



1998-2000

תקופת המחקר:

204-0381-00

קוד מחקר:

שם פיתוח טכנולוגיות ליצור חומרים בעלי פעילות רפואית מתרבויות תאי גפן

שם

DEVELOPMENT OF TECHNOLOGIES TO PRODUCE PHARMACEUTICALLY ACTIVE  
COMPOUNDS IN GRAPE CELL-SUSPENSIONS

המחקר:

מוסד: מינהל המחקר החקלאי, ת.ד. 6 בית דגן 50250

חוקר ראשי: דר' אביחי פרל

מאמרים:

חוקרים שותפים: פרופ' רות בן-אריה, מר נחמן סהר, דר' רחל גולופ, דר' אפרים לוינסון, גברת זהר שחם, גברת שרון פרחי

### תקציר

מטרת המחקר: פיתוח טכנולוגיות יצור של רסוורטרול. הרסוורטרול הוכח לאחרונה כיעיל ביותר במלחמה בגידולים סרטניים. מחקר זה הוא נועד לפתח טכנולוגיה ליצור חומרים אילו מתרחיף תאי גפן בתרבית. באופן טבעי חומרים אילו אינם נמצא בתנאים רגילים אלא דרושה אינדוקציה (אליסיטציה) ליצורם. במחקר הושם דגש על פיתוח שיטות אליסיטציה נוחות וידידותיות לסביבה. אנו צופים ביקוש נרחב בעתיד לחומר זה, זאת במיוחד לאור פרסום ממצאים אחרונים המצביעים בברור על הפוטנציאל של הרסוורטרול כתרופה אנטי-סרטנית.

מהלך ושיטות העבודה: פיתוח תרביות תאים מייצרות רסוורטרול ברמות גבוהות, פיתוח שיטות אליסיטציה, בחינת רמת יצור אופטימלית של רסוורטרול, בדוד הגן Stilbene synthase המהווה אנזים מפתח ביצור רסוורטרול והטמרה שלו בתאי גפן.

תוצאות עיקריות:

ברשותנו התוצאות הבאות בתחומים הבאים:

1. תרביות תאים אדומות המייצרות רמות גבוהות של רסוורטרול.
2. הטכנולוגיה להשרות יצור זה בעזרת אליסיטציה יעילה.
3. האכלה של תאי התרבית בקדמים ושילוב טיפול זה עם אליסיטציות שונות.
4. קו מהונדס של תאי גפן טרנסגניים.

מסקנות והמלצות:

לרסוורטרול חשיבות פרמקולוגית רבה כאנטיאוקסידנט וכחומר אנטי-סרטני.

השוק הפוטנציאלי שאנו צופים לחומרים אילו מתמקד בשלושה תחומים:

1. תעשיית המזון כצרכנית של אנטי-אוקסידנטים טבעיים בעלי פעילות גבוהה בהרבה מזה של הויטמינים הידועים כאנטי-אוקסידנטים E, C.

2. מקור מהימן וסטרילי להספקת חומר גלם (תאי גפן מיובשים מהתרבית) לתעשיית התרופות.

3. שימוש ברסוורטרול, שהינו גם חומר אנטי-פונגלי טבעי, בריסוס על תוצרת חקלאית במהלך האחסון כטכנולוגיה אפשרית למניעת רקבונות (בעיקר בוטריטיס) ושפור חיי המדף.

## דוח מסכם לשנים 1998 - 2000

### פתוח טכנולוגיות ליצור חומרים בעלי פעילות רפואית מתרביות תאי

גפן

אבי פרל, בן-אריה רות, לוינסון אפרים ורחל גולופ. המחלקה להשבחת מטעים והמחלקה לאחסון, מכון וולקני, מינהל המחקר החקלאי, ת.ד. 6 בית דגן, 50250. תחנת נסיונות נווה-יער.

Development of technologies to produce pharmaceutical compounds from grape cell culture

Perl, A., Ben-Arie, R., Levinson, E. and Gollop, R. The Departments of Fruit Tree Breeding and Molecular Genetics and Fruit Storage, The Volcani Center, ARO, P.O.Box 6 Bet-Dagan, 50250 ; and Research Station Neve Yaar.

email: VHLPERL@VOLCANI.AGRI.GOV.IL

### תקציר:

**מטרת המחקר:** פיתוח טכנולוגיות יצור של רסורטרול. הרסורטרול הוכח לאחרונה כיעיל ביותר במלחמה בגדולים סרטניים. מחקר זה היא נועד לפתח טכנולוגיה ליצור חומרים אילו מתרחיף תאי גפן בתרבית. באופן טיבעי חומרים אילו אינם נמצא בתנאים רגילים אלא דרושה אינדוקציה (אליסיטציה) ליצורם. במחקר הושם דגש על פיתוח שיטות אליסיטציה נוחות וידידותיות לסביבה. אנו צופים ביקוש נרחב בעתיד לחומר זה, זאת במיוחד לאור פרסום ממצאים אחרונים המצביעים בברור על הפוטנציאל של הרסורטרול כתרופה אנטי-סרטנית.

