P O P I S O B J A V U

K D I P L O M U Č. 64

Prihlásené 30 06 86 (PO 33-86)

Právo prednosti od 31 07 62 pre bod 1
(Naturwissenschaften
49, 334, 1962)
od 30 04 76 pre bod 2
(Antimicrobial Agents and
Chemotherapy 9, 682, 1976)

Udelené 05 12 91

Vydané

MDT 576.1

Autor objavu: EBRINGER LIBOR prof. RNDr. DrSc., BRATISLAVA

Názov objavu: Indukcia dedičnej premeny autotrofného bičíkovca Euglena gracilis na heterotrofnú formu

Predmet objavu:

1. Vlastnosť autotrofného bičíkovca Euglena gracilis, spočívajúca v jeho premene na heterotrofnú formu pôsobením antibakteriálne účinných preparátov interferujúcich najmä so syntézou DNA a transláciou.

2. Vlastnosť Euglena gracilis podľa bodu 1, spočívajúca v tom, že mutagény nitrózoguanidín a nitrofurány indukujú zmienenú premenu pôsobením aj na nedeliace sa bunky.

Podstatou objavu je irreverzibilná premena autotrofného bičíkovca Euglena gracilis na heterotrofného mutanta indukovaná antibakteriálnymi antibiotikami (Ebringer L.: Naturwissenschaften 49,334-335 (1962)) a mutagénmi (Ebringer L., Jurášek A., Koníček J., Koníčková M., Lahitová N., Trubačík S.: Antimicrob. Agents Chemother. 9,682-689 (1976)). Medzi účinkom antibiotík a mutagénov je však zásadný rozdiel. Kým antibiotiká indukujú dedičnú premenu euglén iba pri pôsobení na deliace sa bunky, mutagény majú takúto aktivitu pri pôsobení na deliace i nedeliace sa bunky. Ak mutagény pôsobia na bunky nachádzajúce sa v stacionárnom stave výťažok heterotrofných mutantov je preukazne vyšší.

Euglena gracilis je medzi fotosyntetickými eukaryotickými organizmami zvlášť citlivým druhom na chemické a fyzikálne faktory. Je to zrejme spôsobené tým, že na rozdiel od vyšších rastlín funkčné chloroplasty nemusia byť obligátnou súčasťou buniek Euglena gracilis a interakcia chloroplast - nukleocytoplazma je tu podstatne voľnejšia. Samotný názov "semiautonomné bunkové organely" prezrádza, že chloroplastový metabolizmus je zviazaný s metabolizmom v nukleocytoplazme. Pri stavbe mnohých zložiek chloroplastov sa uplatňujú bielkoviny kódované ako chloroplastovým tak jadrovým genómom (Ebringer L., Krajčovič J.: Folia Microbiol. 31,228-254 (1986); Ebringer L., Krajčovič J.: Folia Microbiol. 32,244-282 (1987)). Štúdium regulačných transakcií medzi cytoplazmou a chloroplastami Euglena gracilis umožňuje spoznať molekulovú bázu diferenciácie. Poznáme niekoľko dômyselných spôsobov (špecifické chemické a fyzikálne faktory, napr. antibiotiká, UF žiarenie, vyššia teplota, striedanie svetla a tmy, zmena C-zdrojov a i.), pomocou ktorých možno

ovplyvniť diferenciačný proces euglén inhibíciou, dezorganizáciou alebo modifikáciou transakcií medzi chloroplastami a nukleocytoplazmou.

Existujú faktory, ktoré ovplyvňujú genetický komplex plastidy - nukleocytoplazma v bunkách Euglena gracilis do takej miery, že môže dôjsť k selektívnej eliminácii plastómu, čiže genetického aparátu lokalizovaného v chloroplastoch (trvalá strata chloroplastov, aplastidia, permanentné vybielenie čiže bleaching, irreverzibilná apochlorόza). Permanentné vybielenie indukujú rôzne chemické látky inhibujúce najmä syntézu DNA a transláciu prokaryotického typu, ktoré sú genotoxickejšie, resp. účinnejšie na chloroplasty ako na nukleocytoplazmu. Väčšina takýchto inhibítorov pri použití vhodných koncentrácií indukuje až 100% mutantov. Typickým znakom tejto stratovej mutácie je trvalá eliminácia funkčných chloroplastov a tým aj fotosyntetickej aktivity. Preto získané mutanty možno udržovať jedine na organotrofných médiách. Heterotrofné mutanty Euglena gracilis nesyntetizujú chlorofyl, v dôsledku čoho bunky a ich kolónie majú permanentne bielu farbu, resp. niekedy sú žlté až žltooranžové, keďže obsahujú karotenoidy.

