DEBRECENI EGYETEM
ORVOS- ÉS EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI CENTRUM
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR
HUMÁNGENETIKAI TANSZÉK

ÁLTALÁNOS ÉS HUMÁNGENETIKA

I. éves orvos, fogorvos és gyógyszerész hallgatók számára, valamint a népegészségügyi képzés céljaira

press

DEBRECENI EGYETEM
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR
HUMÁNGENETIKAI TANSZÉK

ÁLTALÁNOS ÉS HUMÁN-GENETIKA

jegyzet

I. éves gyógyszerész hallgatók számára, valamint
a molekuláris biológus képzés céljaira

I. kötet

Debreceni Egyetemi Kiadó
Debrecen University Press
2017

DUPress

Írták:
Birkó Zsuzsa
Biró Sándor
Fehér Zsigmond
Penyige András
Schlammadinger József
Sipiczki Mátyás
Szeszák Ferenc
Szentesiné Szirák Krisztina
Vargha György
Vitális Sándor

Felelős szerkesztő:
Dr. Schlammadinger József

A technikai szerkesztés Szeszák Ferenc és Schmelczer Iván munkája.

Fedőlap: A *Drosophila melanogaster* násztánca és párosodása. A muslica a genetika fejlődése szempontjából manapság is az egyik legfontosabb kísérleti állat, a rajta tett megfigyeléseknek köszönhetjük jelen tudásunk tekintélyes részét. (Az ábra B. Burnet és K. Conolly *The Genetics of Behaviour* c. könyvben megjelent cikke nyomán [North-Holland Kiadó 1974, szerk.: J. H. F. van Abeelen] készült.)

A szerzők köszönetet mondanak Balogh Erzsébet tudományos főmunkatársnak (DE OEC Gyermekgyógyászati Klinika) számos eredeti, klinikai mintából származó kariogram rendelkezésre bocsátásáért.

ISBN 978-963-318-652-7

© Debreceni Egyetemi Kiadó Debrecen University Press,
beleértve az egyetemi hálózaton belüli elektronikus terjesztés jogát is

Kiadta a Debreceni Egyetemi Kiadó Debrecen University Press
Felelős kiadó: Karácsony Gyöngyi
Készült a Debreceni Egyetemi Kiadó nyomdaüzemében, 2017-ben

DUPress

Tartalomjegyzék

1. Genetika: visszatekintés
Schlammadinger J., Vitális S 5

Bevezetés (olvasmány) 6
A genetika rövid története (olvasmány) 9
Mendel 11
A klasszikus genetika és citogenetika további története 12
Molekuláris és biokémiai genetika 13
Populációgenetika 15
Az öröklődés és a környezet, a természet és a nevelés problématikája – Kvantitatív genetika 17
A sejtosztódás áttekintése genetikai szempontból 18
Mitózis – számtartó sejtosztódás 19
A mitózis szakaszai 20
Meiózis – számcsökkentő (redukciós) sejtosztódás 23
Meiózis I – A profázis alszakaszai 26
A meiózis eredménye 31

2. A génátadás alapszabályai: monolokuszos öröklődés
Vargha Gy. 33

Autoszomális gének: Mendel első törvénye 35
Mendel kísérletei 36
Modern nómenklatúra (Mai elnevezések) 39
A Punnett (sakktábla) módszer 40
Az utódvizsgálat módszerei – teszt-keresztezés 41
Egy humán példa 32
X-hez kötött gének 43
A nem meghatározása 44
Gének a nemi kromoszómákon 45
A színvakság 45
A hemofília 48
Duchenne-féle izomdisztrófia (DMD) 51
X-hez kötött letális gének – eltolódás a nemek arányaiban 51
Y-hoz kötött gének 52

DuPress

Többszörös allélek 53
A többszörös allélsorozatok eredete 53
Az allélek genotípussá kombinálódása 54
A heterozigóták fenotípusa 54
A megfigyelés szintjei 57
A valószínűségszámítás néhány szabálya 58
Definíció 59
A valószínűségek kombinálódása 59
A gaméták tisztasága (Mendel első törvénye) alkalmazása két génre 61
Nem-homológ kromoszómákon lévő gének: Mendel második törvénye 62
A gaméták arányai 63
Az utódok geno- és fenotípusai dihibrid keresztezés esetében 64
A gén × gén módszer 65
Mendel második törvénye és a meiózis 67
A génexpresszió variációi 68
Nemek szerinti különbségek 70
Változó expresszivitás 71
Inkomplett penetrancia 75
Génkölcsönhatások 76
Anyai génhatás 78
Egy gén több hatással 79
Egy fenotípus különböző okokból 79
Adatfelvételi torzítás 82
A hipotézisek tesztelése 83
A χ^2 próba: értelmezés, megjegyzések 83
Öröklődő-e a jelleg? 84
Kuru 85

3. Extrakromoszómális öröklődés
Birkó Zsuzsa

A kloroplasztisz DNS által kódolt tulajdonságok öröklődése 97
A mitokondriális DNS által kódolt tulajdonságok öröklődése 99

DUPress

4. Nem-allelikus gének rekombinációja, genetikai térképezés
Penyige A. 105

Azonos kromoszómán található gének; crossing over 106
Gének távolsága meghatározható a közöttük előforduló rekombináció gyakorisága alapján 108
A gének genetikai távolsága nem mindig arányos a közöttük lévő fizikai távolsággal 112
Kapcsoltság, genetikai térképezés emberben 113
Kapcsoltsági vizsgálatok családfa analízis segítségével 115
Kapcsoltsági egyensúly 119
További gondolatok 119
A géntérképezés jelentősége 120
A gének genetikai távolságán és lokalizációján alapuló géntérkép és az evolúció 121

5. CSALÁDFÁK
Szentesiné Szirák Krisztina 127

Adatgyűjtés 128
A családfa megszerkesztése 129
Családfa és biokémiai analízis 130
Mitől óvakodjunk? 131
Autoszomális domináns öröklődés: Brachydactylia 132
Autoszomális recesszív öröklődés: Fibrosis cystica 135
Klinikai tünetek és kezelés 136
Családfák 137
Molekuláris genetika 140
A homozigóták és hordozók felismerése 140
X-hez kötött recesszív öröklődés: Duchenne és Becker féle izomsorvadás 141
Klinikai tünetek 141
Családfák 143
Molekuláris genetika 144
A disztrofin 145
A hemizigóták és hordozók felismerése 146

