istraživače u neposrednoj saradnji prva dva kruga. Tako formiran tim bi bio lociran unutar privredne organizacije ili bar sa njom dugoročno povezan. Takva veza između prva dva kruga i trećeg kruga bila bi garancija da će privredna organizacija zaista uložiti značajan napor u primeni ostvarenih tehnoloških rešenja koja su rezultat istraživačkog tima. To bi verovatno zahtevalo stvaranje radnog tima za realizaciju proizvodnje, tj. poslova trećeg kruga u koji bi ušlo rukovodstvo istraživačkog tima i svi stručnjaci za poslove trećeg kruga. Ima indikacija da u našoj praksi, u velikim privrednim sistemima, tehnologija razvijana u istraživačkom institutu složene radne organizacije nema stvarnu prednost pred licencnom tehnologijom. Uzimajući to u obzir, može se reći da bez šire društvene regulative koja bi dala prednost domaćoj tehnologiji, ni predloženi model ne bi imao zagarantovan uspeh.

Istraživački timovi. U našim uslovima uži istraživački tim bi optimalno trebalo da ima od 10 do 20 istraživača. Rukovodeći istraživač bi morao biti stručnjak — molekularni biolog sa iskustvom u genetičkom inženjerstvu. Taj imperativ proizlazi iz važnosti genetičkog inženjerstva u timu i potrebe za uvažavanjem svetskog iskustva. To iskustvo pokazuje relativnu uspešnost stručnjaka tog profila u rešavanju i širih bioloških, biohemijskih i hemijskih problema koji bi kod nas prema važećem uzusu predstavljali prerogative stručnjaka uske specijalnosti. Zatim, tim bi sačinjavali molekularni biolozi do najmanje polovine ukupnog broja, dok bi stručnjaci drugog kruga sačinjavali drugu polovinu. Teško je dati konačan recept, jer on zavisi od konkretnog projekta, ali se čini da bi u timu morali biti mikrobiolozi, genetičari, fermentacioni tehnolog, organski hemičar za sintezu gena, proteinski hemičar za prečišćavanje proteina, eventualno stručnjak za monoklonalna antitela i drugi.

S obzirom na značaj fundamentalnih znanja u realizaciji svakog pojedinačnog projekta, istraživači bi morali deo svog vremena da posvete fundamentalnim istraživanjima. Istraživanje isključivo aplikativnih problema bi dovelo do iscrpljivanja znanja, brze amortizacije istraživača i nižeg kvaliteta u istraživanju. Za održavanje visokog naučnog nivoa je neophodno pribavljanje svetskih naučnih informacija. S tim u vezi, genetički inženjer mora imati prisup na međunarodne skupove molekularnih biologa, a njegovi rezultati u fundamentalnim istraživanjima mu to omogućuju. Zbog toga kompromis u snižavanju

navedenih kadrovskih kriterijuma, prema proverenim iskustvima, može da dovede u pitanje uspeh tima definisan prema svetskim merilima.

Finansiranje istraživanja. Za uspeh u istraživanju, posle kadrovskih, najznačajniji su materijalno-finansijski uslovi. Tako koncipiran istraživački tim mora imati sigurno finansiranje, bez obzira na instituciju u kojoj se nalazi. U našoj praksi, finansiranje projekata nije nov oblik finansiranja. Međutim, najčešće se sredstva planirana za određeni projekt utapaju u ukupni prihod institucije, čime se u većoj ili manjoj meri sužava pravo tima koji radi na projektu u upravljanju sredstvima. To se naročito odnosi na deo sredstava namenjen za opremu i potrošni materijal. Naše iskustvo pokazuje da je nemoguće očekivati u istraživanju uspeh ako se istraživačkom timu ne obezbedi dovoljno sredstava za materijalnu i ličnu potrošnju i samostalno upravljanje planiranim sredstvima. Organizacije udruženog rada u oblasti genetičkog inženjerstva moraju obezbediti ispunjenje onih zahteva. Koliki obim sredstava je potreban za ova istraživanja? Eksperti Ujedinjenih nacija su izračunali da je godišnje po jednom istraživaču za materijalne troškove potrebno 8 do 10 hiljada dolara, dodajući tome i neophodna početna ulaganja za opremu. Naša procena je da bi istraživačkom timu do 10 istraživača bila potrebna uvozna oprema u vrednosti od oko 400 hiljada dolara. Od ukupnih materijalnih sredstava potrebnih istraživačkom timu najmanje 60 odsto se mora uvoziti. Taj procenat bi se mogao smanjiti u dogledno vreme ukoliko se na domaćem tržištu pojave restrikcioni enzimi, izotopi, plastika i drugi materijali. Lični dohoci istraživača bi trebalo da budu stimulativni s obzirom na prirodu posla i uvažavanje svetskih kriterijuma u njemu.