Antibiotiká eliminujú chloroplasty z bičíkovca Euglena gracilis iba pri pôsobení na deliace sa bunky, v dôsledku čoho dôjde k premene autotrofnej formy na heterotrofného mutanta. Táto zmena, sprevádzaná stratou chloroplastov a tým aj chlorofylu, je dedičná a uskutočňuje sa podľa zákonitostí všeobecne platných pre cytoplazmovú dedičnosť, ako je napr. vysoká frekvencia mutantov, ktorá pri aplikácii vhodne volenej koncentrácie antibiotika dosahuje až 100%.

Na obr.1 je znázornený účinok antibiotika tobramycínu na bunky Euglena gracilis v rastových podmienkach (ľavá časť obrázku), použijúc proteózo-pepton-tryptónové médium (Mego J.L.: Biochim.Biophys.Acta 79,221-225 (1964)) a v kľudových podmienkach (pravá časť obrázku), použijúc resting médium (Kirk J.T.O.: Biochim. Biophys. Acta 56,139-151 (1962)). Na osi X je uvedená doba kultivácie (v dňoch), po ktorej bunky boli odobraté, premyté a rozsiate na agarové platne. Počet mutantných kolónií sa vyhodnocoval na 7.deň kultivácie pri permanentnom osvetlení. Kultivácia v tekutých i pevných médiách sa uskutočňovala pri teplote 27 °C. Symboly: □ 100 µg/ml; ○ 10 µg/ml; △ 1 µg/ml; ● kontrola.

História tohto objavu sa započala v rokoch 1961-1962 (Ebringer L.: Naturwissenschaften 49,334-335 (1962); Ebringer L.: J.Protozool. 9,373-374 (1962); Ebringer L.: J.Antibiot. (Tokyo) Ser.A, 15,113-115 (1962)), kedy bol vyvrátený 13 rokov panujúci mýtus, že streptomycín je jediné antibiotikum so špecifickým, mutagénnym účinkom na chloroplasty Euglena gracilis. Takýto mutagénny účinok streptomycínu bol pozorovaný paralelne v dvoch laboratóriách: v Haskins Laboratories v New Yorku (Provasoli L., Hutner S.H., Schatz A.: Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 69, 279-282 (1948)) a na Prírodovedeckej fakulte Karlovej Univerzity v Prahe (Jírovec O.: Experientia 5,74-79 (1949)). Jednoduchý a elegantný spôsob získania bezchloroplastových mutantov Euglena gracilis v masovej frekvencii dosahujúcej až 100% pomocou antibiotika, ktorého antituberkulózna aktivita fascinovala v tom období nielen odborníkov, ale aj laikov, vyvolal nebývalý záujem o štúdium rôznych aspektov jeho účinkov na tohto bičíkovca. Vznikli dokonca školy, ktoré sa týmto fenoménom zaoberali.

Usmernenie orientácie odborníkov na štúdium tohto jediného antibiotika bolo okrem iného ovplyvnené zverejnením hypotézy A.Lwoffa o štruktúrnej podobnosti streptomycínu a chlorofylu (Lwoff A., Schaeffer P.: C.R.Acad.Sci. (Paris) 228,511-517 (1949)).Názor o špecifickom účinku jedine streptomycínu na chloroplasty Euglena gracilis bol všeobecne uznávaný až do roku 1961 aj takými významnými autoritami ako bol A.Lwoff, S.H. Hutner, O.Jírovec a i., preto sa stal súčasťou mnohých vedeckých zdelení a učebníc (Hutner S.A., Lwoff A.: Biochemistry and Physiology of Protozoa, vol.II. Academic Press, New York 1955; Jírovec O.: Protozoologie,vyd. ČSAV, Praha 1953.

Postupne sa potvrdila všeobecná platnosť existencie fenoménu citlivosti chloroplastov Euglena gracilis na antibakteriálne lieky (Ebringer L.: Folia Microbiol. 9,249-254 (1964); Ebringer L.: Naturwissenschaften 52,666 (1965); Ebringer L.: Folia Microbiol. 11,379-386 (1966); Ebringer L., Jurášek A., Kada R.: Folia Microbiol. 12,151-156 (1967); Ebringer L., Krkoška P., Mačor M., Jurášek A., Kada R.: Archiv Mikrobiol. 57,61-67 (1967); Ebringer L.: J.Gen.Microbiol. 61,141-144 (1970); Ebringer L.: Experientia 27,586-587 (1971); Ebringer L.: J.Gen. Microbiol. 71,35-52 (1972); Ebringer L., Jurášek A., Kada R., Krkoška P., Foltínová P.: pp.873-876 in M.Hejzlar, M.Semonský, S.Masák (Eds.): Advances in Antimicrobial and Antineoplastic Chemotherapy, Vol.1, Avicenum, Praha 1972; Ebringer L.: pp.271-354 in F.E.Hahn (Ed.): Progress in Molecular and Subcellular Biology Vol.6. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1978)).Uvedené výsledky dokazujú, že existuje korelácia v účinkoch antibiotík a ďalších biologicky aktívnych látok na baktérie a chloroplasty. Väčšina látok zaraďovaných do kategórie inhibítorov syntézy DNA a bielkovín v baktériách brzdí tieto procesy aj v chloroplastoch,