PUPress

6. Veleszületett anyagcsere-betegségek
Schlammadinger J. 151

Az aminosav anyagcsere néhány zavara 154
Fenilketonúria (PKU) és a hiperfenilalaninémia egyéb formái 154
Albinizmus 157
A lipid és lipoprotein anyagcsere néhány zavara 160
Tay–Sachs betegség, *idiotia amaurotica infantilis (familiaris)* 161
Familiáris hiperkoleszterinémia 163
A szénhidrát anyagcsere néhány zavara 167
Galaktozémia 167
Glükóz-6-foszfát-dehidrogenáz hiány 168
A purin anyagcsere zavara, Lesch–Nyhan szindróma 168
Tárolási betegségek 169

7. Vércsoportok genetikája és a HLA rendszer
Schlammadinger J. 177

Az ABO vércsoportrendszer 178
Az Rh rendszer 183
Egyéb vércsoportok 186
A HLA rendszer genetikája 186

8. Fejlődésgenetika
Penyige A., Schlammadinger J., Szeszák F. 201

Fejlődésgenetika és *in vitro* fertilizáció 202
Preimplantációs genetika 202
Emlős állatok és az ember klónozása 203
A *Drosophila* lárva fejlődésének génikus szabályozása 207
Morfogének 208
Anyai hatás, zigotikus gének, homeotikus gének 209
A génaktivitás hierarchiája 213
Az anyai hatás általános jellemzői 213
Az anyai hatás genetikai boncolása 214
Anyai hatású gének 215
A páros szabály gének 219
A szegment polaritás gének 221

PUPress

A homeotikus szelektor gének 221
Az embrionális fejlődés korai szakaszának szabályozása emlősökben 225
Homeotikus gének a magasabbrendűekben 226
Hox gén mutáció emberen 229
Veleszületett fejlődési rendellenességek 234
A nemi fejlődés 235
Kromoszomális nem 236
Gonadális nem 237
Genitális nem és a pszichoszomatikus nem fejlődése 238
Másodlagos nemi jellegek 239
A nemi fejlődés zavarai 242
Valódi hermafroditizmus 243
Pszeudohermafroditizmus 243

9. Mennyiségi jellegek öröklődése
Schlammadinger J. 251
Poligénes öröklődés és multifaktoriális meghatározottság 252
Heritabilitás 260
Ikervizsgálatok 262
A küszöb modell 265
A küszöb modellhez kapcsolódó új felismerések 270
Az emberi viselkedés genetikája 272
Értelmi képességek öröklődése, az intelligencia mérése 275

DUPress

DUPress

A HALLGATÓHOZ

E jegyzet írói úgy vélik, hogy előszóra nem csak a hallgatónak, hanem az oktatónak is igénye van. Miért? Mert napjainkban fokozott szükség van a tisztánlátásra a genetikának mind a művelését, mind a genetikai tudásanyag átadását, oktatását illetően.

A genetika egy történelmileg rendkívül rövid időszak – lényegében kevesebb, mint 100 év – alatt vált pár elvont következtetésből álló alaptudományból kiterjedt diszciplinává és egyúttal nagyhatású alkalmazott tudománnyá is. Ez a folyamat különösen az utolsó évtized folyamán haladt rohamléptekkel, s további gyorsulása biztonsággal megjósolható. Az embernek hatalom került a kezébe az élővilág dolgaiba való olyan mértékű beavatkozásokhoz, amelyek nemcsak apáink, de – alig két évtizede – még a magunk számára is elképzelhetetlennek tűnhettek. Ez nagymértékben megnöveli a tudomány résztvevőinek felelősségét, legyenek annak akár kutatói, oktatói, alkalmazói, vagy tanulói.

Mik a jelen helyzet legfontosabb tényezői a genetika művelői számára?

A genetika napjainkra kidolgozta az élőlények örökletes módon való megváltoztatásának – lényegében új fajok létrehozásának – módszereit. Ezen a helyen ennek jelentőségét talán nem szükséges részletezni.

Fontosabbnak tűnik viszont annak tudatosítása, hogyan változtak meg azok a feltételek, az a környezet, amelyek között a tudósok dolgoznak.

– Hatalmas mértékben megnőtt az elvégzett vizsgálatok, ill. az ezekből született tudományos közlések száma, nagymértékben felgyorsult a tudomány fejlődésének üteme. A lépéstartás, vagyis az új adatok feldolgozása, megértése, a tudomány művelőit már-már megoldhatatlannak tűnő feladatok elé állítja. A legnagyobb hozzáértéssel, lelkiismeretességgel megírt tankönyvek tudásanyaga is pár éven belül korszerűtlenné válik.

– A tudomány műveléséhez szükséges anyagi eszközök – érthető módon – a társadalomnak a tudománnyal közvetlenül nem foglalkozó részétől származnak. Ugyanakkor, a genetikai kutatásokban rejlő gyakorlati lehetőségek növekedésével természetszerűen nagymértékben megnövekszik a kívülállók érdeklődése a kutatások iránya, eredményei és ezek felhasználását illetően. A társadalom fokozott mértékben kíséri figyelemmel a tu-

dományos munkára fordított pénzösszegek felhasználásának célját és hatékonyságát.

– Ez a ráfordítások koncentrációját hozza magával: nagyobb létszámú kutatócsoportok szorosabban összehangolt tevékenységet folytatnak. Más oldalról viszont ez azt eredményezi, hogy a kutatott témák változatossága csökken, a kutatási célok köre beszűkül.

– A kutatóhelyek mind kisebb hányada marad az egyetemek kebelén belül, a kutatásnak pont az anyagilag legjobban támogatott része olyan profit-orientált intézetekbe helyeződik át, melyek oktatással nem, vagy csak mellékesen foglalkoznak.

– Megváltozik a tudományos tevékenység alapvető irányultsága. A jelenig a kutatás legfőbb célja a kapott adatok nemzetközi folyóiratokban való közzététele volt, amelyet rangos, névtelen bírálók ellenőriztek. A nagy nemzetközi tudományos folyóiratok garantálták az eredmények kontrollját, nyilvánosságát, amelyekből való folyamatos tájékozódás biztosította a kutatók és oktatók szakmai felkészültségét. Az említett profit-orientált intézmények legfontosabb adataikat viszont gyakorta titkosan kezelik, egész tudományos kutatási irányok létezését mindinkább csak sejteni, mintsem tudni lehet. A hatalommal és tőkével rendelkező érdekcsoportok sugalmazására olyan vizsgálatok is kivitelezésre, ill. közlésre kerülnek, melyeknek tudományos objektivitása – sőt békés jószándéka is – kétséges.

