

Szabóné Szikszai Boglárka

## A GYÓGYSZERGYÁRTÁS PARÁNYI MUNKATÁRSAI

Több mint 20 évvel ezelőtt Jánoshidáról indulva a Lehel Vezér Gimnáziumból jutottam a Műszaki Egyetemre. A biomérnöki pálya választásakor is sejtettem, hogy gyorsan fejlődő, szép jövő előtt álló tudományágat választok. (A diplomamunkámmal elnyertem a Fiala Biotechnológusok Nívódíját.) Valóban, azóta is töretlenül felfelé ível a biotechnológia fejlődése. Definíciójának meghatározása ezért is nehéz feladat. Mind a mai napig minden, a biotechnológiával foglalkozó tanulmány azzal kezd, hogy hosszú oldalakon keresztül definiálja és újradefiniálja magát. Számos leírás létezik, melyek közül egy sem vált mindenhol elfogadottá. Jellemzően minden elemzés a saját szempontjainak és céljainak legjobban megfelelő definíciót használ. A biotechnológia pragmatikusan két szinten írható le.

Mint tudomány- és alkalmazási terület: A biotechnológia a tudomány és technológia alkalmazása élő szervezeteken, azok részein, termékein vagy modelljein azzal a céllal, hogy megváltoztassunk élő vagy élettelen anyagokat tudás, termékek vagy szolgáltatások létrehozásáért. A biokémia, a mikrobiológia és a mérnöki tudományok alkalmazása integráltan történik.

Mint szektor: olyan vállalkozások, amelyek modern biológiai technikákat alkalmaznak termékek vagy szolgáltatások fejlesztésére és/vagy előállítására öt nagy terület valamelyikén: a bioinformatikai, az egészségügyi (piros biotechnológia), a mezőgazdasági (zöld biotechnológia), a vegyipari és élelmiszeripari (fehér vagy ipari biotechnológia) és környezetvédelemi alszektorok.

Attól függetlenül, hogy jelenleg virágkorát éli a biotechnológia, a mikroorganizmusok használata régmúlt időkre tekint vissza. Nem ismeretes olyan történeti korszak vagy helyszín, ahonnan az írott feljegyzések ne tudósítanának a bor és az élesztővel kelesztett kenyér fontos, sokszor kultikus társadalmi szerepéről. A Bibliában a Teremtés Könyve szerint maga Noé is fogyasztott alkoholt. Mezopotámiából előkerült leletek szerint az ottaniak mézből erjesztett sört ittak, az ókori Egyiptomban pedig valódi sörfőzdék működtek. Mellettük a tejből előállítható élelmiszerfélék (sajt, túró) és az ecet is nagy jelentőséggel bírtak.

A bibliai időktől az újkor hajnaláig túl sok haladás a tudomány ezen területén sem történt. Noha a biotechnológiához közvetlenül nem kapcsolódott, mégis a holland Antonie van Leeuwenhoek (1632–1723) felfedezései jelentették a következő mérföldkövet. Saját készítésű, egyetlen lencséből álló mikroszkópjain egy addig teljességgel ismeretlen világ kapuit tárta szélesre. Az állóvizek vizsgálatával útjára indította a mikrobiológia tudományát. Kezdetleges mikroszkópján megfigyelt többféle egysejtű, illetve többsejtű élőlényt. A csillósokon és baktériumokon kívül először írta le a vörösvérsejteket és az izmok rostjait is. Akkor még nem sejtette, hogy a parányi élőlények nemcsak az élelmiszeriparban bizonyulnak hasznosnak, hanem az egészségügynek is pótolhatatlan szolgálatot tesznek majd.