v dôsledku čoho sa dostaví trvalé poškodenie a eliminácia chloroplastov. Takéto mutagénne vlastnosti majú mnohé chemoterapeutiká: antramycín, rubiflavín, niektoré mitomycíny, sarkomycín, streptonigrín, edeín, primycín, kyselina nalidixová, novobiocín, kyselina oxolínová, ofloxacín, ciprofloxacín, myxín, nitrofuránové preparáty, streptomycíny, kanamycín, tobramycín, amikacín, paromomycín, gentamycín, bluensomycín, hygromycín B, viomycín, spektinomycín, angolamycín, karbomycín, erytromycín, spiramycín, oleandomycín, streptogramíny, linkomycíny a i.

Ostatné antibiotiká spôsobujú iba dočasnú inhibíciu vývinu chloroplastov, resp. syntézy chlorofylu. Tento efekt sa prejaví napr. nedostatočnou tvorbou chlorofylu, v niektorých prípadoch aj inhibíciou syntézy organelových bielkovín, štruktúrnymi zmenami v granách tylakoidov a pod. Avšak po odstránení takýchto antibiotík zasiahnuté organely postupne regenerujú na normálne zdravé chloroplasty. Takýmito dočasnými účinkami sa vyznačujú inhibítory syntézy RNA, napr. aktinomycín D, nogalamycín, daunomycín, cinerubín B a iné (Ebringer L.: J.Gen. Microbiol.71, 35-52 (1972)). Antibakteriálne účinné antibiotiká typu penicilínu nemôžu prejaviť inhibičnú aktivitu na chloroplasty a mitochondrie z jednoduchého dôvodu: nieto v nich požadovaného cieľa, ktorý penicilín zasahuje. Chloroplasty a mitochondrie na rozdiel od baktérií nemajú bunkové steny, ktorých syntézu negatívne ovplyvňujú antibiotiká typu penicilínov a cefalosporínov, cykloserín, lyzozym, bacitracín, atď.

Bunky Euglena gracilis citlivo reagujú aj na zmeny v štruktúre antibiotík. Pomocou modelu Euglena gracilis sa stanovil prvý nápadný rozdiel medzi streptomycínom a dihydrostreptomycínom (Ebringer L., Mego J.L., Jurášek A., Kada R.: J.Gen.Microbiol.

59,203-209 (1969); Ebringer L., Nemec P., Santová H., Foltínová P.: Archiv Mikrobiol. 73,268-280 (1970)), hoci sa všeobecne verilo, že mechanizmus týchto dvoch derivátov by mal byť identický. Zvýšená eliminačná účinnosť streptomycínu oproti dihydrostreptomycínu je v súlade so zistením, že streptomycín precipituje DNA najmenej 10 razy účinnejšie ako dihydrostreptomycín. Sú však aj iné odlišnosti medzi týmito dvomi streptomycínmi. Mutagénny účinok sa dá odstrániť pomocou hydroxylamínu v prvých štádiách po pridaní streptomycínu, avšak nie po pôsobení dihydrostreptomycínu (Ebringer L., Mego J.L., Pódová M.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 29,571-575 (1967)).

Intaktné bunky Euglena gracilis možno využiť aj na štúdium vzťahov medzi chemickou štruktúrou a biologickou aktivitou nových derivátov antibakteriálnych antibiotík. Napr. štúdiom 22 derivátov oleandomycínu (Celmer W.D., Ebringer L.: J.Protozool. 14, 263-267 (1967)) sa zistilo, že existuje významná korelácia v účinkoch týchto derivátov na chloroplasty Euglena gracilis a na bakteriálne infekcie in vivo. Najúčinnejšie boli tie deriváty oleandomycínu, ktoré mali esterifikované buď všetky tri možné polohy (napr. triacetyloleandomycín), alebo aspoň príslušnú pozíciu na neutrálnom cukre oleandróze. Krvné ako aj euglénové enzýmy štiepia triacetyloleandomycín na zmes mono- a diesterov oleandomycínu, ktorá má vyšší antibakteriálny a antiplastidový efekt ako pôvodný oleandomycín. Treba dodať, že oleandomycín in vitro je účinnejší na baktérie ako triacetyloleandomycín, kým in vitro je to naopak. Toto poukazuje na skutočnosť, že druh Euglena gracilis možno používať ako jednoduchý model aj k štúdiu antibakteriálnych vlastností nových derivátov antibiotík s cieľom nájsť deriváty s výhodnejším terapeutickým indexom.