– A tömegmédia – a TV, az internet, a rádió, a különböző nyomtatott kommunikációs eszközök – szerepe a „hagyományos" tudományos fórumokkal szemben nagymértékben megnőtt. Hatásuk azonban óvatosan kezelendő, a tömegmédia által széles körben közvetített adatok gyakran nem mennek át olyan szigorú szakmai szűrőn, mint ahogy az a hagyományos tudományos folyóiratok esetén történik, így valóságtartalmuk nincs kellőképpen ellenőrizve.

Mindezek ismeretében és felelősségünk tudatában igyekeztünk jegyzetünk új kiadását úgy megírni, hogy az egyszerre legyen korszerű, érthető, lényegre törő és terjedelme ne haladja meg az előző kiadását. Tettük ezt azért, hogy a Hallgatónak ne csak a genetika vizsgára, hanem szakmai jövőjére való felkészülését is segítsük. Hogy megalapozzuk annak az egyre növekvő számú genetikai hivatkozásnak a helyes és gyors értelmezését, amellyel bármely szaktárgy anyagában nap mint nap találkozik az egészségügyi pályára készülő. Hogy megalapozzuk – mind a klasszikus, mind pedig a legmodernebb molekuláris megközelítésben – azt az álta-

lános- és nem kisebb hangsúllyal azt a humángenetikai szemléletet, amit a tételes ismereteknél sokkal fontosabbnak tartunk.

Egy-két gyakorlati megfontolás e jegyzet Olvasójának, használójának.

Természetesen a tételes ismereteket is rendkívül fontosnak tartjuk (hiszen pl. azok nélkül gondolatmeneteket, megismerési stratégiákat, genetikai problémák helyes meglátását és megoldását stb. elsajátítani is lehetetlen). A jegyzetíró azonban kétségek és ellentmondások között hányódik, amikor pontosabban meg akarja határozni a tárgy tartalmi körét, amelyről ír. Általános genetika? Humán- vagy orvosi genetika? Az egészségügyi pályára készülők tulajdonképpen a humángenetikát igénylik, de kaptak-e a középiskolában (bármely magyar középiskolában) elegendő általános alapot ennek megértéséhez? Aligha! A másik oldal: meddig lehet elmenni a szakirányú (orvosi genetikai) ismeretekben olyanok esetén, akik a klinikumot majd csak évek múlva tanulják? (Ha egyáltalán, hiszen a genetika szerves része kell legyen bármely egészségügyi felsőfokú képzés kurrikulumának, akkor is, ha az ott tanulók sohasem diagnosztizálnak és kezelnek majd beteget, legalábbis közvetlenül nem.)

Szembesül a jegyzet írója pl. az általa feltétlenül és elengedhetetlenül szükségesnek tartott ismeretek terjedelme és a hallgatói befogadóképesség határai ellentmondásaival is. A sor folytatható, de maradjunk a szigorú praktikum talaján! Igyekeztünk példáinkat – ahol ez egyáltalán releváns volt – az emberi biológia, ill. még közelebbről: a medicina tárgyköréből meríteni (a XXI. század molekuláris medicinájának egyik alapja a molekuláris genetika), és azokat lehetőleg alaposan bemutatni, de semmiképpen sem várjuk el a Hallgatótól ezek részletes ismeretét. Egy kromoszóma aberráció önmagában biológiai jelenség, említése akár még felesleges is lehetne, bemutatása csakis következményeinek leírása által válik indokolttá és elengedhetetlenné, innen érthető meg a jelentősége, de ebből nem következik, hogy az adott rendellenesség összes klinikai tünetét meg kellene bárkinek is tanulnia – a genetika keretei között. Egy-két jellemző példa, amiből kitűnik, hogy a Hallgató megértette a rendellenesség jelentőségét, létrejöttének mechanizmusát, a geno-, ill. kariotípus összefüggését a kórállapottal, már sikert hoz(hat) a vizsgán, és ami fontosabb: jó alapot jelent a jövőre.

Visszatérő gond: legyen-e az írás rendkívül tömör, ezáltal a terjedelem kisebb, vagy törekedjék a jegyzetíró valamiféle jobban követhető és emészthető, könnyedebb stílusra? Úgy gondoljuk, az előbbi változat

sokkal nehezebben tanulható. Ha egyszer elolvasta a Hallgató a szöveget, az átismétlésnél már amúgy is csak a lényegre fog koncentrálni. Ebben messzemenően segítségére vannak a kövér vagy dőlt betűs kiemelések, a fejezetek végén található (valóban tömör) összefoglalók, nemkülönben a fogalom magyarázatok. A kérdések, problémák megoldása segíti az elsajátítás sikerességének ellenőrzését. Mindennek jegyében a lazábban fogalmazott szövegváltozatot részesítettük előnyben a „nincs kihagyhatatlan fél mondat" verzióval szemben. Végezetül, de legkevésbé sem utolsó sorban: az előadások figyelmes követése eligazít a „ma mi a legaktuálisabb?" kérdésének megválaszolásában, különösen ha valaki szán rá egy kis időt, hogy a meghirdetett tematika alapján szerezzen valamely előzetes ismeretet, összehasonlítandó a jegyzetben leírtakat a tanteremben elhangzókkal. Úgyszintén elengedhetetlen támasznak tartjuk a gyakorlatok és szemináriumok anyagának figyelmes követését is, nemkülönben az oktatókkal folytatott konzultációkat. Eredményes és sikeres vizsgafelkészüléshez akkor és csak akkor lehet alkalmas e jegyzet, ha azt a Hallgató nem a vizsgaidőszakban veszi először a kezébe.

Fel kell hívnunk a figyelmet arra is – bár ez minden bizonnyal abszolút felesleges –, hogy az ábrák (és magyarázatuk) teljes értékű részei az anyagnak, nem pedig a tipográfiai élénkítés céljából kerültek oda.

E jegyzet írói és készítői nem hiszik, hogy zsebükben hordják a Genetika jegyzet írásához való bölcsek kövét. Minden Olvasó észrevételeire, általános vagy részletes kritikájára, kifogásaira és jobbító szándékú javaslataira nyitottak vagyunk, azokra számítunk és előre is hálásan köszönjük.

2003. március 18.