A két világháború közti időszakra tehető a citromsav, a glükonsav, a glicerol és a pékélesztő nagyüzemi gyártásának, fermentációjának kezdete. (Az erjesztés, idegen szóval fermentáció egy olyan művelet, amelyben mikroorganizmusok által hozunk létre hasznos terméket.) Ezen folyamatok egy része kifejezetten aerob volt, s hamar kiderült, hogy gazdag táptalajon a sejt-

tek gyors növekedése oxigénhiányhoz vezet, aminek erjedéssel melléktermékek megjelenése, vagyis kihazatal-csökkenés lesz az eredménye. Ezt a táptalaj „gyengítésével” küszöbölték ki, a növekedést tehát a szénforrással, s nem az oxigénnel korlátozták. A szénforrás lassú, folyamatos adagolásával a termelés elnyújtható lett. Ez a ráadagolásos vagy „fed-batch” technikának nevezett eljárás lett az alapja világszerte az aerob termelő folyamatoknak az addigi süllyesztett, szakaszos, („batch”) fermentációkkal szemben. Az oxigénellátás fokozására levegőbefúvató csöveket és kompresszorokat kezdtek használni, s megjelentek a mechanikus keverők is. Az intenzív levegőztetés habképződéshez vezetett, amivel szemben mechanikus habtörőket alkalmaztak. Ezek gyakorlatilag lecentrifugálták a habot, különválasztva benne a folyadékot és a gázt. A sejtek növekedésének mértékét a hőmérséklet erősen befolyásolja, ezért mind pontosabb hőmérőket és hőcserélő rendszereket fejlesztettek ki, s megjelentek az első pH-elektrodák („off-line”, azaz levett minták alapján történő, nem folyamatos) szabályozással.

A II. világháború során – a tudomány egyéb területeihez hasonlóan – az ipari biotechnológia is jelentős fejlődésen ment át.

Alexander Fleming (1881–1955) skót bakteriológus, immunológus véletlenül bukkant a penicillinre, amely más, később kifejlesztett antibiotikumokkal a leghatékonyabb gyógyszer lett többféle bakteriális fertőzésnek. Az I. világháború frontján szerzett katonai tapasztalatai arra ösztönözték, hogy olyan baktériumölő szert keressen, ami nemcsak felületi fertőtlenítésre alkalmas, hanem az emberi szervezetben is hatékony. 1928-ban, amikor már elismert bakteriológus volt, a nyári szabadságáról visszatérve bosszúsan tapasztalta, hogy az egyik laborban hagyott *Staphylococcus* (sebfertőző baktérium) tenyészet mellett egy idegen mikroorganizmus is megjelent. Meglepetten látta, hogy a véletlenül odajutott penészgombát az agaron széles, baktériummentes sáv övezte. A *Penicillium* nemzetségbe tartozó penészt tiszta tenyészetbe tette és kivonatóval különböző baktériumfajokat kezelve felfedezte, hogy a „penészlé” (a fermentlé) hatékonyan gátolja számos patogén mikroorganizmus (többek között a skarlát, a tüdőgyulladás, az agyhártyagyulladás, diftéria, tripper) kórokozóinak fejlődését. Ugyanakkor magasabb rendű szervezetekre (emberre) nem toxikus. Sikerült izolálnia a penicillinnek elnevezett hatóanyagot is, amit akkor még enzimnek gondolt (valójában egy viszonylag kis szerves molekula).

Fleming penicillinről tett akadémikus megállapításai hamarosan a klinikai gyakorlatban is lényegesek lettek – a penicillin révén legyőzhetővé váltak a harctéri sérülések során szerzett, addig végzetes sebfertőzések. Az egymásra sokszor féltékeny brit és amerikai gyárak összefogva próbálták a „csodafegyver” gyártását olcsóbbá tenni, az Egyesült Államokban pedig valóságos népi mozgalommá vált a penészgombák gyűjtése és ellenőrző központokba küldése. A sok penészminta feldolgozása végül is sikerrel járt, mert egy gyümölcs piac szeméjéből elkülönített rothadt, penészes dinnyéről sikerült egy olyan *Penicillium chrysogenum* nevű törzset izolálni, ami két nagyságrenddel magasabb termelőképeséget mutatott, mint az eredeti *Penicillium notatum* törzs. A penicillin története kapcsán mindenképpen meg kell említeni a ma DSM néven ismert holland gyógyszergyár kutatóit, akik a német megszállás alatt a Gestapo orra előtt jutottak el csaknem ugyanoda, ahová a szövetséges országok egyesített erői. Sokan azt mondják, hogy a penicillin a második világháború terméke, nélküle talán nem is jött volna létre, mert a költségek – a kezdeti alacsony hozamok mellett – olyan magasak voltak, hogy békeidőben ezt senki nem fizette volna meg.