**מהלך ושיטות העבודה:** פיתוח תרביות תאים מיצרות רסורטרול ברמות גבוהות, פיתוח

שיטות אליסיטציה, בחינת רמת יצור אופטימלית של רסורטרול, בדוד הגן Stilbene

synthase המהווה אנזים מפתח ביצור סורטרול והתמרתו בתאי גפן.

### תוצאות עיקריות:

ברשותנו התוצאות הבאות בתחומים הבאים:

1. תרביות תאים אדומות המיצרות רמות גבוהות של רסורטרול.
2. הטכנולוגיה להשרות יצור זה בעזרת אליסיטציה יעילה.
3. האכלה של תאי התרבית בקדמים ושילוב טיפול זה עם אליסיטציות שונות.
4. קו מהונדס של תאי גפן טרנסגניים.

## מסקנות והמלצות:

לרסוורטרול חשיבות פרמקולוגית רבה כאנטיאוקסיד וכחומר אנטי-סרטני. השוק הפוטנציאלי שאנו צופים לחומרים אילו מתמקד בשלושה תחומים:

1. תעשית המזון כצרכנית של אנטי-אוקסידנטים טיבעיים בעלי פעילות גבוהה בהרבה מזה של הויטמינים הידועים כאנטי-אוקסידנטים E, C.
2. מקור מהימן וסטרילי להספקת חומר גלם (תאי גפן מיובשים מהתרבית) לתעשית התרופות.
3. שמוש ברסוורטרול, שהינו גם חומר אנטי-פונגלי טבעי, ברסוס על תוצרת חקלאית במהלך האחסון כטכנולוגיה אפשרית למניעת רקבונות (בעיקר בוטריטיס) ושפור חיי המדף.

## מבוא ומטרת המחקר:

Resveratrol מוכר בספרות המדעית כפיטואלקסין המעורב בעמידות לבוטריטיס

בגפן. אנזים המפתח המיצר אותו הוא (STS) *Stylbene synthase* המנצל

*malonyl-CoA* ו *p-coumaroyl-CoA* כסובסטרטים. בעיקרון ניתן לייצר רסוורטרול בכל תא צימחי המכיל סובסטרטים אילו אולם בטבע הוא מיוצר במספר צמחים מועט בהם המוכרים ביותר הם בוטן האדמה והגפן. רמתו בצמח באופן טיבעי נמוכה ביותר אולם עם הופעת פתוגן התוקף את הצמח, ניתן היה לזהות עליה משמעותית ברמתו כאמצעי הגנה של הגפן כנגד המתקיף. עליה זו נבעה מתהליך אינוקטיבי בו נוכחות הפתוגן משרה את האינדוקציה (אליסיטציה) ליצור יתר של הרסוורטרול. המקור הטיבעי העשיר ביותר הרסוורטרול הינו היין האדום. ואכן שתית יין בכמות של 250 מ"ל ליום מספקת לגוף כמויות רסוורטרול הממומלצות ע"י גורמי תזונה עולמיים. אולם שתית יין בכמות מרובה עלולה לגרום להפרעות נוספות הקשורות לאלכוהוליזם ולכן אינן מומלצות לצבור הרחב. מוצרים אחרים שנמצאים כיום בשוק, המיוצרים מפסולת יקבים ומתיימרים להכיל רסוורטרול, נמצאו כחסרי פעילות!

תאים של ענבים אדומים שנשתלו בתרבית ממשיכים "לזכור" את מוצאם וממשיכים ליצר גם במהלך הגידול בתרבית את הפיגמנט האדום האופיני ליין וכן גם את הרסוורטרול באם יעברו תהליך אינדוקטיבי מתאים.

הרסוורטרול הוכח כאנטיאוקסידנט טיבעי, יעיל ביותר: פעילותו גבוהה, פי 50, בהשוואה לויטמין C ופי 20 בהשוואה לויטמין E. הרסוורטרול הוכח גם לאחרונה כיעיל ביותר במלחמה בגידולים סרטניים ונמצא המעכב חזק ביותר של התפתחות גידולים סרטניים בכול אחד השלושת השלבים המאפיינים התפתחות גידול.

מטרת מחקר זה היא פתוח הטכנולוגיות ליצור רסוורטרול מתרחיף תאי גפן בתרבית תוך שימת דגש על פתוח טכנולוגיות גידול זולות ויחודיות שניתנות להגנה פטנטית. מאחר בידנו נמצא אחד הגנים המקדד לאנזים מפתח במסלול הביוסינטזה של רסוורטרול, נשאף

להנדס גנטית תרביות תאים ולפתח טכנולוגיות יצור גם לתאי תרבית אילו שיבטאו בעודף חלבון זה. אנו צופים ביקוש נרחב בעתיד לחומרים אילו, זאת במיוחד לאור פרסום ממצאים אחרונים במראים פוטנציאל של רסוורטרול כתרופה אנטי-סרטנית. יש יתרון יחסי ברור לחומרים שמיוצרים טיבעית על אילו המסונטזים כימית, הפקת רסוורטרול למשל, בסינטזה כימית, יקרה, מסובכת והשימוש בו כתרופה דורש שלבי ניקוי נוספים מממיסים אורגניים הדרושים ליצורו ורעילים לצרכנים.