A szerkesztők

DUFRAS

1. FEJEZET

GENETIKA: VISSZATEKINTÉS

***Bevezetés* (olvasmány)**

A genetika rövid története (olvasmány)

Mendel
A klasszikus genetika és citogenetika további története
Molekuláris és biokémiai genetika
Populációgenetika
Az öröklődés és a környezet, a természet és a nevelés problématikája – kvantitatív genetika

A sejtosztódás áttekintése genetikai szempontból

Mitózis – számtartó sejtosztódás
A mitózis szakaszai
Meiózis – számcsökkentő (redukciós) sejtosztódás
Meiózis I – a profázis alszakaszai
A meiózis eredménye

Az alábbi bevezető sorok és a genetika történetének rövid áttekintése, amelyek eredetileg e Jegyzet első kiadásához készültek, nagyrészt prof. dr. Szabó Gábortól, a DOTE Biológiai Intézet megszervezőjétől és első igazgatójától származnak. Neki hervadhatatlan érdemei voltak abban, hogy a genetika a Debreceni Orvostudományi Egyetemen (az első éven oktatott Biológia tárgy keretei között), de nem csak itt, hanem általában Magyarországon az 1960-as években visszanyerhette azt a tudományos rangját és megbecsültségét, amitől a liszenkóizmus képviselői a megelőző évtizedben megfosztották.[1] E

[1] *Historia est magistra vitae.* Ahogyan nem szerencsés, ha minden dolgunkban mindig a történelmi alapokat nézzük és azokból – és csak azokból – kiindulva akarunk előre haladni, ugyanígy tévutat jelentene és fontos tanulságokról való lemondás lenne, ha a „ne nézzünk soha hátra" elvet akanánk követni. E jegyzet írói között még többen vannak olyanok, akik annakidején úgy tanulták, hogy a mendeli genetika az hamis, burzsoá idealista áltudomány. Miért? Egyebek

sorok átvétele egyben a szerzők és szerkesztők tiszteletadását is kifejezik az iskolaalapító professzor emléke előtt.

Bevezetés (olvasmány)

Bár mindnyájan emberek vagyunk, nincs két teljesen azonos személyiség közöttünk, még az egypetéjű ikrek sem azok. A hasonlóság és eltérés, amely minden faj tagjai között észlelhető, évezredek óta feltűnt és felkeltette az ember érdeklődését. Csupán mióta a genetika tudománya a XIX. század második felétől kezdve új megközelítési módokat kínált e szabályszerűségek vizsgálatára, azóta kezdünk magyarázatot találni az öröklődés jelenségeire. Növényeken, állatokon és mikroorganizmusokkal végzett kísérletekből részletes ismereteket szereztünk arról, (*1*) hogy miként öröklődnek egyes jellegek egyik nemzedékről a másikra, (*2*) hogy a kémiailag meghatározott genetikai információ hogyan dekódolódik, fejeződik ki az egyed fejlődése során, (*3*) és, hogy a populáció tagjai között fellelhető genetikai változatosság az alapja az evolúcióban észlelhető fokozatos fejlődésnek. E három pontban megfogalmazottakkal foglalkozik a mendeli, vagy „klasszikus" genetika, a molekuláris (és biokémiai) genetika, ill. a populációgenetika.

Az ember genetikája csak néhány évtizede vált virágzó tudománnyá, amely egyre kifinomultabb módszereivel képessé vált számos öröklött rendellenesség diagnózisára és kezelésére. Az emberi szenvedések enyhítésének új lehetőségei mellett azonban új társadalmi, politikai és jogi kérdések is keletkeztek, amelyek megoldása nem lesz egyszerű. Ilyen például:

– Lehet-e joga a szülőnek gyermeke nemének megválasztása? Ha igen, vajon nem lesz-e ez káros az emberi populációkra?

– Végezzenek-e szűrővizsgálatokat bizonyos embercsoportok egészséges tagjainál, akik egészségesek, de kóros gének hordozói lehetnek: pl. a feketék a sarlósejtes jellegre vagy az askenázi zsidók a Tay-Sachs betegségre vonatkozóan?

– Vállalja-e a társadalom a örökletes betegség esetlegesen költséges gyógyításának a terhét? És ha igen, akkor legyen-e beleszólása abba, hogy az érintett egyed megszülessen-e, ha mód van prenatális (születést megelőző) diagnózisra és szelektív abortuszra?

---

között azért, mert Mendel maga pap volt! Ennek megfelelően a liszenkóizmus nem ismerte el az öröklődést, hanem a környezetet tartotta az élőlény tulajdonságai egyedüli meghatározójának.

– Szigorúan ellenőriztessék-e a különböző fajokon végzett ilyen típusú kutatás, amelynek eredményeképpen esetleg előnyös, de mesterségesen létrehozott szervezetek kerülnek ki a környezetbe?

– Ha lehetségessé válik a gének elszaporítása és kicserélése, azaz meg tudjuk változtatni genetikai végzetünket, hogyan fogjuk e módszerek alkalmazását ellenőrizni?

Ilyen kérdésekre e fejezet vagy akár e jegyzet végén sem találjuk a válaszokat. Valójában e kérdésekre nincsenek is egyértelmű válaszok, bármennyire is óhajtanánk. Ennek az az oka, hogy a szükséges „tények", ill. azok értelmezése meglehetősen bizonytalan, mert változik is, ha a kutatók új kérdéseket tesznek fel és megértésükhöz új módszereket fejlesztenek ki. Általában meg kell elégednünk azokkal az ismeretekkel, amelyek éppen adottak, bármennyire tökéletlenek, bevégzetlenek is legyenek.

Ezen és más okok miatt, bonyolult társadalmi kérdések megoldásakor, valamennyi polgár segítő résztvételére kell támaszkodni. Amint azt Callahan írta:

> *A kilátásba helyezett haszon elsősorban matematikai, a populáció csupán egy statisztikailag adott hányadára vonatkozik, amely igényli, vagy azt hiszi, hogy igényli e jótéteményt. Személyes indítékok e kérdések során általában alig észlelhetők... Bár e kérdések nem mindennapiak. Még ha eltekintünk is attól, hogy általában tisztelnünk illik a tudósok kívánságait és munkáját, valamint azt a hasznot, amelyet e tevékenység egy statisztikailag létező populációhányad számára jelenthet, nem lehet oly könnyen figyelmen kívül hagyni azokat a hosszútávú hatásokat, amelyeket „Az Élet Új Formáiért" folyó munka jelenthet az ember számára. Mert mi az emberi közösség tagjai vagyunk és bizonyos felelősséggel tartozunk az ember jövőjéért, és amit a mi nemzedékünk tesz (ha nem is személy szerint), az része a fenti felelősségnek. Így ha igaz is, hogy legtöbbünk laikus ezekben a dolgokban, és valószínűleg legtöbbünk életében személy szerint nem is fog sem előnyt élvezni, sem hátrányt szenvedni abból, ami kialakulóban van, nem mentesülünk e kérdések körüli döntések ill. tevékenység felelőssége alól.*