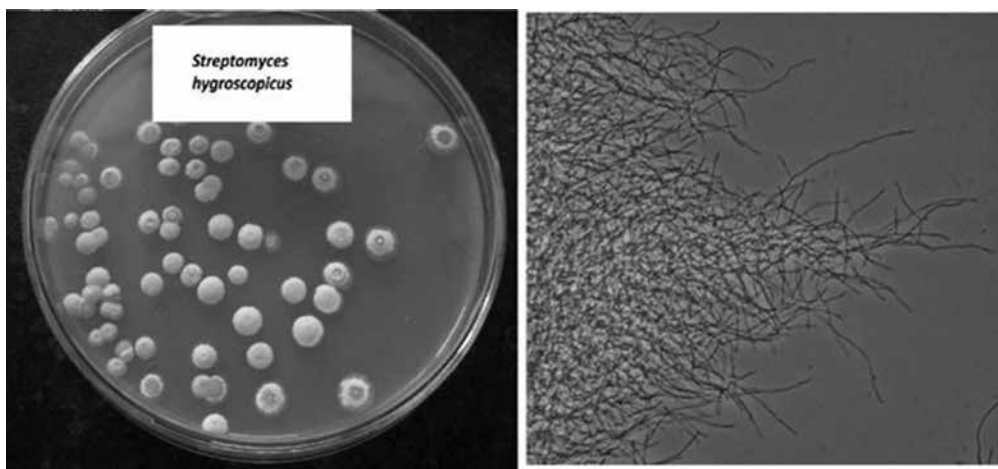
Fleming nem engedte eljárását szabadalmaztatni, hanem az 1950-es évektől kezdve a világ minden országának rendelkezésére bocsátotta. A milliók életét megmentő tudós 1945-ben kapott Nobel-díjat Howard Florey-val és Ernst Boris Chain-nel együtt. Magyarország a penicillin sikertörténetéhez csak évekkel később tudott kapcsolódni kutatóintézetei, illetve elsősorban a Debrecenben felépülő gyára, a Hajdúsági Gyógyszergyár (mai néven Teva Gyógyszergyár) munkája és eredményei révén.

A penicillin előállítása nem egyszerűen aerob folyamat, hanem kifejezetten magas oxigéntenzión igényel. A háború folyamán a költségeket nem kímélő fejlesztések a fermentorok (bioreaktorok) levegőztetésének műszaki/mechanikai problémáira is sok szempontból megoldást kínáltak. Több száz köbméteres, gőzzel *in situ* (helyben) sterilizálható és túlnyomás alatt működő bioreaktorok épültek, a levegőbuborékok hatékony porlasztását központi elhelyezésű mechanikus keverők biztosították. A kontroll-műszereket mérőkörök váltották fel, melyeket hamarosan számítógép vezérelt. A másik óriási lépés a modern törzsfelkészítő programok beindulása volt, ez máig a biotechnológia egyik legfontosabb részterülete. Az eredeti *Penicillium notatum* törzs a maiak teljesítményének tízezredrészét tudta előállítani, s ez az arány sok termelésre fogott sejttypus esetében is érvényes. A mikrobák fejlesztését hasonlóan lehet elképzelni, mint a növénytermesztésben a nemesítést. Csak itt a jobb hozamra való törekvés során a kiválogatáson túl indukált mutáció is (pl. UV sugárzással, kémiai mutagénnel) történik az eredmény még gyorsabb elérésének érdekében. A fejlesztés egyik fontos állomása volt a kísérleti üzemek elterjedése, ahol kisebb költség mellett, de „ipari körülmények” között tesztelhetők az adott törzset.