המחקר התמקד בזיהוי משרנים (אליסיטורים) ידידותיים לאדם ואף לסביבה. חשיבות אליסטור כזה רבה ביותר. ידוע למשל כי חשיפה לאור UV הינה אליסיטור הזמין והיעיל ביותר להשרית יצור רסוורטרול. ברם, באם פנינו מועדות לשימוש בתאים שעברו חשיפה ל UV למאכל אדם, ניצבת בפנינו בעיה. שלטונות הבריאות ידרשו הוכחות שחשיפה לגורם מוטגני כגון UV, לא השרתה בתאים בנוסף ליצור רסוורטרול, גם יצור של חומרים מסוכנים, רעילים או קרצינוגניים. נטל ההוכחה מורכב, יקר ויכול להוות בעיה במסחור רסוורטרול ממקור תאי גפן לאחר אליסיטציה.

### פירוט הניסויים שבוצעו והתוצאות שהתקבלו:

המחקר התמקד באספקטים הבאים:

1. פיתוח כיוול וסנכרון תנאי הגידול בתרבית שיאפשרו יצור מקסימלי של רסוורטרול. מניפולציות של הרכב מצע הגדול, תנאי הארה ואורך הגל.
2. פיתוח טכנולוגיות להגברת רמת היצור ע"י אליסיטציה, פיתוח שיטות אליסיטציה שונות לקבלת מקסימום רסוורטרול מתרבית התאים.
3. מתן פריקורסרים חיוניים למסלול המטבולי.
4. השלמת בנית הקונסטרוקטים שיאפשרו בטוי ביתר של רסוורטרול.
5. טרנספורמציה בעזרת אגרובקטריום של תאי הגפן בתרבית.
6. במהלך כל המחקר, נקוי ובדוד רסוורטרול וזהו רמתו בעזרת HPLC.

להלן פירוט יתר של התוצאות שהושגו. התוצאות בגרפים הבאים מוצגות באופן יחסי לרמת הרסוורטרול בתאים שלא עברו תהליך של אליסיטציה.

#### **אופטימיזציה של מצעי גידול לתאי גפן**

בשלב ראשוני של הפרויקט נבחנו מצעים שונים והתאמתם הן לגידול נמרץ של תאים בעלי פיגמנטציה אדומה חזקה והן יצור מקסימלי של רסוורטרול. מצע המזון המכיל מלחים של B5 וויטמינים של MS נבחר כמצע המזון הבסיסי האופטימלי. לאחר סריקה של מגוון אוקסינים וציטוקינים שונים, נמצאו NAA ו Kinetin כהורמונים שאפשרו גידול נמרץ ביותר של תאי התרבית. במצע זה נעשה שמוש בכל הנסיונות המתוארים בדוח זה. ניתן היה לראות כי במצע גידול זה התאפשר יצור רסוורטרול לאחר 24-48 שעות כתגובה לאליסיטציות שונות

כפי שנראה באיור 1 ויפורט בהמשך בצורה נרחבת יותר.

### שיטה לזיהוי ובדוד רסוורטרול

לאחר בחינת מספר שיטות להפקה, ניקוי וזיהוי רסוורטרול החלטנו להתמקד בשיטה הבאה: רסוורטרול זוהה בעזרת HPLC בהרצה עם גרדיאנט מתנול וזיהוי באורך גל של 306nm ובשמוש בקולונה של "Luna2", Phenomenex. כסטנדרטים נעשה שמוש החומרים הבאים: Gallic acid - 5.05 min, chlorogenic acid - 11.79 min, (-)-epicatechin - 12.68, caffeic acid - 13.42 min, p-coumaric acid - 17.90, ellagic acid - 21.53, resveratrol - 25.23, and quercetin - 33.93 min.

הנושא העיקרי שנלמד בעבודה זו היה השפעת אליסיטציות שונות והוספת קדמים (פריקורסורים) למצע הגידול על יצור הרסוורטרול. לכן, בחרנו להציג את התוצאות בגרפים הבאים לא בערכים מוחלטים של רסוורטרול לגרם-תאים, אלא באופן יחסי. כלומר, בהשוואה ליצור הרסוורטרול באותם התאים, באותם תנאי הגידול, אך ללא גורם האליסיטציה שנבחן.