Podobné citlivé reagovanie buniek Euglena gracilis na zmeny v štruktúre antibiotika bolo stanovené aj v iných prípadoch. Napríklad vybieľovacia aktivita derivátov mitomycínu ako aj ich toxicita závisí najmä od prítomnosti metylskupiny na aziridínovom dusíku (Ebringer L., Mego J.L., Jurášek A.: Archiv Mikrobiol. 64,229-234 (1969)). Podobné závislosti biologickej aktivity od štruktúry boli zistené aj pri analýze derivátov linkomycínu (Ebringer L., Foltínová P.: Acta F.R.N.Univ.Comen.-Microbiologia 5,113-125 (1976)) a ďalších chemoterapeutík.

Mutagény na rozdiel od antibiotík indukujú permanentné vybielenie euglén v oboch kultivačných, resp. inkubačných podmienkach, t.j. pri pôsobení tak na deliace, ako aj na nedeliace sa bunky (Ebringer L., Jurášek A., Koníček J., Koníčková M., Lahitová N., Trubačík S.: Antimicrob.Agents Chemother. 9,682-689 (1976); Ebringer L., Chreňo O., Seman M.: Biológia 37, 1049-1055 (1982)).

Na obr.2 je znázornený účinok mutagénu a karcinogénu N-metyl-N´-nitro-N-nitrózoguanidínu na bunky Euglena gracilis v rastových podmienkach (ľavá časť obrázku) a v kľudových podmienkach (pravá časť obrázku). Podmienky experimentu boli identické s podmienkami uvedenými pri popise obr.1. Symboly: □ 7,5 µg/ml; ○ 5 µg/ml; △ 2,5 µg/ml; ● kontrola.

Už pri objavení tohto javu bolo zistené, že mutagény indukujú permanentné vybielenie euglén účinnejšie v pokojových médiách ako v rastových médiách (Ebringer L., Jurášek A., Koníček J., Koníčková M., Lahitová N., Trubačík S.: Antimicrob. Agents Chemother. 9,682-689 (1976)). Okrem N-metyl-N´-nitrózoguanidínu v uvedenej práci sa uvádza, že takýto účinok výrazne odlišný od antibiotík majú aj niektoré nitrofuránové preparáty (furadantin, furacin, furoxon, benzazon VII,5-nitro-2-furaldehyd), ktoré sa

vyznačujú mutagenitou aj v iných systémoch.

Zvýraznenie tohto vybieľovacieho účinku v kľudových médiách bolo neskôr zaznamenané pri testovaní aj ďalších typov mutagénov, resp. karcinogénov (Ebringer L., Chreňo O.: Acta F.R.N. Univ.Comen. - Microbiologia 10,1-8 (1982); Mačor M., Ebringer L., Siekel P.: Teratogen. Carcinogen. Mutagen. 5,329-337 (1985); Chreňo O., Ebringer L.: Acta F.R.N. Univ. Comen. - Microbiologia 13,61-68 (1984); Chreňo O., Krajčovič J., Ebringer L., Polónyi J.: Teratogen. Carcinogen. Mutagen. 8,161-168 (1988)).

Metóda sa stala zvlášť citlivou po zistení, že krátkodobým zvýšením teploty nad 27 ^{o}C sa výrazne zvýši mutagenita študovaných chemických látok (Chreňo O., Ebringer L.: Acta F.R.Univ. Comen. - Microbiologia 13,61-68 (1984); Chreňo O., Krajčovič J., Ebringer L., Polónyi J.: Teratogen. Carcinogen. Mutagen. 8,161-168 (1988)). Treba upozorniť, že samotná vyššia teplota (32-34 ^{o}C) pri pôsobení počas niekoľkých generačných časov na replikujúce sa bunky indukuje permanentné vybielenie euglén (Pringsheim E.G., Pringsheim O.: New Phytologist 51,65-76 (1951)), čo neplatí pre nedeliace sa bunky v pokojových médiách.