A penicillin mellett a streptomycin, az erytromicin, a tetraciklinek, a kloramfenikol, számos aminosav, gibberellin, nukleotid és vitamin mikrobiális előállítása is fellendült, s megtörténtek az első biokonverziós kísérletek. A sterilitás megőrzése jelentett újabb kihívást, amit a szelepek és pumpák folyamatos fertőtlenítésével, valamint – az emberi hiba lehetőségét csökkentendő – minél magasabb szintű automatizálással igyekeztek legyőzni. Az 1940-es évektől kezdődően robbanásszerűen nőtt az újonnan felfedezett antibiotikumok száma, amit a gyógyszeriparon kívül az állattenyésztésben, a mezőgazdaságban, illetve a kutatásban használtak fel. A 70-es évekre viszont jelentősen visszaesett az új találatok száma. Megközelítőleg 6000 féle antibiotikumot írtak le és ebből kb. 160 féle antibiotikum és antibiotikum származék van forgalomban. Ezek jelentős részét *Actinomycetes* (sugárgombák) termelik. Ilyen pl. a számos vegyületet előállító *Streptomyces hygroscopicus* (1. ábra).

Nemcsak a baktériumokat képesek pusztítani az *Actinomycetes* által termelt egyes hatóanyagok, hanem a ráksejteket is. Az actinomycinek 1941-es felfedezése óta ez a mikrobacsoport szolgáltatja az elsődleges forrását a tumorellenes szereknek (pl. mitomycin C, bleomycin, daunorubicin stb.). További elterjedt felhasználási gyógyászati terület a koleszterincsökkentés, ahol fonálas gombák által termelt sztatinoátokat alkalmaznak. A humán orvoslásban nagy jelentőségűek az immunszuppresszánsok (pl. ciklosporin, tacrolimus, mikofenolát-mofetil stb.). Ezek meggátolják a különböző átültetett szervek kilökődését a szív-, máj- és vese-transzplantációk után.

A múlt század hetvenes éveiben a laboratóriumok már elterjedten használtak rögzített sejteket, illetve enzimeket specifikus reakciók kivitelezésére. Ipari léptékű felhasználásukat az enzimelektrodok és a biokatalitikus szerves szintézisek kifejlesztése, elterjedése hozta magával. Az ipari biotechnológia talán leginkább költség- és munkaigényes része a hatóanyag fermentálékból történő kinyerése és tisztítása.

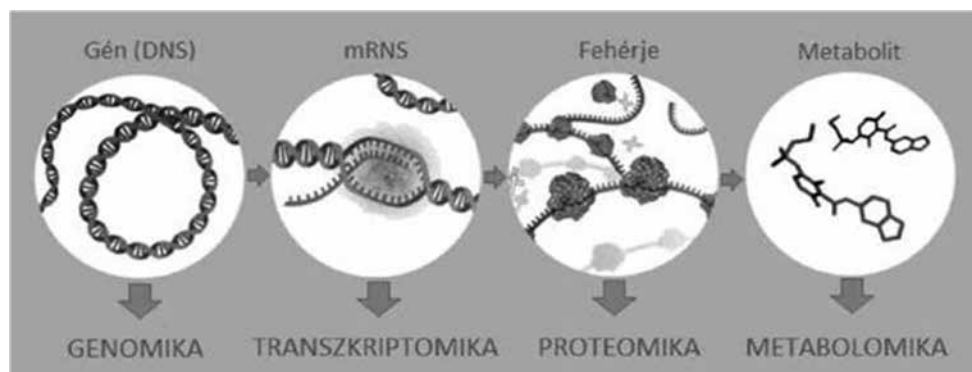


1. ábra *S. hygroscopicus* telepek egy Petri-csészén és mikroszkópon

A céltermék mellett sejteket, sejtörmelékeket, tápkomponenseket és a sejtek által termelt sokféle metabolitot (anyagcsereterméket) is tartalmazó összetett mátrix komoly kihívást jelent analitikai és preparatív szempontból egyaránt. A gyártási folyamat ezen részét, valamint a szennyező anyagok megfelelő kezelését összefoglalóan „downstream processing”-nek (DSP) nevezzük, elkülönítve ezzel az „upstream processing” (USP) résztől, mely a törzsfeljesztést, a táptalaj-optimalizálást, az oltóanyag előállítását és a fermentációs műveletti lépéseket foglalja magába.