### טרנספורמציה של תאי גפן בעזרת הגן המקדד לאנזים Stylbene synthase (STS)

במהלך הפרויקט במגמה להגביר את יצור הרסוורטרול בתאי גפן התמרנו תאי גפן שמקורם מפרי אדום בגן המקדד לאנזים Stylbene synthase שהוא אנזים מפתח במסלול הביוסינתזה של הרסוורטרול. אחד הדברים שהיה ענין לבדוק, היה האם באמת אנזים זה מהווה את צואר הבקבוק ביצור רסוורטרול וכן כיצד יושפע יצור הרסוורטרול בתאים טרנסגניים על תגובתם לאליסיטציה. התאים הותמרו בעזרת חיידק אגרובקטריום בשיטות שפותחו במעבדה בעבר. הגן המקדד ל STS היה תחת בקרה של אחד הפרומוטורים המבקרים ביטוי של חלבוני PR מאספספת. כלומר פרומוטר אינוקטיבי. לאחר סלקציה, בודדו מספר קוי תאים טרנסגניים על-סמך עמידותם לקנמיצין. בבדיקת רמת הרסוורטרול נמצא כי תאים טרנסגניים מכילים באופן קבוע פי 5 יותר רסוורטרול מאשר תאי בקורת. לעומת זאת, לאחר אליסיטציה בעזרת חשיפה לאור UV, נמצא כי התאים הטרנסגניים לא מיצרים יותר רסוורטרול ואילו רמת היצור בתאי הבקורת עלתה והתיצבה ברמה זהה כמעט לזו שמוצרת בתאים הטרנסגניים (איור 1).

### שמוש בסיליקה כאליסטור ליצור רסוורטרול

במסגרת החיפוש אחר אליסיטורים אינרטיים וידידותיים לסביבה בחנו את השפעת הסיליקה על יצור רסוורטרול. סיליקה ברכוזים משתנים הוספה למצע הגידול ורמת הרסוורטרול נבחנה במשל 24, 48 ו 72 שעות לאחר ההוספה. סיליקה לא נמצאה כאליסיטור יעיל. ברוב המיקרים

לא התקבל יותר רסוורטרול בהשוואה לביקורת. בחלק קטן של הריכוזים שנבדקו נמצא עד פי 2 יותר רסוורטרול מאשר בביקורת (איור 3).

### בחינת ההורמון הצימחי Triacontanol כאליסיטור ליצור רסוורטרול

Triacontanol הינו הורמון צימחי חדש יחסית. מבחינה כימית הוא מוגדר כאלכוהול בעל משקל מולקולרי גבוה שזוהה לראשונה בשעוות דבורים. מיוחסים לו השפעות כחומר אנטי-דלקתי וכן כאנטיאוקסידנט. כאשר הוא ניבחן כאליסיטור בטווח ריכוזים רחב נמצא כי השפעתו על יצור רסוורטרול זניחה ולא היתה משופרת יותר בהשוואה לסליקה (איור מס' 4).

### בחינת מרכיבי דופן פטריתיים כאליסיטור ליצור רסוורטרול

ידוע כי יצירת רסוורטרול כפיטואלקסין בגפן משופעלת ע"י נוכחות פטריות פתוגניות. כיטוזן מהווה מרכיב חשוב ויחודי בדופן תאי הפטריה. כיטוזן הומס באיטיות בחומצה חלשה והוסף למצעי הגידול של תאי הגפן בריכוזים משתנים. נמצא כי כ - 72 שעות לאחר ההוספה, רמת הרסוורטרול בנוכחות כיטוזן היתה עד פי 7 יותר גבוהה בהשוואה לביקורת (איור מס' 5).

### השפעת סוג הסוכר ורמתו על יצור של רסוורטרול בתאי גפן בתרבית

נבחנה השפעת סוכרוז או גלוקוז בריכוזים משתנים על אינדוקציה של רסוורטרול בתרבית. ההשוואה התבצעה לסטנדרט המקובל בגידול בתרביות שהוא 3% סוכרוז. בגידול בנוכחות גלוקוז בריכוזים של 6% ו 10% לא נוצר יותר רסוורטרול בהשוואה ל 3% סוכרוז לאורך 7 ימי גידול. לעומת זאת, 6% סוכרוז נמצאו כאופטימליים ואיפשרו יצירת פי 5-6 יותר רסוורטרול בהשוואה ל 3%. עליה ברמת הסוכרוז עד 10% נמצאה כפחות מתאימה ליצור רסוורטרול בהשוואה ל 6% סוכרוז (איור מס' 6).

### מעורבות Jasmonic acid באליסיטציה של יצור רסוורטרול בתרבית

נבחנה הוספה של Methyl jasmonate על אינדוקציה יצור הרסוורטרול בתרביות תאים. בכל טווח הריכוזים שנבחנו, נמצאה עליה של פי 13 - 10 ברמת הרסוורטרול בהשוואה לביקורת. לא נמדדה ישירות רמת ה Jasmonic acid וכן לא נעשתה עבודה נוספת לבירור המנגנון בו מתבצעת אינדוקציה זו (איור מס' 7).

## השפעת O-Coumaric acid (OCA) בשילוב עם אליסיטציות על יצור רסוורטרול

### בתרבות

אחד מאבני הבניין שמנצל התא הצימחי ליצור רסוורטרול הוא חומצה קומרית. קיימים קדמים נוספים של רסוורטרול אך הם יקרים ואין כדאיות כלכלית להשתמש בהם במחקר ישומי זה. לעומת זאת, Coumaric acid הינה מרכיב זול יחסית שניתן להוסיף למצע הגידול. נבדקה השפעתו בשילוב עם אליסיטציה באוזון על יצור רסוורטרול בתרבות. להוספת Coumaric acid נמצאה השפעה משמעותית ביותר על יצור רסוורטרול. מלימולר אחד של Coumaric acid הקפיץ את יצור הרסוורטרול לפי 30 לערך בהשוואה לביקורת ללא אליסיטציה. בשילוב של אליסיטציה עם אוזון נמצא פי 70 יותר רסוורטרול בהשוואה לביקורת. בנוכחות 5 מלימולר Coumaric acid נמצאה הגברה של אותו סדר גודל עם או בלי אליסיטציה (איור 8).