Ha a laikusoknak véleményt kell nyilvánítaniuk, bizonyos tudományos kérdésekkel kapcsolatos irányelvek kidolgozásakor, először is világosan érzékelniük kell, hogy mi várható a tudománytól, és mi az, amit nem tud megvalósítani. Ez viszont feltételezi, hogy legyen valami fogalmunk arról, miként folyik a kutatás. Sajnálatosan, az elmúlt években a tudomány körül kialakult egy misztikus elképzelés, amelyet a sok területen elért, valóban látványos eredmények csak megerősítettek, emiatt a nagyközönség többet vár el a tudománytól, mint amire az valójában képes. Túl kevés az élelem? Nincs elég energiahordozó? Túl sok az ember? Nem gond! A tudomány majd talál megoldást! És

aztán, ha a tudomány nem képes megoldani valamennyi régi problémánkat, sőt, mi több, újakat is termel, kiábrándultság és ellenségesség lép fel. De megvonni a tudomány nagymértékű támogatását legalább annyira káros lenne a társadalmi jólétre, mint az is, ha semmibe vennénk azokat az etikai kérdéseket, amelyek felmerülnek, amikor a tudomány általános emberi jogokat és értékrendszereket érint.

Hasznos lenne, ha tudósok nagyobb erőfeszítést tennének arra, hogy a nagyközönséget tájékoztassák napi tevékenységükről. Ha az új felfedezések beharangozásakor a médiumokban azt is hangsúlyoznák, hogy mennyi ismeretlen terület maradt még. Így kiegyensúlyozottabb kép alakulna ki. Ehelyett a tudományra bizonyos megilletődöttséggel vagy talán még inkább kis félelemmel és gyanakvással tekintenek, mint olyanra, amelyet közönséges halandó fel sem foghat, nemhogy művelhet. Az ilyen túlzott elvárások és remények, valamint az indokolatlan félelmek veszélyessé válhatnak, ha társadalom-politikai befolyásra tesznek szert, mivel veszélyeztethetik a tudományos eredmények felhasználását, de a velük való esetleges visszaélésekre is vezethetnek. Ezen okok miatt, valamint azért, mert a tankönyvek ritkán foglalkoznak a fenti problémákkal, kicsit bővebben kívánjuk taglalni a tudósokról a közvéleményben kialakult elképzeléseket.

Azok az emberek, akik a tudományt „csinálják" éppen úgy sokfélék, mint minden más embercsoport. De ugyanúgy gyakran félreértések is alakulnak ki körülöttük. Vicclapokban humoristák rajzain gyakran találkozunk az „őrült" tudós képével. Filmekben és regényekben a tudóst gyakran mint kiváló, de a realitástól távol élő személyt ábrázolják, vagy mint tökéletesen tárgyilagos, kizárólag csak a munkájának élő valakit, esetleg, mint hidegfejű gonoszt. Többnyire férfiak, akiket ritkán ábrázolnak közönséges halandóként, akikben azonban a kisszerűség és a bizonytalanság éppúgy megvan, mint más embertársaikban. Watson azonban a ***The Double Helix***[2] c. könyvében élvezetes bepillantást nyújt a tudósok kevésbé emelkedett, de sokkal inkább emberi vonásaiba.

A tankönyvek (ez alól ez a jegyzet sem kivétel) a tudományos eredményeket mint csaknem sima, folytatólagos sikersorozatot mutatják be; ritkán olvashatunk vakvágányokról, hibás értelmezésekről vagy éppen kudarcokról.

Az igazság az, hogy a tudományos kutatás gyakran eredményez kusza, vagy negatív, vagy nem egyértelmű eredményeket még a világ legkiválóbb tudósai esetében is. És mivel még a sikeres kutatás is igen sok unalmas fáradalommal jár, sok tudós, ha nem remélné, hogy időnként érdekes eredményhez is jut, nemritkán azt kívánná, bár más pályára adta volna a fejét.

A világ valaha volt összes tudományos kutatójának többsége ma él és dolgozik. Laboratóriumaikban igen sokféle személyiséggel és intellektussal találkozhatunk, a zse-

---

[2] Magyar kiadás: J. D. Watson: A kettős spirál. Gondolat, Budapest, 1970.

niktől kezdve a biflázó típusig, a reneszánsz embertől a korlátolt érdeklődésűekig, a hencegőtől a nagyon félszegig, az igyekvő, versengő típustól az alacsony mércére beállítódottakig, a másokkal törődő önzetlentől az egoistáig.

De még a legintelligensebbek és törekvők nevét is ritkán találjuk meg a tankönyvekben. Valójában, közölt dolgozataik egy részére soha sehol sem fognak hivatkozni, mivel manapság olyan számban készülnek tudományos közlemények, hogy legfeljebb igen kis hányadukat lehet nyomon követni. A tudományos folyóiratokat böngészve meglepően nagyszámú és ijesztően sok olyan cikk címét olvashatjuk, amelyek annyira specifikusak, hogy a nem szakember számára teljesen nevetségesnek tűnnek, különösen olyanok számára, akik úgy érzik, hogy a tudománynak mindig valamilyen célt kell szolgálnia és nem nyilvánvalóan lényegtelen apróságokkal kell foglalatoskodnia. A lényegtelennek tűnő kis részletek felhalmozódása és a kísérleti technikák nagyszámú kutató által történő fejlesztése teszi lehetővé a nagy felfedezést vagy a kevesek számára megadatott nagy felismerést, amelyek bekövetkeztének útját előre látni soha sem lehetett.

Azok, akik humángenetikával foglalkoztak a korábbi évtizedekben, e terület egyedülálló nehézségeivel és különleges varázsával találták szembe magukat. Saját fajunkat sokáig nem tartották a genetikai kutatás szerencsés tárgyának, hosszú generációs ideje, kis létszámú családjai és genetikai szempontból sok hasznos adattal nem szolgáló házasságai miatt. Viszont az ember biokémiáját jobban ismerjük, mint bármely más komplex fajét és az emberrel folytatott kutatás sok új és fontos általánosítást eredményezett, így például a gének és enzimek közötti kapcsolatot. Vagy pl. a mutációk pontos hatását az emberi fehérje szerkezetére más fajokét ill. a baktériumok és vírusok genetikai analízisét megelőzve ismertük meg. Az azonban kétségtelen, hogy a baktérium-, növény- és állatkísérletes modellek alkalmazása teremtette meg a lehetőséget a nagyléptékű kutarásra, a genetikai jelenségek széleskörű és alapvető megismerésére, és a fogalmak tisztázására (csiszolására, finomítására). De az önmagunk iránti nagyfokú érdeklődés miatt a kutatók kitartóan keresték és keresik a megoldást a humángenetika speciális problémáira, vagy módot találtak a nehézségek megkerülésére. Ami ma nehéz, az holnap kevésbé az, az új gondolatok és új technikák birtokában.