A korábban említett klasszikus törzsfeljesztés mellett megjelent a genetikai állomány célzott módosítása. A laboratóriumokban végzett első sikeres molekuláris biológiai manipulációk hamarosan a termelésben is változást hoztak. Lehetővé vált a genetikai anyag átvitele egyik élőlényből a másikba – pl. mikrobiális inzulin vagy interferon termelés –, másfelől az adott organizmus genetikai állományát is igény szerint lehetett módosítani. Noha a klasszikus izolációs és szelektív törzsfeljesztés jelentősége megmaradt, ezek a lehetőségek új távlatokat nyitottak a biotechnológiában is. A molekuláris biológiai módszerek gyors elterjedése és viszonylagos olcsósága számos új tudományterület (pl. proteomika, metabolomika, bioinformatika, genomika) és ezek részterületeinek világra jöttét eredményezte (2. ábra), melyek eredményei korábban elképzelhetetlen gyorsasággal kerülnek be az ipari gyakorlatba. A termelésre fogott élőlények és sejtípusok diverzitása látványosan növekszik, a baktériumok, fonalas gombák és élesztők mellett ősbaktériumokat, növényi-, rovar- és állati sejteket is széles körben használnak.

Az eddig elért eredmények okot adnak a derülásra, de a kutatás ettől függetlenül nem állhat meg. Hiszen a kórokozó baktériumok is tovább alakulnak, kifejlesztve az ellenállás (rezisztencia) képességét a különböző antibiotikumok ellen. A természetes hatóanyagok még hatásosabbá tétele érdekében sok esetben szintetikus módosításokat hajtanak végre rajtuk. Ezek a fél-szintetikus vegyületek még hatékonyabban támadják a kórokozókat, illetve kevesebb mellékhatással rendelkeznek.



2. ábra: A különböző „omikák” kapcsolata

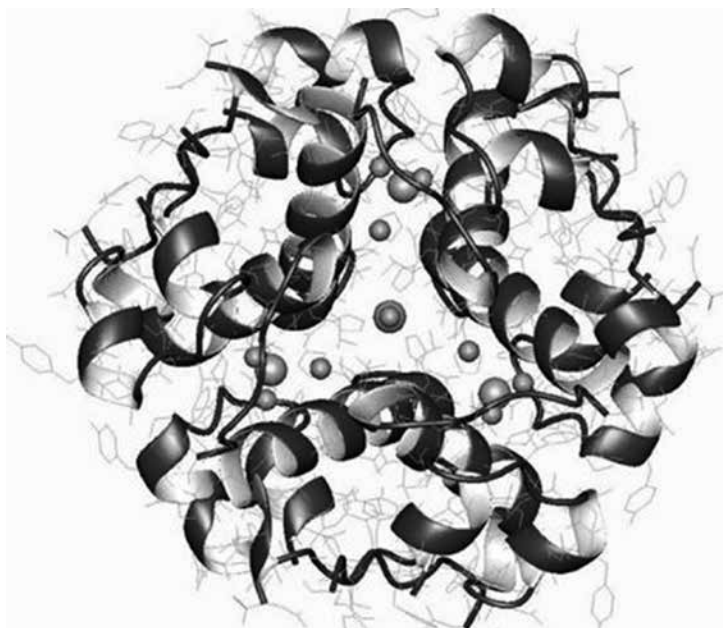
Az orvostudomány már több mint száz éve felismerte, hogy a testünkben lévő fehérjék létfontosságúak az egészségünk megőrzésében. A fehérjék szerepet játszanak sejtjeink működésében, azok szerkezetéért és a bennük zajló folyamatokért is felelősek. Számos gyógyszerkutatás zajlik jelenleg is azért, hogy ezeket a molekulákat az orvostudomány szolgálatába állítsák, a gyógyászatban pedig egyre nagyobb hangsúlyt kap a belőlük készült, úgynevezett biológiai gyógyszerek használata.