Po svemu sudeći, nerealno je očekivati da pojedinačne privredne organizacije same finansiraju istraživanja koja se vrše u njihovoj sredini. Međutim, finansiranje tih istraživanja isključivo sredstvima društveno-političkih zajednica i samoupravnih interesnih zajednica znači, istovremeno, gubljenje zainteresovanosti privrede za njihov uspeh. Prema tome, u našim uslovima optimalno rešenje je udruživanje društvenih sredstava i sredstava privrede, pri čemu bi bio zastupljen interes privrede — da se istražuje ono što joj je potrebno, i društva — da će privreda dobijene rezultate istraživanja proveravati u praksi i tako, postepeno, obezbeđivati tehnološki razvoj društva u celini. Potrebno je napomenuti da, uprkos velikim ulaganjima u ova istraživanja, prvih pet godina ne treba očekivati vraćanje uložених sredstava realizovanjem proizvoda na tržištu iako se od nekih projekata može očekivati da se tome približe. Takođe, ne može se

pretpostaviti da će u bliskoj budućnosti genetičko-inženjerski proizvodi dostići vrednost veću od 1 odsto ukupne vrednosti industrijskih i poljoprivrednih proizvoda. Zbog toga se ne može prepustiti isključivo tržištu da determiniše finansiranje genetičkog inženjerstva u prvoj fazi njegovog razvoja. Potrebna je šira društvena podrška da bi se obezbedio tehnološki razvoj društva u dugoročnom periodu.

Strategija istraživanja. Strategija istraživanja u genetičkom inženjerstvu zavisi od različitih uslova. U Jugoslaviji bi bilo najbolje kada bi se istraživanja u genetskom inženjerstvu podelila na kratkoročna i dugoročna: u kratkoročna istraživanja spada dobijanje proizvoda visoke specifične biološke aktivnosti: hormoni, enzimi, vakcine i sl.; ta istraživanja i dobijeni proizvodi služe za dokazivanje uspešnosti genetskog inženjerstva i za zadovoljavanje tržišnih i društvenih potreba: insulin, interferoni, hormon rasta i sl.; dugoročna istraživanja se odnose na ključne nacionalne potrebe koje su globalnog značaja (na primer, dobijanje sorti biljaka koje ne zahtevaju azotna đubriva, dobijanje šećera iz celuloze, vakcine protiv tropskih bolesti i druga visokoimplikatna istraživanja). Znači, predlažemo rad na proizvodima visoke biološke specifične aktivnosti i rad na dobijanju novih sorti biljaka. Ovo drugo opredeljenje proističe iz uverenja da je biljna proizvodnja najjači stub i komparativna prednost privrede Jugoslavije. Naravno, to se može i proširiti.

Predlog za istraživanje i proizvodnju u genetičkom inženjerstvu i biotehnologiji u Jugoslaviji

S obzirom na to da će i biotehnologija da revolucionariše industriju i svakodnevni život, treba realno oceniti sve aspekte uspešne primene genetičkog inženjerstva u biotehnologiji kod nas. Međutim, koristi od genetičkog inženjerstva u Jugoslaviji ne treba očekivati suviše brzo i u značajnijim razmerama. Najveća prepreka je nedostatak kadrova. Zbog toga smo mišljenja da realan program istraživanja u genetičkom inženjerstvu sledećih 5 do 10 godina treba da bude dobro odmeren i usklađen sa kratkoročnim i dugoročnim interesima i mogućnostima da se taj interes i materijalizuje.