DUPLÁS

A genetika rövid története (olvasmány)

Az alábbi vázlatos ismertetés a tudományos kutatás néhány sajátosságát (is) illusztrálja. Egyik ilyen példánk azzal kapcsolatos, hogy egy törvényszerűséget egy időben többen is felfedezhetnek egymástól függetlenül. Ilyen volt például a mendeli törvények újrafelfedezése 1900-ban. Sokszor az ilyen ***egyidejű felfedezések*** nem meglepőek, hiszen a gondolatok cseréje a tudományos folyóiratokban és személyes találkozások alkalmával sok kutatót vonz egy-egy érdekes problémához, különösen az új, ún. „forró" kutatási területekhez. (Más esetekben, főleg az utóbbi időkben, a tudományos problémák olyan bonyolultakká váltak, hogy megoldásuk több, egymástól különböző irányban specializálódott laboratórium csoportmunkáját igényli.)

A tudomány története során tapasztalható másik érdekes sajátosság az ún. idő előtti, a ***korát megelőző felfedezés***, amelyet végülis megerősítenek és elfogadnak, de csupán egy hosszabb időtartamú mellőzés után. Ilyen volt pl. Mendel magyarázata az öröklődési tényezők viselkedéséről, Garrod véleménye arról, hogy az enzimek sajátságai a génektől erednek, Rous felfedezése, mely szerint egy vírus csirkékben daganatot tud létrehozni, valamint Avery kísérlete annak bizonyítására, hogy az öröklődés anyaga a DNS. Ők eredményeikkel mind jóval megelőzték korukat.

Egy harmadik tárgykör az ***új technológiák*** szerepére vonatkozik, amelyet ezek a tudományos elképzelések fejlődésében és igaz voltuk bizonyításában játszanak. Ez egy soha véget nem érő folyamat: jobb mikroszkópok, új kromoszómafestési eljárások, új sejttenyésztési és kezelési módszerek, a genetikai anyag új, hatékonyabb izolálási és analitikai módszerei, nagyteljesítményű (és hozzáférhető) számítógépek, és még sok más technikai vívmány volt szükséges ahhoz, hogy tudásunk jelenlegi szintjére elérkezzünk. E kísérleti eszközök nem hoznak létre, nem igazolnak vagy cáfolnak hipotéziseket. Ezeket emberek alkotják kutatói kollektívákban, vagy magánosan, de ritkán teljes elszigeteltségben.

E vázlat történeti betekintést kíván adni a genetikába az átöröklési szabályok 1860-as években leírt alapvető felfedezéseitől, a molekuláris genetikán át a populácógenetikág. Nem törekszik azonban arra, hogy részletesen ismertesse a genetikai alaptételeket, inkább előzetes áttekintést kíván adni – elsősorban humángenetikai szempontból – közben mindig hangsúlyozva a más fajokon nyert kísérleti megfigyelések fontosságát. Megkíséreljük megmutatni, hogy a tudományos kérdésekre adandó válaszok sokszor a korábbi idők kutatói összegyűjtött ismeretének rétegeire alapít. Ezek a rétegek nem egyenletesen keletkeznek az időben; sőt bizonyos tudományágak bizonyos időszakokban egyáltalán nem fejlődnek. Minden kor önmagát tekinti modern kornak. De a tudományban, mint másutt is, a végleges válaszok ritkán véglegesek.

MENDEL

Gregor (Johann) Mendel brünni szerzetes kilenc éven át végzett kísérleteket, hogy alátámassza az öröklődésről – valószínűleg megsejtés alapján – már előzetesen kialakított elméletét. Mendel korántsem volt félszeg remete, aki titokban és ismeretlenségben dolgozott, alapos előképzettséggel rendelkező, energikus, köztiszteletben álló tudós és tanár volt (1.1. ábra). Aktív résztvevője a helyi mezőgazdasági társaságnak, amelyet a birkatenyésztők, alma- és szőlőtermelők hoztak létre, elősegítendő állattenyésztő és növénytermesztő tevékenységüket, azt, hogy Brünnt (ma: Brno) virágzó gazdasági központtá tegyék. Mendel az öröklődés problémájával felettese, Napp apátúr javaslatára kezdett el foglalkozni. Az apát felvilágosult vezető volt, aki a kolostor falai között segítette a tudományos kutatást, még üvegházat is építtetett Mendel borsói számára. Annak ellenére, hogy kollégái bíztak Mendelben és érdeklődtek hibridizációs kísérletei iránt, felfedezéseinek tudomány-alapító jelentőségét nem ismerték fel.

1.1. ábra. *A Mendelnek emléket állító postabélyeg.*

Mendel minden más korábbi megállapítástól eltérő két alapvető ***öröklődési törvényt*** fektetett le. Az ***első törvény*** azt mondja ki, hogy egy egyed valamely egyszerű öröklődő jegyét két, egymástól elválni képes faktor (amelyeket ma ***egy gén alléljei***nek nevezünk) határozza meg, amelyek közül az egyed egyet-egyet örökölt mindkét szülőtől. Mendel ***második törvény***e az egyed két vagy több tulajdonságának öröklődésére vonatkozik, és megállapítja, hogy minden allélpár a többi allél-pártól függetlenül kerül az utódokba. Így lehetővé válik egy-egy keresztezés várható eredményének kiszámítása egyszerű matematikai eszközökkel. Ellentétben az akkori általánosan elfogadott, az öröklődési anyagok egybevegyülését feltételező elmélettel, Mendel az öröklődés diszkrét egységeinek

DePress

– a géneknek – a létezését tételezte fel. Ez a gondolat aztán, további kutatók által egyre finomaban értelmezve, áthatotta a biológia egészét[3].

Mendel eredményeit egy helyi tudományos csoport ülésén 1865-ben mutatta be, és azokat – újabb adatok szerint – lelkesedéssel fogadták. Ám az tény, hogy egyetlen résztvevő sem látta meg az elmélet messzeható jelentőségét, senki sem próbálta megismételni a kísérleteit, vagy elvégezni azokat más növényfajokkal, jóllehet. dolgozatát elküldte Európa és Amerika 120 könyvtárának, és a vele levelezésben álló vezető botanikusoknak. (Sajnálatosan nem írt Darwinnak, bár érdeklődéssel követte azt a vitát, amely Darwinnak az 1859-ben kiadott, A fajok eredete c. műve[4] körül kialakult. Bár Mendel munkáját a hibridizációval foglalkozó számos összefoglaló cikk idézte (beleértve 1881-ben az *Encyclopaedia Britannica*-t is), jelentőségét az ő életében nem ismerték fel.

