

UGRÁSSZERŰ FEJLŐDÉS A DNS KUTATÁSÁBAN

Bár az örökítőanyag bázissorrendje egy adott egyén minden egészséges sejtjében közel egyforma, sejtjeink mégis számtalan formát vesznek fel és funkciót látnak el szervezetünkben, hiszen nagyjából 200 különböző sejtípussal rendelkezünk. Hogyan alakul ki ez a sokféleség, ha a tervrajz mindig ugyanaz?

Az egyedfejlődés során az egyes sejtek sorsát az határozza meg, hogy bennük mely gének milyen mértékben, és milyen időbeli eloszlásban fejeződnek ki. A génexpresszió szabályzásában pedig fontos szerepet játszanak a DNS-en kívül tárolt biológiai információk, a DNS-t alkotó, vagy hozzá szorosan kapcsolódó molekulák módosulásai. Jelenlegi ismereteink szerint ezek az úgynevezett epigenetikai mintázatok magán a DNS-spirálon található meg mint módosított bázisok. Több, mint húszféle módosított bázist írtak már le, azonban a gyakorlatban, megbízható pontossággal még csak három tudunk vizsgálni, ezek pedig a baktériumok védekező mechanizmusaiában játszanak kulcsszerepet. A humán orvoslás szempontjából jóval érdekesebb az epigenetikai mintázatok második szintje, amelyet a módosított hiszton-fehérjék alkotnak. A DNS a sejtmagban többnyire nukleoszómákra tekeredve van jelen; ezek nyolc-nyolc hisztonfehérjéből álló „orsók”, amelyek mellett, hogy kompaktabbá teszik a sejtmagon belül a mintegy 2,5 méternyi DNS-szálat, hatással vannak a gének kifejeződésére is.

A nukleoszómát felépítő hisztonoknak számos módosulata ismert, ezek közül a legtöbbet kutatták: a H3-hiszton 4. lizin aminosavának mono- és dimetilációja (H3K4me1 és H3K4me2), illetve a H3 27-es lizin aminosavának acetilációja (H3K27ac). Ezek általában az aktív génkifejeződés jelzői. A hasonló sémával elnevezett H3K4me3, H3K27me3, H3K9me2 és H3K9me3 jelenléte represszált, kifejeződésében gátolt gént jelöl. Az egyes sejtípusokra jellemző génexpressziós mintázatok kialakítá-

sában fontos szerepet játszanak a sejtípusonként meghatározott enhanszer (serkentő) régiókhoz kötődő különböző fehérjék. Az aktív enhanszerek olyan DNS-szakaszokon fordulnak elő, amelyek hiszton-oktamerekhez nem kötődnek. Közvetlen környezetükben azonban jellemzően specifikusan módosított hisztonok figyelhetők meg, melyek közül a fent említett metilált és acetilált formákat vizsgálták mélyrehatóan az utóbbi évek kutatásaiban.

Szintén az utóbbi évek felfedezése az RNS sokszínűsége: a modern módszerekkel sikerült felfedezni sokrétű szerepét a génexpresszió szabályzásában. Az emberi genomnak pusztán 1 százalékról íródik le fehérjetermék, egyes kutatások alapján viszont akár 70 százaléka is leíródhat nemkódoló RNS, amelyek funkciójáról jelenleg keveset tudunk.

Ahhoz, hogy a gének kifejeződését a különböző sejtípusokban globálisan összehasonlíthassuk, igen összetett működésű DNS-szekvenáló és adat-elemző eszközökre van szükség. Az első és legrégebbi módszer, a CHIP-Seq (kromatin immunoprecipitációt követő DNS-szekvenálás). A kromatin immunoprecipitáció során a számunkra érdekes fehérjét egy antitest segítségével valamilyen szilárd hordozóhoz kötjük, így elválasztva a többi sejtalkotótól. Esetünkben ezek a DNS-hez kötődő olyan fehérjék lesznek, mint a már említett hisztonok, vagy különféle transzkripciós faktorok. A megkötött fehérje-DNS komplexet ezután szeparáljuk, végül megkapjuk azt a nagyjából 200 bázispáros DNS-szakaszt, amely a kérdéses nukleoszómára volt csavarodva. Mivel a kísérletben több millió ilyen DNS-töredéket ka-



punk, a minta teljes bázissorrendjének megismerése egészen a közelmúltig lehetetlen volt. Az új generációs DNS-szekvenátorokkal mára azonban rutin-feladattá vált, így egy-két hét alatt több tucat mintában térképezhetjük fel azt, hogy az általunk vizsgált módosított hiszton a DNS-en hány példányban, mely szakaszokhoz kötődve fordult elő. Ehhez a kísérletben kapott DNS-fragmenseket a már ismert, nyilvános adatbázisban is elérhető humán referenciagenomra térképezik, ahol az egyes találatok csúcsokként jelennek meg, kijelölve a módosított hisztonfehérjékhez kötött szakaszokat. A minták tisztasága, az antitestkötés erőssége és egyéb tényezők miatt számtalan kisebb csúcs és háttérzaj keletkezik, amelynek kiszűrése, statisztikai elemzése a bioinformatika feladata. A CHIP-Seq segítségével fedeztek fel olyan epigenetikai mintázatot, amelyek a sejtek differenciációjában játszanak szerepet, de az imprinting, az öröklődő epigenetikai kód kutatásában is rendkívül hatékony módszer.

OLÁH PÉTER

(Következik: *Darabolt DNS*)