Az élő szervezetekből kinyert fehérje természetű készítmények orvosi alkalmazása a cukorbetegség számára elengedhetetlen inzulinnal kezdődött. Az influenzajárvány előtt kiosztott védőoltásoknál, számos daganatos és autoimmun betegség esetén használnak ilyen szereket. Biologikumoknak is hívják ezeket a fehérje természetű gyógyszereket, melyeket mesterségesen átprogramozott sejtek termelnek. Előállításuk során módosított géneket ültetnek valamilyen élő sejtbe, amellyel a kívánt fehérje termelésére ösztönzik azt. Az emberi szervezethez jobban illeszkedő, a kémiai hatóanyagoknál nagyobb specificitást mutató gyógyszerek előállításának megvan az „ára”, hiszen jóval összetettebb és bonyolultabb technológiát igényelnek. Emellett fehérje természetűkből adódva szerkezetük heterogén. Ezeknek a készítményeknek bonyolult és költséges az előállítása.

Jelenleg 350 millió embert kezelnek világszerte biológiai készítményekkel eredményesen: a biológiai gyógyszerek új reményt adhatnak például a sclerosis multiplexben, gyulladásoz ízületi megbetegedésekben, rákban, Crohn-betegségben, cukorbetegségben, valamint májgyulladásban szenvedő betegek számára.

A biológiai gyógyszerek a kémiai úton előállított szereknél sokkal nagyobb méretű molekulák: míg például a népszerű hazai (acetilszalicilsav hatóanyagú) fájdalomcsillapító (Aspirin) 21 atomból épül fel, a biológiai úton gyártott inzulin már 788 atomból áll (3. ábra). A még komplexebb antitestek akár 20 000 atomból is állhatnak.

Számos érv szól ezen szerekek használata mellett. A biológiai terápiák célzottak, tehát a betegség általános, uniformizált kezelési módja helyett a betegséget kiváltó mechanizmusra hatnak. 2011-ben 650 új biologikumot fejlesztettek ki, a lendület pedig azóta sem hagy alább, száznál is több betegség kezelésére van már lehetőség az új terápiákkal.



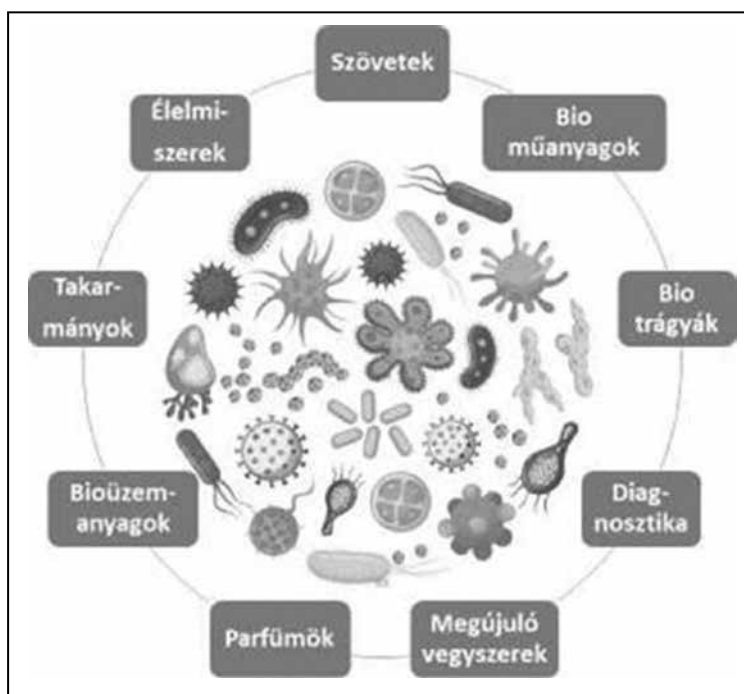
3. ábra A humán inzulin szerkezete (hexamer)