### השפעת מעכבי ביוסינטזה של פרוסטגלנדינים על יצור רסוורטרול בתרבות

החומרים Ibuprofen, Piroxicam ידועים כמעכבי ביוסינטזה של פרוסטגלנדינים בתאי יונקים ומשתייכים לקבוצת ה (NSAID) Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs. ל Ibuprofen, Piroxicam נמצאה יכולת מסוימת להשרות יצור רסוורטרול. בעבודה עם Piroxicam נמצא עד פי 5 רסוורטרול 48 שעות לאחר ההוספה (איור 9) ואילו כאשר הוסף Ibuprofen העליה ברמת הרסוורטרול היתה מוגבלת יותר ונצפתה 24 שעות לאחר ההוספה (איור 10).

### השפעת כסף חנקתי על יצור רסוורטרול בתרבות

נבדקה השפעת הוספת כסף חנקתי על יצור רסוורטרול בתרבות. נצפתה עליה משמעותית מאד של פי 70 בהשוואה לביקורת 24 שעות לאחר הוספת 20 מג/ליטר כסף חנקתי. ריכוזים נמוכים יותר היו פחות יעילים בהשראת יצירת הרסוורטרול. לא ידוע באם האינדוקציה קשורה ליכולת הכסף החנקתי לעכב פעילות אתילן או ההשראה מתבצעת דרך מנגנון אחר (איור 11).

### השפעת גלוקוזידאזות על רמת הרסוורטרול

רסוורטרול יכול להיות "מאוחסן" בקשר גליקוזידי במצבו הלא חופשי בתא. נבחנה הוספת רמות משתנות של אלפא וביתא גלוקוזידאז לגידול התאים על רמת הרסוורטרול החופשי. לא נרשם כל שינוי ברמת הרסוורטרול החופשי הנמדד לאחר הטיפול.

למחקר זה מטרה ישומית ברורה שבהתאם להערכנו ניתנת להשגה. לרסוורטרול חשיבות פרמקולוגית רבה כאנטיאוקסיד וכחומר אנטי-סרטני.

בשלב זה אין בידנו נתונים כלכליים מדויקים על עלויות יצור והיקפי שוק פוטנציאלי. כיום נמכר גרם של רסוורטרול ב \$ 600 ונתונים ראשוניים הצביעו על יכולתנו ליצר 0.4 מיקרוגרם רסוורטרול לכל מ"ל מצע גדול. נתונים אילו שופרו בהרבה במהלך המחקר וכיום ביכולתנו ליצר 1 מ"ג רסוורטרול לכל מ"ל מצע גדול. חשוב להמשיך בבחינת הנושא תוך מעבר לגידול בנפחים גדולים יותר.

השוק הפוטנציאלי שאנו צופים לחומרים אילו מתמקד בשלושה תחומים:

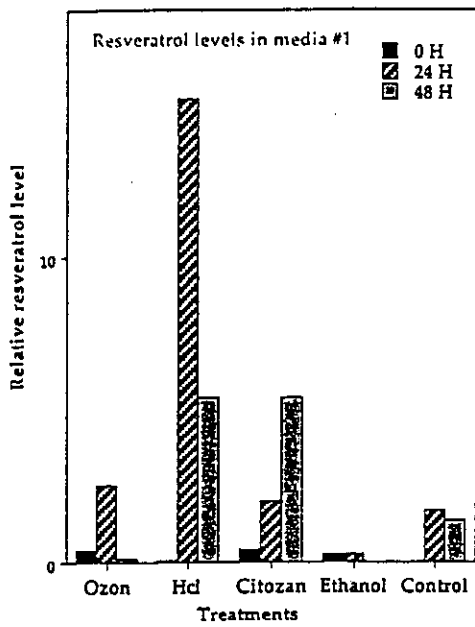
1. תעשית המזון כצרכנית של אנטי-אוקסידנטים טיבעיים בעלי פעילות גבוהה בהרבה מזה של הויטמינים E ו C.

2. קפסולות לצבור (over the counter) המכילות רמות מתונות של החומרים הפעילים מהיין האדום.

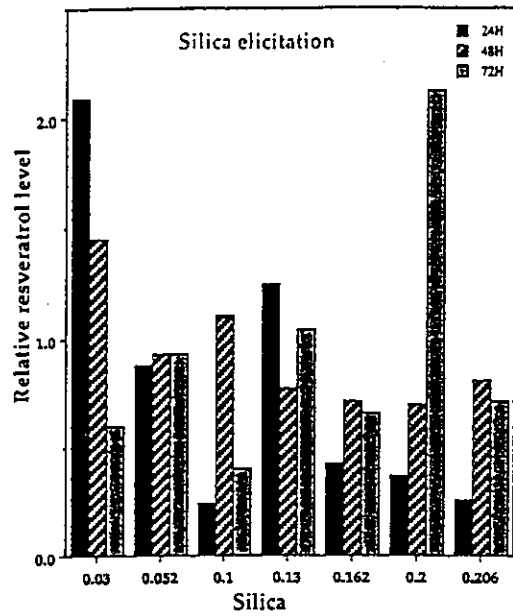
3. מקור מהימן וסטרילי להספקת חומר גלם (תאי גפן מיובשים מהתרבית) לתעשית התרופות.