Euglena gracilis predstavuje nový modelový organizmus pre štúdium niektorých aspektov mutagenézy, prípadne karcinogenézy vrátane využitia pre screening mutagenity či karcinogenity niektorých skupín chemických látok. Keď pripustíme, že chloroplasty sú potomkami prokaryotických organizmov (Ebringer L.: Biologické listy 42, 275-295 (1977); Ebringer L., Krajčovič J.: Folia Microbiol. 31,228-254 (1986); Ebringer L., Krajčovič J.: Folia Microbiol. 32,244-282 (1987)), potom možno tento model považovať za určitú variáciu bakteriálnych testov mutagenity (napr. Amesov test na detekciu mutagénov a potenciálnych karcinogénov). Euglé-

nový model však viac napodobňuje situáciu vo vyšších organizmoch, pretože chemomutagény musia prekonať viaceré bariéry (cytoplazmové a plastidové membrány) a počas transportu cez cytoplazmu až k citlivým miestam zásahu (plastidová DNA) môžu byť aktivované, resp. inaktivované.

Možnosti uplatnenia vyššie uvedeného prístupu pre praktické ciele boli vyskúšané na skupine derivátov 5-nitrofuránu. Prakticky všetky nitrofuránové deriváty vykazujú mutagenitu na rôznych objektoch a mnohé sú aj karcinogénne (Tazima Y., Kada T., Murakami A.: Mutat. Res. 32,55-80 (1975); Bryan G.T. (Ed.): Carcinogenesis, Vol.IV : Nitrofurans. Raven Press, New York 1978; Ebringer L., Bencová M.: Folia Microbiol. 25, 388-396 (1980); Ebringer L., Šubík J., Lahitová N., Trubačík S., Horváthová R., Siekel P., Krajčovič J.: Neoplasma 29,675-684 (1982); Ebringer L., Lahitová N., Trubačík S., Beňo J.: Acta F.R.Univ.Comen. -Microbiol. 11,49-56 (1984)). Podobné výsledky boli získané aj testovaním nitrofuránov pomocou Euglena gracilis, pretože prakticky všetky deriváty (vyše 150) boli pozitívne, či už v klasickom, alebo v upravenom teste v pokojovom médiu, resp. v kombinácii s tepelným šokom (Ebringer L., Jurášek A., Kada R.: Folia Microbiol. 12,151-156 (1967); Ebringer L., Krkoška M., Mačor M., Jurášek A., Kada R.: Archiv. Mikrobiol. 57,61-67 (1967); Ebringer L., Jurášek A., Kada R., Krkoška P., Foltínová P.: pp.873-876 in M.Hejzlar, M.Semonský, S.Masák (Eds.): Advances in Antimicrobial and Antineoplastic Chemotherapy, Vol.1, Avicenum, Praha 1972; Soška J., Koukalová B., Ebringer L.: Mutat.Res. 81,21-26 (1981); Ebringer L., Jelínek R., Seman M., Lahitová N., Chreňo O., Krajčovič J.: Čs. Hygiena 32,276-286 (1987)).

Niektoré nitrofurány vyžadujú aktiváciu svetlom, aby sa

stali mutagénnymi pre Euglena gracilis. Prvým detekovateľným intermediátom vznikajúcim fotokatalytickým účinkom svetla na niektoré deriváty 5-nitrofuránu je 5-nitro-2-furaldehyd, ktorý patrí medzi najsilnejšie mutagénne deriváty (Ebringer L., Jurášek A., Koníček J., Koníčková M., Lahitová N., Trubačík S.: Antimicrob. Agents Chemother. 9,682-689 (1976); Ebringer L., Trubačík S., Thuyet T.: Acta F.R.N. Univ. Comen.-Microbiol. 6,1-16 (1978)). Mutagenita nitrofuránov sa dá výrazne zvýšiť testovaním pri vyšších teplotách, v niektorých prípadoch aktiváciou svetlom, resp. aktiváciou pomocou mikrozómovej frakcie S-9 Mix získanej z pečene cicavcov. Kombináciou uvedených postupov vykážu silnú mutagenitu aj také deriváty, ktoré ju za štandardných podmienok t.j. pri 27 ^{o}C nevykazovali. Ako príklad možno uviesť výsledky testovania kyseliny 5-nitro-2-furylakrylovej, ktorá bola navrhnutá na konzervovanie vín a iných nápojov v ČSSR a ZSSR (Farkaš J.: Mitt. Hoehere Bundeslehr-Versuchsanst. Wein-Obstbau, Klosterneuburg 25,279-284 (1975); Valujko G.G., Ťjurina L.V., Burjan N.I., Sokolova D.I., Ťjurin S.T.: pp. 57-70 in G.G. Valujko (Ed.): Puti povyšenija stabilnosti vin i vinomaterialov. Ministerstvo piščevoj promyšlenosti SSSR, Moskva 1982)). Táto zlúčenina nie je mutagenná pre Euglena gracilis za štandardných podmienok (kultivácia pri 27 ^{o}C), hoci pri testovaní na iných pro- a eukaryotických modeloch vykazuje genotoxickú aktivitu (Ebringer L., Šubík J., Lahitová N., Trubačík S., Horváthová R., Siekel P., Krajčovič J.: Neoplasma 29,675-684 (1982); Ebringer L., Jelínek R., Horáková K., Lahitová N., Seman M., Blaško M., Chalupa I.: Čs. Hyg. 33,129-147 (1988); Šturdík E., Rosenberg M., Štibrányi L., Baláž Š., Chreňo O., Ebringer L., Ilavský D., Végh D.: Chem. Biol. Interactions 53,145-153 (1985)). Avšak po miernom zvýšení teploty nad 27 ^{o}C, resp. krátkodobým tepelným

