

SZINTETIKUS BIOLÓGIA ÉS EVOLÚCIÓKUTATÁS

Az evolúció szó hallatán sokunkban az évmilliók során végbemenő, lassú és fokozatos változás, alkalmazkodás képe tűnik fel, mely Földünk élővilágának mai képét kialakította. Azonban az evolúció kevésbé szembeötlő oldalát képviselik azok az alkalmazkodási mechanizmusok is, melyek napjaink megannyi égető problémájának alapját képezik.

Ilyen például az antibiotikum-rezisztens „szuper-kórokozók” kialakulása, illetve az újabb és újabb vírusváltozatok megjelenése, melyek következtében az alkalmazott terápia könnyedén hatását vesztheti, esetenként lehetetlenné is téve a beteg gyógyulását. Ezek a folyamatok mind-mind az örökítőanyagban megjelenő mutációs eseményekre épülnek, melyek az egyedek közt generációról generációra apró változottságot eredményeznek. A populációban így természetes változottság alakul ki, melyre hatva a szelekció az előnyös formák elterjedését eredményezi. A szelekciós hatás pedig könnyen lehet a kórokozó elpusztítására bevetett antibiotikum vagy az immunrendszert hatásos védekező mechanizmussal felvértező vakcina.

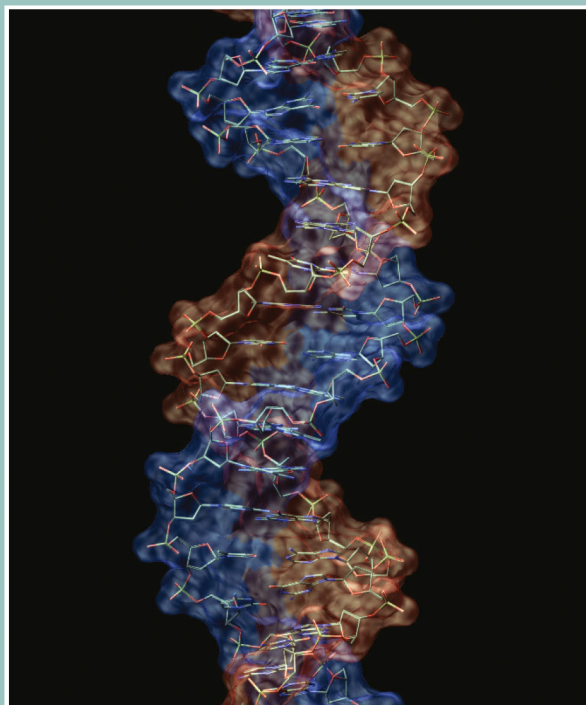
Az ilyen sejtszintű alkalmazkodási folyamatok évről-évre globális méretű egészségügyi problémával fenyegetnek, így sürgetővé vált olyan stratégiák kidolgozása, melyek segítségével az alapvető evolúciós folyamatokat laboratóriumi körülmények között modellezhetjük és tanulmányozhatjuk. Ebből adódóan nagy előnyt jelenthetne, ha előrejelezhetővé válna egy-egy vírus vagy kórokozó baktérium alkalmazkodása az emberi szervezethez, illetve a megfékezésére bevetett terápiához.

A komplex evolúciós folyamatok laboratóriumi tanulmányozása azonban hagyományos úton nehézkes, mert a nagyléptékű evolúciós újítások megjelenése ritka esemény. Az ezredfordulón viszont új eszköztár jelent meg: a molekuláris biológia és a mérnöki megközelítés fúziójából születő *szintetikus biológia* új lehetőségeket nyújt ilyen folyamatok tanulmányozására. A szintetikus biológia a hasznos cél elérése érdekében új biológiai rendszerek (egyedi molekulák, teljes sejtek) tervezését vagy már létező biológiai rendszerek áttervezését és megalkotását lehetővé tevő tudományág.

A mikroorganizmusok kiválsóan alkalmasak különböző evolúciós jelenségek, alapfolyamatok közvetlen tanulmányozására, mert gyorsan szaporodnak, nagy a populációméretük és általában könnyen fenntarthatók. Egyszerűségük ellenére életfolyamataik többsége a magasabb rendű szervezetekéhez nagyon hasonló. Segítségükkel vizsgálhatók az elemi evolúciós lépések is, mint például az, hogy miként képesek új környezeti körülményekhez alkalmazkodni. Ezek a vizsgálatok azonban csak addig képzelhetők el, míg a sejteket nem állítjuk túl nagy „életmódváltás” elé, hiszen minél több mutáció, elemi változás szükséges az új tulajdonság kialakulásához, annál hosszabb időt vesz igénybe az alkalmazkodás.

Felmerül így a kérdés, vajon nem kaphatnánk-e átfogóbb képet akkor, ha nemcsak kiragadott, elemi lépéseket vizsgálhatnánk, hanem a valódi, nagyléptékű evolúciós folyamatok tanulmányozására is lehetőség adódna laboratóriumi körülmények között. Ez azonban csak a természetes evolúció felgyorsításán keresztül válik lehetségessé, melyre a szintetikus biológia eszköztára kínál megoldást.

Ahhoz viszont, hogy lehetőségünk adódjon az élőlény evolúciós folyamatának sebességét befolyásolni, először az evolúciós változás



mikéntjét kell feltárni. Az élőlények életfolyamatainak működéséhez szükséges adatokat a DNS kódolja, mely generációról generációra öröklődik az utódsejtekbe. A sejt molekuláinak felépítéséhez szükséges információt pedig a négy építőkö, nukleotid sorrendje határozza meg a DNS láncszerű molekulájában.