4. שמוש ברסוורטרול, שהינו גם חומר אנטי-פונגלי טבעי, ברסוס על תוצרת חקלאית במהלך האחסון כטכנולוגיה אפשרית למניעת רקבונות (בעיקר בוטריטיס) ושפור חיי המדף. חשוב להמשיך ההחינת הנושא

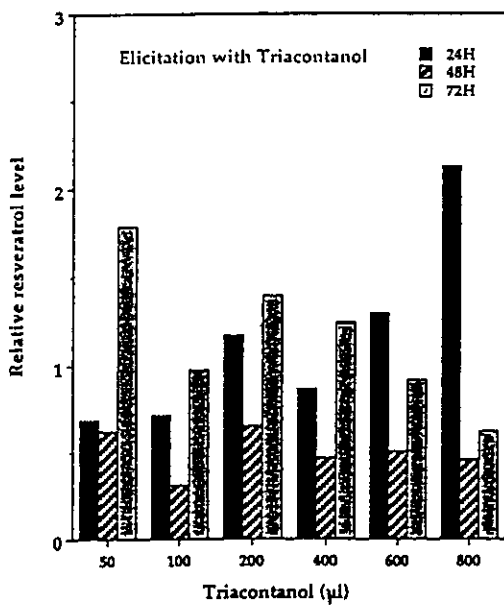




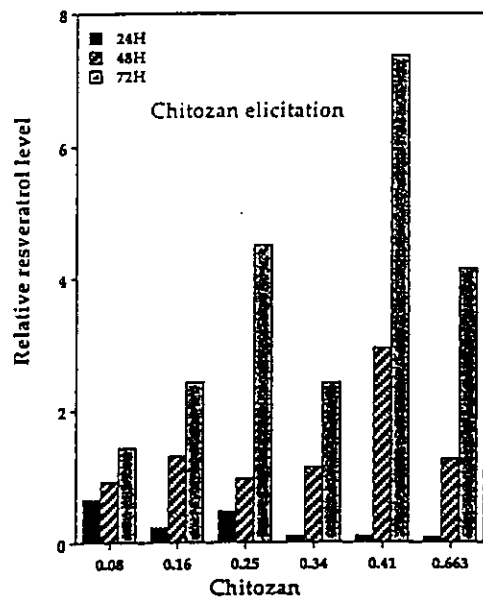
①