šokom (42 ^{o}C, 15 min.) a inkubáciou v pokojovom médiu a na svetle, kyselina 5-nitro-2-furylakrylová indukuje 100% vybielených mutantov (Mačor M., Ebringer L., Siekel P.: Teratogen. Carcinogen. Mutagen., 5,329-337 (1985)).

Vyššie uvedené výsledky boli súčasťou podkladov, na základe ktorých hlavný hygienik SSR vydal zákaz používať kyselinu 5-nitro-2-furylakrylovú v potravinárskom priemysle s účinnosťou od 1.X.1978.

Podobné pozitívne výsledky boli dosiahnuté aj s AF-2 (furylfuramid), ďalším nitrofuránovým derivátom používaným v Japonsku do r.1974 na konzervovanie potravín a s nitrovinom, ktorý sa používa ako stimulátor rastu jatočných zvierat (Ebringer L., Jelínek R., Seman M., Lahitová N., Chreňo O., Krajčovič J.: Čs. Hyg. 32,276-286 (1987); Ebringer L., Šubík J., Lahitová N., Trubačík S., Horváthová R., Siekel P., Krajčovič J.: Neoplasma 29,675-684 (1982)).

Na základe korelácií medzi schopnosťou nitrofuránov indukovať rôzne genetické efekty a vybieľovať euglény možno tento nový test považovať za adekvátny a jednoduchý indikátor genetickej aktivity nitroheterocyklických zlúčenín a iných typov genotoxických xenobiotík.

Výsledky štúdia bleaching fenoménu boli iniciačným mechanizmom pri presvedčovaní zdravotníckych orgánov o nevyhnutnosti introdukovať moderné rýchlotesty na detekciu mutagénov a karcinogénov do spoločenskej praxe a majú významný podiel na tom, že v Slovenskej republike s účinnosťou od 1.I.1986 platí legislatívne nariadenie o povinnom testovaní nových chemických produktov z hľadiska mutagenity a karcinogenity (Vestník Ministerstva zdravotníctva SSR, roč.32, čiastka 15-16, článok 20 zo dňa 26.IX.1984).

Okrem empiricky zistenej skutočnosti, že karcinogény majú aj mutagénne účinky, existujú aj ďalšie experimentálne i teoretické súvislosti, ktoré oprávňujú používať model Euglena gracilis aj k štúdiu karcinogénov. Spomeňme aspoň poznatky o význame cytoplazmových faktorov pri karcinogenéze, vrátane ich zvýšenej citlivosti na karcinogény (prehľad: Ebringer L.: Teratogen. Carcinogen. Mutagen. 10,477-501 (1990)). Všeobecne sa súdi, že príčinou zvýšenej citlivosti mitochondrií na mutagény a karcinogény môže byť relatívna nahosť organelového genómu a neprítomnosť excízneho opravného mechanizmu v týchto organelách (Clayton D.A., Doda J.N., Friedberg E.G.: Proc.Nat.Acad.Sci. USA 71, 2777-2781 (1974)). Analogicky taký istý nedostatok bol zistený aj v chloroplastoch Euglena gracilis (Ohki Y., Musashi A., Tsubo Y.: Experientia 36,407-408 (1980); Nicolas P., Hussein Y., Heizmann P., Nigon V.: Molec. Gen. Genet. 178,567-572 (1980)). Neprítomnosť excízneho opravného mechanizmu v euglénových chloroplastoch pripomína Amesovu sústavu kmeňov Salmonella typhimurium, ktorým chýba tento reparačný systém.