A KLASSZIKUS GENETIKA ÉS CITOGENETIKA TOVÁBBI TÖRTÉNETE

1900-ban három európai botanikus (Correns, de Vries és von Tschermak) egymástól (és Mendeltől) függetlenül újra felfedezte az öröklődés törvényszerűségeit és az irodalomban előzmények után kutatva megtalálták Mendel közleményét 1865-ből. A közben eltelt 35 év alatt a sejtek szerkezetére és a sejtosztódás folyamatára vonatkozóan számos részlet tisztázódott. Így felfedezték a ***kromoszómák***at, a sejtek azon alkotóit, amelyek egyetlen petesejtnek egyetlen spermium által történő megtermékenyítésével kerülnek a szülőkből a gyermekekbe. Sejtosztódás során a kromoszómák sajátos és szabályszerű utat követve oszlanak meg a két utódsejt között.

1900 után rövidesen kiderült, hogy mind a látható kromoszómák, mind az addig absztrakcióként feltételezett öröklődési faktorok (gének) azonos szabályokat követve kerülnek az utódokba. Ez a megfigyelés fontos közvetett bizonyítékként szolgált arra, hogy a gének a kromoszóma részei. Döntő bizonyítékot később bizonyos rendellenes öröklődési jelenségek analízise nyújtott: a kromoszómák rendellenes megoszlása a petében vagy a spermiumban ennek megfelelően teljes mértékben egybeesett bizonyos gének hibás átadásával. A megoszlás hibáját – amit nondiszjunkciónak nevezünk (a kromoszómák szét nem válása sejtosztódás során) – manapság az örökletes betegségek egyik gyakori okaként ismerjük.

---

[3]A történelmi hitelesség kedvéért jelezzük, hogy Mendel a maga felismeréseit nem fogalmazta meg törvények formájában, ezeket – az iránta érzett tiszetelet jegyében – az utókor nevezte el Mendel-törvényeknek/szabályoknak.

[4]A mû eredeti teljes címe:*The Origin of Species by Means of Natural Selection.*

Az emberi AB0 vércsoportok öröklődése is követi Mendel törvényeit, mint ahogyan sok génikus betegség, beleértve a hemofiliát is. Ugyanezek a szabályok igazaknak bizonyúltak valamennyi eddig vizsgált növény és állat esetében is. 1920-tól kezdődően Morgan és tanítványai a *Drosophila melanogaster*-ből (gyümölcslégy, ecetmuslica) sok genetikai variánst izoláltak és vizsgálták öröklődésük módját. Leírták, hogy a nemet az X ill. az Y kromoszóma határozza meg és hogy miképpen öröklődnek az X kromoszómán található gének. Ugyancsak ők készítettek elsőként ***géntérkép***et, azaz meghatározták egyes gének egymáshoz viszonyított helyét egy adott kromoszómán, továbbá számos kromoszóma-rendellenességet is leírtak. Más genetikusok jónéhány egyéb fajon végeztek genetikai kísérleteket – a fentiekkel összevethető eredménnyel.

Kevésbé szerencsések voltak azok a tudósok, akik az emberi öröklődést kezdték tanulmányozni: csak 1956-ban derült ki egyáltalán, hogy az embernek 46 kromoszómája van. 1959. óta azonban számos emberi kórképről igazolták (beleértve a Down-kórt is), hogy azok oka valamilyen számbeli vagy alakbeli kromoszóma-rendellenesség. A humán kromoszómák géntérképezése is nagyon nehéz volt. Csupán 1968-tól, miután, a kutatók kidolgozták az emlősök szomatikus sejtjeinek laboratóriumban történő fúziójának módszerét, vált lehetővé számos humán gén kromoszómán való lokalizációja. A 1980-as évek óta, a rekombináns DNS technikák elterjedésével, rutin feladattá vált a humán gének izolálása, felszaporítása *in vitro*, nukleotid szekvenciájuk meghatározása, és számos egyéb szempont szerinti vizsgálatuk. 2001-ben pedig a Humán Genom Program résztvevői nyílvánosságra hozták a teljes emberi genom mintegy 95%-ának bázissorrendjét.

MOLEKULÁRIS ÉS BIOKÉMIAI GENETIKA

1871-ben Miescher – Mendel kortársa – a sejtmagból foszfor tartalmú anyagot izolált. Feltételezte, hogy erre a „nuklein"-re a sejtosztódáshoz van szükség, és megjósolta, hogy „Annak ismerete, hogy a mag anyagai, a proteinek és ezek közvetlen anyagcsere termékei milyen kapcsolatban vannak egymással, fokozatosan fellebbenti majd azt a fátylat, amely jelenleg teljesen eltakarja a sejtnövekedés belső folyamatait." És bár festési reakciók később kimutatták, hogy a kromoszómák egyik fő összetevője nukleinsav, jelentőségét még évtizedekig nem ismerték fel, mivel inkább a bonyolultabbnak mutatkozó kromoszóma-fehérjékről tételezték fel, hogy felelősek az öröklődésért. Az érdeklődés 1944-ben fordult a ***dezoxiribonukleinsav (DNS)*** felé, midőn Avery és munkatársai felfedezték, hogy egy baktérium egyik típusát nem fehérjével, hanem a DNS-sel lehet örökletes módon átalakítani. Watson és Crick 1953-ban közölték a DNS kettős hélix szerkezetét.

Arra, hogy a gén voltaképpen hogyan funkcionál, Garrod már sokkal korábban rájött, aki 1909-ben közölte eredményeit négy örökletes betegségről, amelyeket egyértelműen „az anyagcsere veleszületett rendellenessége"-ként írt le, amelyekben egy ***specifikus enzim*** vagy inaktívnak bizonyult vagy éppen hiányzott. Azt az elképzelést, hogy a gének enzimek termelődéséért felelősek, nem vették komolyan és csak később 1940-es években gondoltak rá újra, amikor a *D. melanogaster* szemszínéért felelős pigment szintézisét ill. a kenyérpenész tápanyagigényét kezdték tanulmányozni. Mindkét rendszerben a gének mutációja a normális körülmények között egy-egy specifikus enzim által katalizált biokémiai reakciót akadályozott. További kutatások alapján e koncepció finomított, bár egyszerűsített változata szerint, ***egy gén – egy polipeptid lánc*** szintézisét irányítja.