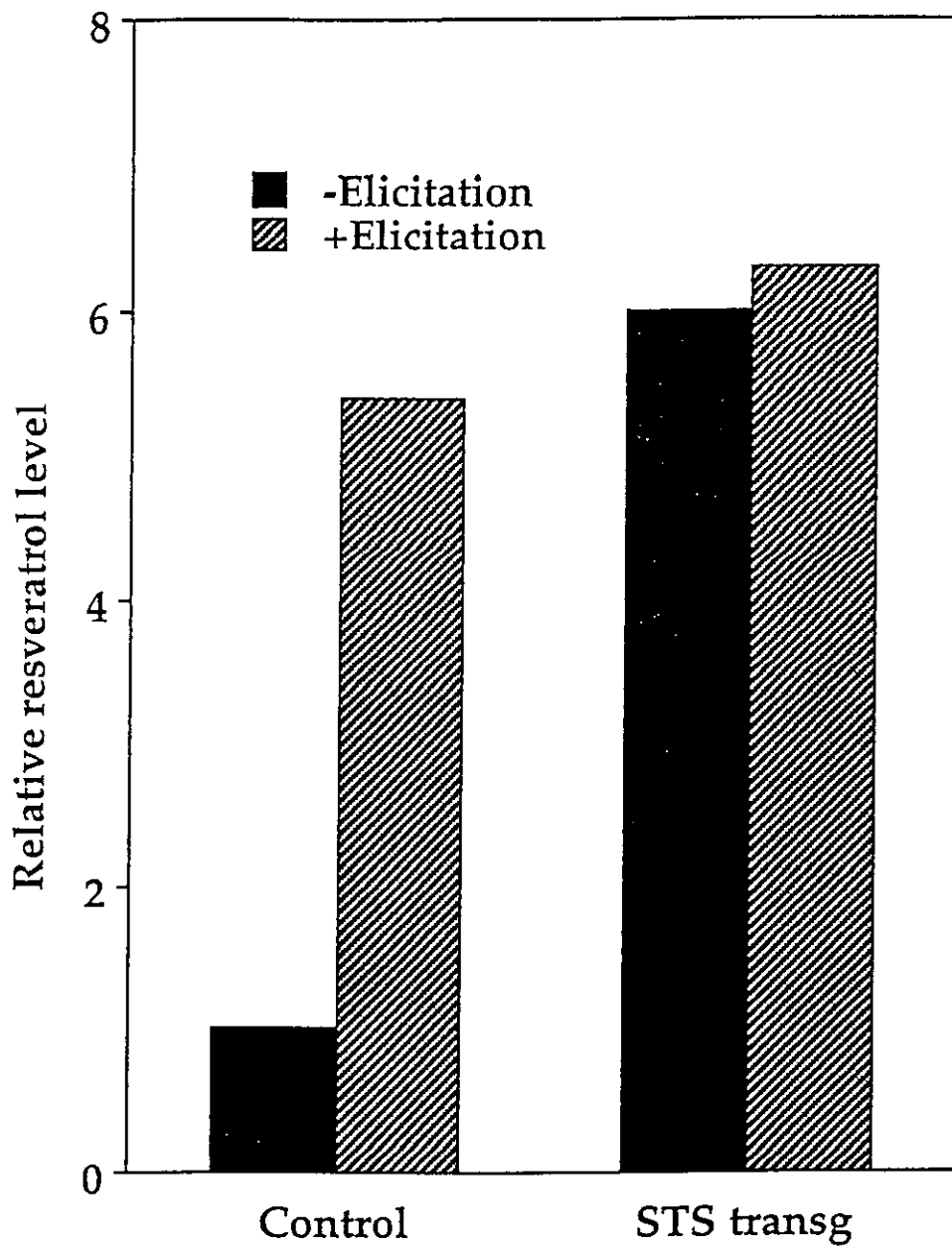
③



④

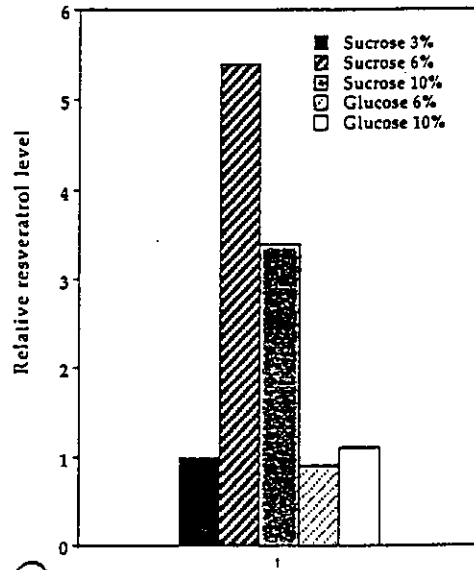


⑤



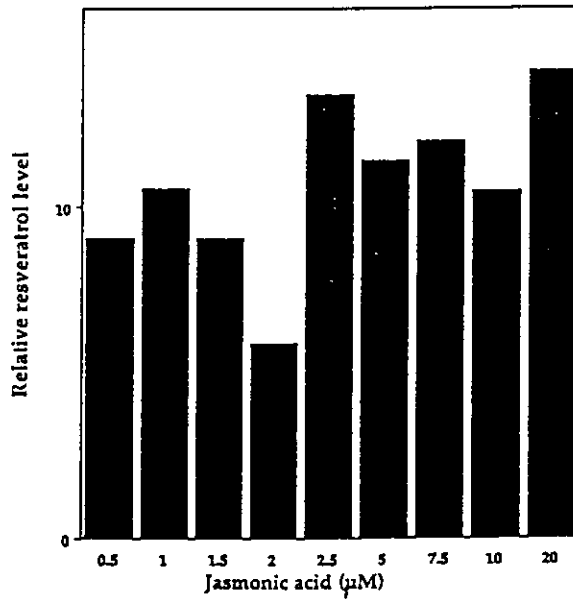
27/10

Effect of sugar concentration on resveratrol level.  
Resveratrol level in 3% sucrose  
(standard conditions was given the value of 1.