Izbor aktivnosti u oblasti genetičkog inženjerstva je tako prilagođen i naznačen takvim redosledom po kome se u kraćem vremenu od 3 do 5 godina mogu genetski konstruisati produktivni sojevi mikroorganizama. Istovremeno, u istom vremenu može da se osvoji i

proizvodnja monoklonskih antitela. Međutim, genetička transformacija biljnih ćelija, s obzirom na našu kadrovsku osposobljenost i ukupno stanje razvoja molekularne biologije biljaka, verovatno će duže potrajati, pa je rok od 8 do 10 godina realniji.

Proizvodnja biološkog agensa sa visokom specifičnom biološkom aktivnošću. U ovu grupu proizvoda spadaju enzimi, hormoni i vakcine. Za njihovu proizvodnju imamo sve preduslove. Za deo programa u ovoj oblasti genetičkog inženjerstva već je obrazovana grupa istraživača u Beogradu koja je uspešno ovladala osnovnim tehnikama. Međutim, mišljenja smo, kao što je istaknuto, da bi u Jugoslaviji trebalo što pre obrazovati slične grupe čiji bi proizvodi bili usklađeni sa drugim industrijskim sektorima, ili čak i sličnim sektorima, ali različitim proizvodnim zahtevima.

Kulture biljnih ćelija i tkiva i genetsko inženjerstvo biljnih ćelija. Istraživanja u oblasti kulture biljnih ćelija i tkiva su izuzetno razvijena u svetu poslednjih nekoliko godina. Zemlje u razvoju su, verovatno, od svih eksperimentalnih tehnika u ovoj oblasti najbliže razvijenima.

Propagiranje biljaka korišćenjem kulture vrhova stabala je verovatno najdalje odmakla tehnika za dobijanje elitnih genotipova za različite biljne vrste. Propagiranje biljaka preko kulture tkiva ima direktan efekat na poboljšanje prinosa i na stvaranje onih vrsta koje su otporne na bolesti. Ta tehnologija je nezaobilazna kada je u pitanju rešavanje mnogih problema u poljoprivredi i šumarstvu.

Celo istraživanje se može podeliti u tri perioda: *kratkoročni* (u sledećih 5 godina): klonalna propagacija; eliminisanje bolesti; razmena germinalne plazme, i transfer gena hidridizacijom udaljenih vrsta; *srednjoročni*: (izvesna poboljšanja biljaka su moguća sledećih 5 do 10 godina): selekcija varijanata, uključujući somaklonalnu selekciju; i proizvodnja haploida; *dugoročni* (od 10 do 15 godina): sekundarni prirodni proizvodi i molekularno genetičko inženjerstvo biljaka.

U kratkoročnom periodu neposredni zadatak grupe bi bio potpuno razvijanje vegetativne propagacije biljaka novom tehnologijom (mikropropagacija iz vrhova stabala i meristema) za komercijalne potrebe. Mikropropagacija biljaka koja se inače radi u okviru ove grupe je danas neophodna tehnologija za rešavanje brojnih problema u poljoprivredi i šumarstvu. Pre svega, ovim načinom se može (danas to i radimo) obezbediti klonalna propagacija posebno značajnih genotipova, zatim može se koristiti u terapijske svrhe (oslobađanje biljnog materijala od virusa koji ga napadaju i smanjuju proizvodni prinos), a posebno što je u nekim slučajevima jedini komercijalni način vegetativnog umnožavanja sadnog materijala.

Istovremeno, u toku kratkoročnog perioda pripremaju se neophodni uslovi za srednjoročni deo programa koji u sebe uključuje proizvodnju haploidnih biljaka kao izvora čistih linija kojima se dalje operiše u genetičkom inženjerstvu. To znači da će se u okviru svakog konkretnog problema biljne vrste (zadate) obezbediti uspešna androgeneza. Taj proces obuhvata indukciju kalusnih kultura i somatske embriogeneze iz mikrospora željene biljne vrste i dobijanje haploidnih biljaka.