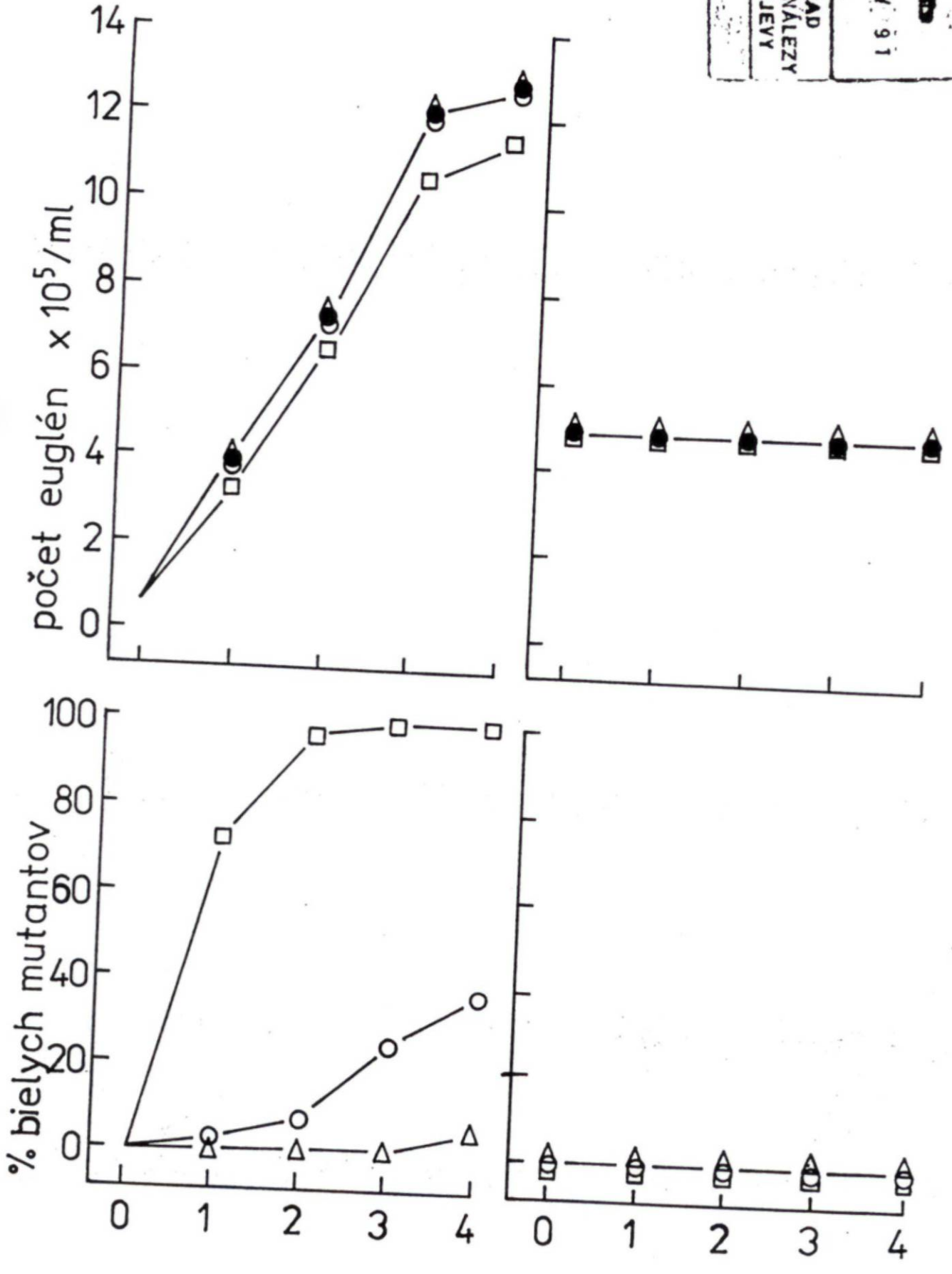
Predmet objavu sa stal v základnom výskume podkladom pre ďalšie experimentálne práce študujúce zložité vzťahy medzi semiautonomnými bunkovými organelami a jadrom, ako aj pre riešenie niektorých evolučných otázok, najmä pôvodu bunkových organel a vývoja eukaryotických organizmov. V práci z r.1965 (Ebringer L.: Naturwissenschaften 52,666 (1965)) a neskôr v ďalších publikáciách, na základe pozorovania korelácií v citlivosti chloroplastov a baktérií na antibiotiká bola navodená renesancia predstavy o endosymbiotickom pôvode chloroplastov. (Ebringer L.: Biologické listy 42,275-295 (1977); Ebringer L.: pp.184-199 in M.Macháček (Ed.): Věda a lidstvo 1984, Horizont, Praha 1983;