A sejszintű életfolyamatok megváltozásának képessége így az örökítőanyagban keresendő. Ezt a változást az teszi lehetővé, hogy a DNS-t érő környezeti hatások (például UV- és ionizáló sugárzás, oxidatív szabadgyökök, mechanikai hatások, kémiai károsító anyagok) és a sejtben történő DNS-másolás, feldolgozás során különféle hibák keletkeznek, melyeket a sejt igyekszik kijavítani. A javítás sikertelensége esetén azonban a nukleotidsorrend-változás rögzül az örökítőanyagban, mutáció keletkezik és az utódsejtbe is továbböröklődhet. A mutáció pedig attól függően, hogy milyen genetikai információt érint, befolyásolhatja a sejt életműködésének bármely elemét. Ennek következtében a mutációk legnagyobb hányada semleges vagy káros hatással bír és csak igen kis részük jelent valódi előnyt az organizmus életben maradásában. Az evolúciós változás alapját mégis ezek a ritka mutációs események és az ennek következtében alkalmanként kialakuló, adott környezetben előnyös életfolyamatváltozások adják, melyek segítik az élőlényt az alkalmazkodásban.

Az evolúciós változás felgyorsításához így arra van szükségünk, hogy az előnyös mutációk kialakulásának gyakoriságát növeljük meg a sejtekben, melyhez elengedhetetlen, hogy a mutációk kialakulásának helyét és pontos típusát is befolyásolni tudjuk.

Néhány éve *George M. Church* és munkatársai a szintetikus biológia eszköztárát vetették be a probléma megoldása érdekében. Olyan DNS-módosítási elvvel álltak elő, mely lehetővé tette nagyszámú célzott mutáció létrehozását a vizsgált sejt örökítőanyag-állományában. A módszert MAGE-nek (Multiplex Automated Genome Engineering)

nevezték el. A MAGE a sejt megváltoztatható DNS-régióját ciklikusan újra és újra mesterségesen létrehozott, különféle mutációkat hordozó, rövid DNS-darabokkal „bombázza”, melyek beépülve az örökítőanyagba, mesterséges mutációkat hoznak létre. Ezeknek a mutációknak pedig minden tulajdonságát, típusát és helyét is szabályozni lehet. Eredményként ciklusról ciklusra egyre több változás halmozódik fel a sejtek örökítőanyagában.

A MAGE alkalmazása azonnal új távlatokat nyitott meg az evolúciobiológiai kutatások előtt. Elsőként vált lehetővé a mutációs folyamatok szabályozott úton történő, nagyléptékű befolyásolása. Kutatócsoportunk ezért kíváncsi volt arra, vajon felhasználható-e a MAGE-módszer arra, hogy a természetben bekövetkező adaptációs folyamatokat laboratóriumi körülmények között is modellezzük. Ennek érdekében egy, az orvostudományban széles körben használt baktériumölő antibiotikum, a ciprofloxacín hatását és a rezisztencia kialakulását tanulmányoztuk a kólibaktérium sejtjeiben. Ennek érdekében korábbi vizsgálatainkkal meghatároztuk azokat a fehérjéket kódoló DNSszakaszokat, amelyeknek szerepe van a ciprofloxacinnak a sejtben kifejtett hatásában. Ezt követően pedig a MAGE segítségével mutációkat hoztunk létre ezekben a DNS-régiókban. Az eredmények magukért beszéltek: néhány nap alatt sikerült olyan baktériumváltozatokat létrehozni és tulajdonságait szigorú laboratóriumi feltételek mellett vizsgálni, melyek természetes körülmények között csak nagyon ritkán alakulnak ki.

A kísérlet, bár bizonyította a módszer hatékonyságát, újabb megoldandó problémákat vetett fel. A MAGE hatékony működéséhez elengedhetetlen volt a sejtek termé-



zetes DNS-hibajavítási rendszerének eltávolítása, mely a természetes úton képződő mutációk elleni védelmet biztosítja. Így a folyamat során igen sok, káros mutáció is megjelent a vizsgált sejtekben. Ennek érdekében egy olyan eljárást is kidolgoztunk, melynek segítségével kizárólagosan csak a célzott mutációk beépítésének idejére kapcsolható ki a DNS-hibajavítás, így káros mutációk felhalmozódásától sem kell tartani.

Kihasználva az elmúlt évtized módszertani áttörését, mely teret engedett az élőlények genetikai információja tetszőleges és költséghatékony módosításának, az evolúciókutatás egy újabb paradigmaváltás elé került. A MAGE és egyéb nagy átteresztő képességű módszerek használatával elsőként került a kutatók kezébe olyan eszköz, melynek segítségével nemcsak a múltbeli evolúciós folyamatok útvonalára következtethetünk, hanem a jövő folyamataiba is bepillantást nyerhetünk. Kutatócsoportunk ezekkel az eszközökkel felvértezve keresi a választ a bakteriális alkalmazkodás és antibiotikum-rezisztencia kialakulásának sürgető kérdéseire.

NYERGES ÁKOS

A kutatás az Európai Unió és Magyarország támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú „Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése konvergencia program” című kiemelt projekt keretei között valósult meg.