Razvoj metodologije dobijanja protoplasta je neophodan sa više aspekata: protoplasti kao početni materijal za regeneraciju biljaka, čime se obezbeđuje mogućnost somaklonalnih varijacija i na tom nivou genetičko inženjerstvo; protoplasti kao elementi za direktnu manipulaciju na nivou genoma putem vektora, a potom regeneracija biljaka sa ubačenim vektorom; sama kultura tkiva kao potencijalni izvor sekundarnih proizvoda za farmaceutske svrhe koja se može izvesti iz početnog biljnog materijala, a i protoplasta, što otvara nove mogućnosti za manipulaciju.

Proizvodnja monoklonskih antitela. Monoklonska antitela zaslužuju posebnu pažnju. Oni predstavljaju verovatno najkomercijalniji proizvod, i to zbog njihove uloge u lečenju i njihove analitičke i dijagnostičke koristi. Mada je teorijski moguće ta antitela dobiti i »klasičnom« tehnikom rekombinantne DNK, najverovatnije je da će još za dugo monoklonska ćelijska tehnika da dominira pri ovoj proizvodnji.

U Jugoslaviji bi trebalo u najkraćem mogućem roku obrazovati nekoliko snažnih grupa od 15 do 20 istraživača — proizvođača monoklonskih antitela. Mada u ovom trenutku nemamo takve kadrove, ipak se, s obzirom na relativno jednostavne eksperimentalne tehnike i proizvodne tehnologije, predviđa da bi prvi komercijalni proizvod monoklonskih antitela mogao da se pojavi na tržištu za tri godine.

Rad i program proizvodnje monoklonskih antitela treba da bude usklađen sa potrebama drugih grupa koje se bave genetičkim inženjerstvom u Jugoslaviji. Monoklonska antitela su od neprocenjive vrednosti i ne mogu se zaobići pri prečišćavanju proteina visokih specifičnih bioloških aktivnosti.

Razvoj molekularne biologije je potvrdio da u svom sazrevanju biotehnologija postaje jednostavnija i jeftinija. Stoga sasvim je realno očekivati da za buduću biotehnologiju, za razliku od tehnologije zasnovane na fizici ili hemiji, neće biti potrebno više mašina i više novčanih sredstava. U stvari, biće potrebno manje mašina i manje novčanih sredstava ali mnogo više inteligencije.

Namerno nismo govorili o mogućim zloupotrebama genetičkog inženjerstva u ratne svrhe. Takva opasnost sigurno postoji. Biološka razorna sredstva, koja se inače već i sada koriste u ratu, putem genetičkog inženjerstva mogu da se učine još efikasnijim i selektivnijim sa istovremenom biološkom zaštitom ljudstva. Međutim, ta tema zahteva posebnu diskusiju. Stoga smo se ograničili samo na mirnodopsku primenu genetičkog inženjerstva i biotehnologije. Iz izloženog proizlazi da, možda, od svih tehnologija koje su sada u nastajanju nova biotehnologija predstavlja idealnu mogućnost za naše ravnopravnije uključivanje u svetski tehnološki razvoj, jer najviše odgovara našim finansijskim mogućnostima. Činjenica je da tehnološka nezavisnost bitno doprinosi bezbednosnoj stabilnosti zemlje. U tom kontekstu treba shvatiti i ovo naše izlaganje.

Verovatno, suočeni sa trenutnim ekonomskim teškoćama u zemlji, teško se opredeliti za intenzivno uvođenje i investiranje u jednu novu tehnologiju koja će prve opipljive rezultate dati tek za 5 do 10 godina. Međutim, za svaku primenu nove tehnologije potreban je ovoliki pripremni period. Mnoge zemlje u svetu upravo hvataju red za to buduće vreme. Svesni smo toga da ne možemo i dalje raditi za prošlost već moramo da počnemo da radimo i za našu budućnost. Ukoliko to ranije shvatimo, ona će biti izvesnija.