



## A humán-állat kimérák távlatai

---

**Aki tájékozott a tudományos hírekben, minden bizonnyal értesülhetett már arról az újdonságról, hogy a kaliforniai Salk Intézetben Izpisua Belmonte és Jun Wu vezetésével sikeres eredményeket értek el kutatók humán-sertés hibrid embrió létrehozásában. Ez azért is számít nagy előrelépésnek e téren, mert az eddigi humán őssejtekkel végzett hasonló kísérletek többnyire kudarcba fulladtak, a hibrid embriók korai stádiumban elpusztultak, illetve nem alakultak ki életképes kimérák.**

A kimérákra jellemző, hogy kettőnél több ivarsejtből jöttek létre, illetve esetünkben, hogy kettő vagy több faj DNS állományát is hordozzák a különböző eredetű sejtek. Ez a „többszínűség” genetikai mozaikosságot hoz létre a fejlődő embrióban. Ezeknek a kísérletsorozatoknak köszönhetően a jövőben talán lehetőség adódik, hogy különböző, erre a célra alkalmas állatokban növezzünk emberi szöveteket, szerveket, melyeket aztán transzplantációs műtétek során felhasználhatunk, megoldva például a donorhiány problémáját is. Gondoljunk csak bele, mennyivel egyszerűbb lenne például egy sertésben növesztett szervet, szervrészletet átültetni emberbe műtét során, mintsem különböző humán forrásokat alkalmazni. Erre azonban valószínűleg még éveket kell várunk.

Izpisua Belmonte és Jun Wu kaliforniai kutatócsoportja első lépésként azonban egy patkány-egér kiméra embrió létrehozásával foglalatzkodott a humán őssejtekkel való kísérletek megkezdése előtt. (E téren korábban, már 2010-ben is születtek sikeres kísérletek, publikációk, ahol egérben növesztettek patkány hasnyálmirigyet).

Ehhez patkány sejteket ültettek be módosított egér embriókba, és ezek fejlődését vizsgálták. Az injektlást megelőzően az egér embriókban olyan génmódosításokat alkalmaztak, melyek megkönnyítették a kiméra fejlődésének követését. Ennek megvalósításához a manapság igen népszerű CRISPR-Cas9 génmódosítási rendszert alkalmazták. A módszer lényege, hogy célzottan DNS szekvenciát lehet kihalászni, majd ezt követően az általunk kiválasztott DNS



részleteket beilleszteni a kettős hasítás helyére. A folyamat során a Cas9 enzim végzi a DNS hasítását: a célzott genomszakasz „kivágását”. Egy sgRNS komplex (single-guide RNS) vezeti a Cas9 enzimet a hasítandó szekvenciához, ezt követően pedig az enzim kivágja a célzott DNS szakaszt, amely ennek következtében degradálódik, lebomlik. Ezzel a módszerrel a kaliforniai kutatócsoportnak lehetősége nyílt a fejlődő egér embrióban olyan géneket inaktiválni, melyek bizonyos szervek kialakításában játszanak döntő szerepet. Így például a szívnél, szemeknél, vagy a hasnyálmirigynél.

Belmonte és csapata az előbb említett génmódosítási módszerrel elsőként az egér Pdx1 génjét kapcsolták ki, Cas9 mRNS és Pdx1 sgRNS zigótába történő együttes injektálásával. Ez a Pdx1 gén nélkülözhetetlen a hasnyálmirigy fejlődésében. Hasonló módszerrel kioltották a zigóta Nkx2.5 génjét, mely a szív embrionális fejlődésénél tölt be jelentős szerepet, és a Pax6-ot kódoló gént, mely transzkripció faktor a szemek, orr, és agy fejlődésében lényeges a fejlődő embrióknál. A módosított egér zigóta sejtjei mellé ezt követően beültették a patkány őssejteket. Az injektálást követően azt tapasztalták, hogy a fejlődő embrióban, a „kiütött” gének funkcióját a beültetett patkány sejtek megfelelő génjei vették át, úgynevezett komplementáció történt, így az egyedfejlődés során az eredetileg kiesett funkciók ellenére működőképes szervek fejlődtek ki. A kimérák többsége a felnőttkort is elérte, és akadt közöttük egy, amely két évet élt le. Ezzel bebizonyosodott, hogy az adott esetben a beültetett sejtek genetikai állománya képes átvenni a hiányzó gének funkcióit, így szintetizálódhatnak az életképességhez szükséges fehérjék, szöveteket, szerveket formálva.

Ugyan ezt a módszert elvégezve, beültetett patkány sejtek epehólyagot is képesek voltak kialakítani a fejlődő egér-patkány embrióban, noha a patkányok az evolúciós fejlődésük során megváltak ettől a képességüktől. Jun Wu szerint ez azzal magyarázható, hogy a patkányok genetikailag rendelkeznek az epehólyag kialakításának képességével, azonban a genetikai programjuk ezt módosítja, felülírja, és egyedfejlődésük során nem alakul ki náluk ez a szerv, azonban más mikrokörnyezetben – egér embrióban – nincs, ami „elnyomja” az epehólyag kialakulásának képességét.