A jelenlegi pandémiát okozó koronavírus ellen is ilyen típusú gyógyszer gyors kifejlesztésében bizakodhatunk. Ez a hatóanyag egy fúziós fehérje, két fő egységből áll. Az egyik része egy molekuláris csapda, ugyanis a vírus a tüdőben a hámsejtek felszínén lévő ACE2-receptorhoz kapcsolódik, így jut a sejtekbe. Ha ebből a molekulából nagyon sokat be tudnak juttatni a szervezetbe, akkor a COVID-19 vírus ezekhez fog kötődni ahelyett, hogy a sejteket ölné meg. Nemcsak a bekerült vírusokat semlegesíti, hanem a már beteg szervezetben hatalmas mennyiségben termelődő újabbakat is. A fúziós fehérje másik része pedig egy antitest meghatározó szakasza, ami azért felelős, hogy hosszú heteken át keringjen a szervezetben a gyógyszer, lassabb legyen a kiürülés. Ezt a molekuláris elemet már huszonöt-harminc éve használják, az antitest-terápia különösen a rákkezelésben és a krónikus gyulladások kapcsán vált be és bizonyítottan biztonságos. Az alegységek külön-külön bizonyítottan nem veszélyesek, de együtt egy új molekulát alkotnak, ami eddig nem fordult elő az ember szervezetében, vagyis a továbbiakban preklinikai és klinikai tesztekre van még szükség. A bonyolult előállítás után ezek a vizsgálatok határozzák meg az új gyógyszer elkészültét.

A kémiai úton előállított szintetikus szerek teszik ki jelenleg a gyógyszertárak kínálatának 95 százalékát (a fájdalom- és lázcsillapítóktól kezdve az antibiotikumokon keresztül a bétablokkolókkal bezárólag szinte az összes gyógyszer kémiai eredetű), a gyógyszerfejlesztések több mint 50 százaléka viszont már biotechnológiával készült gyógyszerre irányul. A jövő azért a biotechnológiával előállított gyógyszereké, mert a tünetek helyett a betegségek okát célozzák meg, ezért ezekkel a szerekkel a hagyományos kezeléseknél gyakran sokkal jobb

eredmények érhetőek el. Különösen a daganatos betegségek kezelésében, ahol a hagyományos kemoterápiás gyógykezelések a ráktípustól függően csak 20-75 százalékban hatásosak.

Manapság a mikrobiológia a modern globális ipar egyik fő szereplője. Nehéz elhinni, hogy az egész 80 évvel ezelőtt kezdődött el a citromsav fermentációjával. A fejlett országok várható élettartamának megkétszereződése nagymértékben az antibiotikumok felfedezésének és kiaknázásának köszönhető. A modern genetika és a molekuláris biológia felfedezéseivel mindössze 50 évvel ezelőtt indult az első biotechnológiai cég. Ma ez a biotechnológiai iparág látványos előrelépéseket tesz az orvostudományban. A legjobb még csak ezután jön, mivel a mikroorganizmusok beköltöznek a gyógyszergyártásból és az élelmiszeriparból a környezetvédelmi és az energiaszektorba is (4. ábra), amint azt Louis Pasteur sok évvel ezelőtt kijelentette: „A mikrobáé lesz az utolsó szó.”



4. ábra Az ipari biotechnológia fejlődésben lévő területei

#### Felhasznált irodalom

Diggins, F.: The true history of the discovery of penicillin by Alexander Fleming Biomedical Scientist, Institute of Biomedical Sciences, London (March 2003)

biography.com Alexander Fleming

Fekete Erzsébet– Karaffa Levente: Ipari Biotechnológia tankönyv, Debreceni Egyetem (2013)

Arnold L. Demain: The business of biotechnology, Industrial Biotechnology (2007)