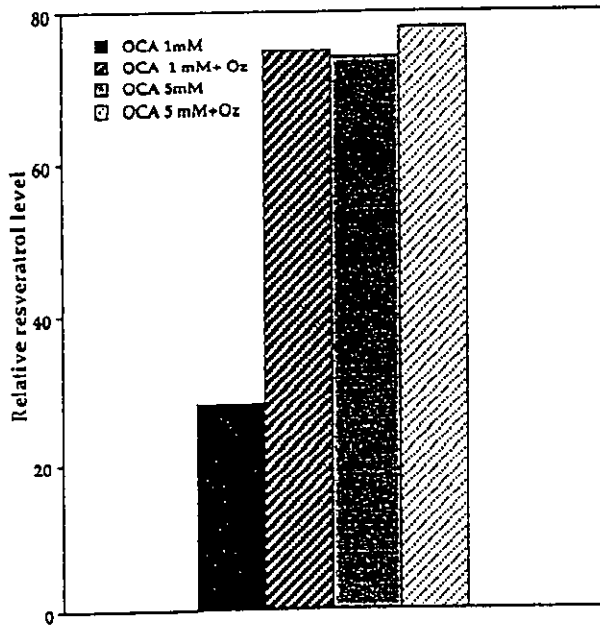
6

Effect of jasmonic acid elicitation on resveratrol production



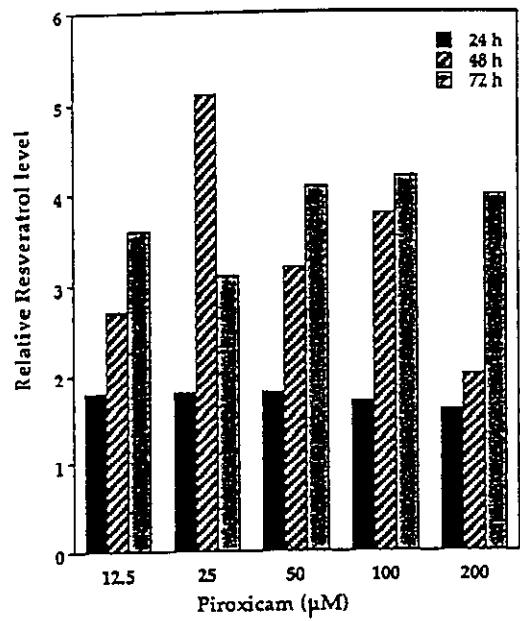
7

Effects of feeding grape cells with O-coumaric acid (OCA) and ozone (Oz) elicitation on resveratrol level



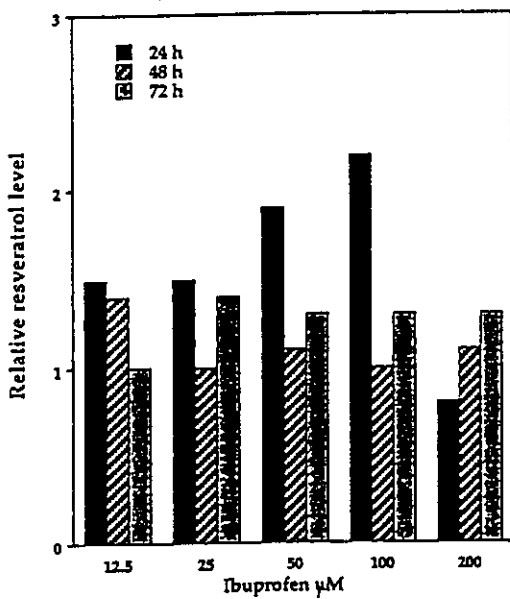
8

Effect of piroxicam elicitation on resveratrol production



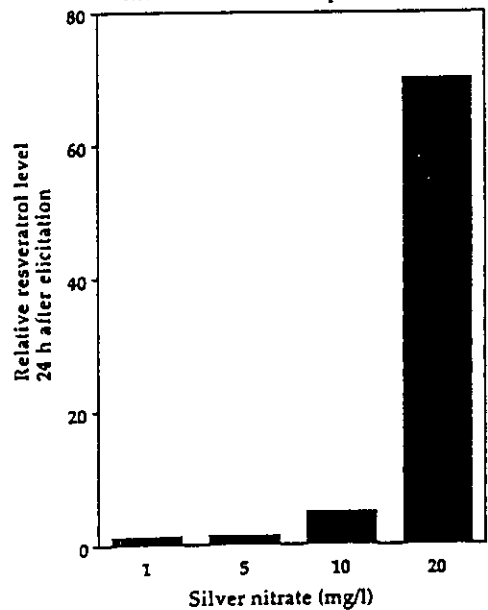
9

Effect of Ibuprofen elicitation on resveratrol production



10

Effect of elicitation using silver nitrate on resveratrol production



11

204-0381-00

## דף סכום יצירת חומרים בעלי פעילות רפואית בתרבויות תאי גפן

1998 - 2000

1. מטרת המחקר לתקופת הדו"ח תוך התייחסות לתוכנית העבודה.  
פיתוח תרבויות תאי גפן אדומה המבטאים לאחר טיפולי אליסיטציה רסורטרול ברמות גבוהות.
2. עיקרי הניסויים והתוצאות שהושגו בתקופה אליה מתייחס הדו"ח.  
פיתוח תנאי גידול תאים אופטימליים, פיתוח טכניקות אליסיטציה שיחד עם תנאי הגדול האופטימליים והאכלה בקדמים של המסלול המטבולי יבטיחו יצור רסורטרול ברמות גבוהות בתרבות. ראה דוח מלא.
3. המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר.  
פרויקט שיכול להפוך מסחרי תוך זמן קצר. חומר חשוב לתעשיית המזון, קוסמטיקה ותעשייה פארמציבטית. פעיל כאנטי-אוקסידנט וחומר אנטי-סרטני.
4. הבעיות שנותרו לפתרון ו/או השינויים שחלו במהלך העבודה (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים); התייחסות המשך המחקר לגביהן.  
המשך פתוח שיטות גידול לתאים בנפחים גבוהים (פרמנטורים), שיבוט גנים נוספים וביטויים בתאים טרנסגניים.
5. האם הוחל כבר בהפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח - יש לפרט: פרסומים - כמקובל בביבליוגרפיה, פטנטים - יש לצין מס' פטנט, הרצאות וימי עיון - יש לפרט מקום ותאריך.