Ezt követték a humán sejt kísérletek, melyek során az emberi pluripotens őssejtek állati embrióba való injektálásával próbálkoztak. Ezekről az említett pluripotens őssejtekről tudni



kell, hogy csökkent potenciállal (differenciálódási képességgel) rendelkeznek, nem képesek extraembrionális szövetek (mint például az embriót körülvevő burok) létrehozására, viszont még a fejlődő embrió saját sejtjein kívül az ivarsejteket is képesek kialakítani. Ilyen pluripotens sejtek találhatóak az embriókban is. Ezek a sejtek normális körülmények között fokozatosan veszítik a differenciálódási képességüket, és egyre kevesebb sejtípust képesek formálni. Azonban mesterséges körülmények között, az embrióból kiszakítva, bizonyos tényezők fenntartása mellett fenntarthatóak és alkalmazhatóak, például más embriókba történő injektálásra is. Belmonte és kutatócsoportja az etikai ellenvetéseket elkerülve indukált pluripotens őssejteket (iPSC) használtak fel, melyek differenciált, „adult” sejtekből bizonyos faktorok (Yamanaka faktorok) segítségével alakíthatók vissza őssejteké. Így történt ez az alkalmazott humán sejtvonalak esetén is.

Ezt követően a kutatók alkalmas gazdaszervezetet kerestek, mely során legalkalmasabbnak a sertések és a szarvasmarhák bizonyultak, azonban a szarvasmarha embriókkal végzett injektálások költségesebbnak és nehezkesebbnek ígérkeztek. A sertés embriók mellett szólt továbbá az is, hogy a szerveik méretben, működésben és anatómiai felépítésben is nagyfokú hasonlóságot mutatnak az emberi szervekkel. A másik fontos eldöntendő kérdésnek a beinjektálandó őssejt típusa adódott. Az úgynevezett „naiv” (alapállapotú, teljes értékű őssejtek) és a „primed” (aktivált) - előrehaladottabb őssejtek nem bizonyultak sikeresnek az injektálások során. Ezzel szemben a két előbb említett sejtípuson kívül a köztes (intermedier) differenciáltságú sejtek megfelelő eredményeket hoztak a kísérletek során, így ezzel a sejtípussal folytatódtak az embriókba történő sejtbeültetések.

A kísérletek során a kutatócsoport 1298 sertésekből származó zigótát, 1004 kétsejtes embriót és 91 morulát (sorozatos sejtosztódásokon átesett zigóta) választott ki, és ezekből összesen 2181 jó állapotú blasztocisztát (a morulából létrejövő többsejtes képződmény) tudtak megtartani a további kísérletekre. Ezt követte a humán pluripotens őssejtek beinjektálása a zigóták blasztocöl (az embrió sejtjei által közrefogott belső üreg) részébe. Az injektáláshoz az embriók külső burkát (zona pellucida) lézerrel ütötték át, amelyen keresztül így bejuttathatóvá váltak a humán őssejtek. Az eljárás során általában 3-10 sejtet helyeztek be, majd az alkalmas állapotban lévő zigótákat sertés kocákba ültették be, és figyelték az



embriók további fejlődését. Az embriók 3-4 hetes vizsgált fejlődési időszaka alatt a kimérákban a normál sertés sejtek mellett az intermedier humán őssejtek és származékaik is életképes vonalakat produkáltak minimális számban (körülbelül 1:100000 arányban). Azonban a humán sejt származékok érdekes módon nem egyenletes eloszlást mutattak a fejlődő embrióban, ugyanis az esetek döntő többségében az emberi sejtek 10%-a a szívben csoportosult a fejlődés előrehaladtával. Ez az előbb említett humán-sertés sejt arányszám jóval alacsonyabb a korábban patkány-egér embrióknál tapasztaltaknál, feltehetően a sertés és ember között levő nagyobb evolúciós távolság miatt. Emellett számos nehézségbe ütköztek a kutatók: így például a sertések emberihez viszonyított harmada olyan rövid vemhességi idejűvel. Emiatt az őssejtek beinjektálásának időzítését is nagy pontossággal meg kellett határozni, amit Belmonte képletesen így fogalmazott meg: „Ez olyan, mintha az emberi sejtek az autópályára felhajtván gyorsabban mennének a megengedettnél. Azonban ha túl gyorsan hajtasz, balesetet fogsz szenvedni.”

A 3-4 hetes vizsgálati idő eltelté után az embriókat elpusztították, az esetleges etikai ellenvetések elkerülése érdekében. Ugyanis ezekre a kiméra embriókra sokan úgy tekintettek, hogy részben emberiek is, még ha csak igen kis arányban is tartalmaztak humán sejteket. A másik sokakban megfogalmazódó felvetés, hogy ha az állati eredetű agy nagyobb arányban tartalmazna emberi sejteket e módszernek köszönhetően, akkor annak az élőlénynek a gondolatai is sokkal „emberiebbek” lesznek. Az előbb említett etikai fejtegetések eldöntése még előttünk áll, és a technológiának is fejlődnie kell, hogy határozottan tudjunk dönteni e témát illetően.

Izpisua Belmonte és kutatócsoportjának következő feladata, hogy javítsák a módszer hatékonyságát és a szervek képződését irányítottabb vonalra tereljék. Ennek pontosabb végrehajtása érdekében a kutatók CRISPR-Cas9 rendszerrel bizonyos génfunkció hiányokat okoznának a sertés embriókon, mely „réseket” aztán a humán sejtek tölthetnének ki. A kísérletek folyamatban vannak, és minden bizonnyal hallani fogunk az eredményekről a közeljövőben.

**Dankó Benedek**

**dankobenedek@gmail.com**