Krajčovič J., Ebringer L.: Biologické listy 51,1-25 (1986);

Ebringer L., Krajčovič J.: Folia Microbiol. 31,228-254 (1986);

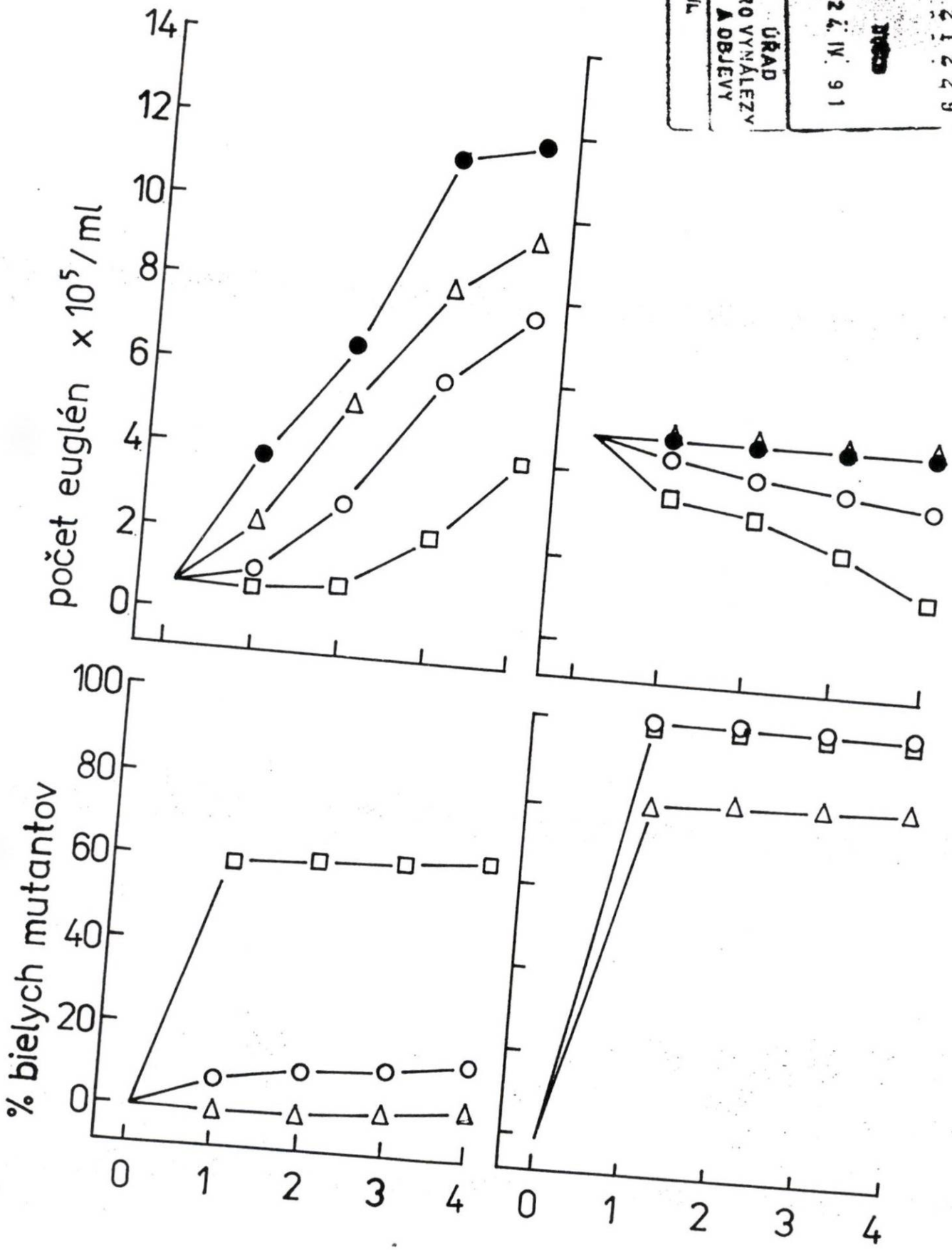
Ebringer L., Krajčovič J.: Folia Microbiol. 32,244-280 (1987)).

ÚŘAD PRO VYNÁLEZY A OBJEVY
PAŘ.
24. IV. 91
021229



Obr.1

Ab
021229
24. IV. 91
ÚŘAD PRO VYNÁLEZY A OBJEVY
PŘÍL.



Obr. 2