Pauling a humán hemoglobinnal, a vörösvértestek fehérjéjével kapcsolatban kutatta a gének hatásmódját. Feltételezte, hogy az örökletes megbetegedésként jól ismert sarlósejtes vérszegénység oka egy abnormális hemoglobin. Ingram meghatározta mind az egészséges, mind a sarlósejtes vérszegénységben szenvedő betegekből származó β-globin lánc polipeptidjének aminosav sorrendjét. A két – 146 aminosavból álló – polipeptid lánc meglepő módon, csupán egyetlen aminosavban tért el egymástól. E megfigyelés bebizonyította, hogy minden gén egymástól különböző ***allél***je legalábbis kismértékben eltérő polipeptidet képez. Világossá vált, hogy a DNS láncot felépítő alapegységek, a ***nukleotidok*** sorrendje határozza meg a polipeptid láncban az aminosavak speciális sorrendjét, és egy hiba a DNS láncban hibát eredményez a polipeptid termékben is. Azt, hogy a gén adott nukleotid szekvenciáinak megváltozása aminosav-cseréket okoz a géntermékében, elegáns kísérletekkel bizonyították mikroorganizmusokban is.

A genetikai kód megfejtése – azaz annak meghatározása, hogy pontosan melyik nukleotid szekvencia határozza meg az egyes aminosavakat – volt a korai 1960-as évek genetikájának legizgalmasabb vállalkozása. A genetikai kód azonosnak, vagy legalábbis közel azonosnak bizonyult valamennyi élőlény DNS-ében.

Az utóbbi évtizedekben a gének működéséről szerzett ismereteinket a vírusokkal, baktériumokkal és más mikroorganizmusokkal végzett kutatások szolgáltatták. Ezek az élőlények valamennyien utódok millióit tudják létrehozni rövid idő alatt. Különösen tanulságosak a vírusok, amelyek képesek békésen együtt élni azokkal a sejtekkel, amelyeket megfertőznek; ehhez az szükséges, hogy DNS-üket a gazdaszervezet DNS-ébe beépítsék. A molekuláris biológusok e trükköt sikeresen lemásolták, azaz, megoldották, hogy miképpen lehet pl. baktériumok DNS-ébe más szervezetből származó, akár humán DNS-t is beépíteni. Ez a DNS specifikus, rövid szekvenciáit felismerő és elhasító enzimekkel, a ***restrikciós endonukleázok***kal valósítható meg hatékonyan, melyeket 1975-től kezdve használnak kiterjedten. Innen számíthatjuk a ***génsebészet*** kialakulását. Az így elszaporított – klónozott – géneket a kutatásban, az iparban, ill. a mezőgazdaságban is hasz-

DUPLICATE

nosítják már. Ezek a kifinomult és nagyon hatékony ***molekuláris technológiák*** forradalmasították a genetika és molekuláris biológia csaknem valamennyi ágát; pl. lehetővé tették, hogy géneket izoláljanak és tanulmányozzanak, célzott mutációkat hozzanak bennük létre a DNS meghatározott pontjain. Lehetségessé vált, bár óriás feladat volt, a humán genom teljes bázissorrendjét meghatározni! E kutatási terv hasznosságát illetően még a tudósok között is heves vita támadt: milyen kihatása lesz ennek a humángenetikára és az orvoslásra.

A baktériumokkal végzett munkákból következtettek arra is, hogy léteznek ***szabályozó (regulátor) szakaszok***, amelyek más géneket be- és kikapcsolnak. Szerepük tanulmányozása magasabbrendű szervezetekben segíteni fog a biológia egyik legfontosabb kérdésének megértésében, nevezetesen, hogy a sejtek hogyan differenciálódnak, hogyan válnak egymástól eltérővé, pl. megérteni azt, hogy bár génjeik azonosak, mégis milyen nagy mértékben tér el egymástól egy ideg- és egy májsejt. Jelentős áttörés történt 1984-ben, amikor felfedezték, hogy a *Drosophila*, az egér és az ember is rendelkezik olyan génszakasszal, (amelyet ***homeobox***-nak neveznek) amely az embrionális fejlődés során más géncsoportok kifejeződését szabályozza. A homeoboxok nukleotid szekvenciája nagyon hasonlónak bizonyult egymástól távoli fajokban is. McClintock kukoricán tett megfigyelései nyomán váltak ismertté a ***mozgékony elemek*** (*transposable elements*). Ezek a kromoszóma különböző helyeire beépülhetnek és ott géneket be- vagy kikapcsolhatnak. Később ezt a jelenséget más fajokban is észlelték. Más gének, amelyek a normális sejtnövekedést szabályozzák, ha mutációt szenvednek, rákot indukálhatnak. Ezeket ***onkogén***eknek nevezzük.

POPULÁCIÓGENETIKA

1858-ban Darwin és Wallace közel egyidejűleg egy-egy rövid esszét közöltek az evolúcióról. Ez a fogalom már a megelőző évtizedekben bekerült a köztudatba, miután kövületek tanulmányozása arra utalt, hogy az élő formák lassan, de folytonosan változnak. Darwin, ill. Wallace e változások *mechanizmusára* adtak választ: az evolúció természetes szelekció útján megy végbe.

Egymástól függetlenül gyűjtött adataik alapján mindketten arra a következtetésre jutottak, hogy a fajok fokozatos átalakulása az egymásutáni nemzedékek során azáltal következik be, hogy a népesség jobban alkalmazkodott tagjai több utódot hagynak maguk után, mint kevésbé adaptált társaik. Azokat a kis különbségeket, amelyek az egyiket a másiknál sikeresebbé tették – az élelemszerzésben, a védelem-keresésben, a ragadozók elkerülésében – öröklődőeknek tekintették. És, mivel ezek az egyedek több utódot hagytak

maguk után, a populáció tulajdonságainak átlaga a nemzedékek során átalakult. Végül az egy fajból földrajzi okok miatt izolálódó alcsoportok két vagy több új fajjá alakultak.

Az elmélet vitát váltott ki, mivel ellentétben volt a vallási tanítással, mely szerint valamennyi faj azonos időben teremtődött, és azóta nem változott. Az elméletből még az is fakadt, hogy talán maga az ember is csupán az evolúció terméke, s nem különbözik minőségileg más élőlényektől.

Darwin nem tudott válaszolni arra a kérdésre, hogy milyen módon keletkeznek és öröklődnek a változások. Valójában e kérdésekre adott válasza hibás volt. Mendel megoldotta az öröklődés kérdését, de sohasem írt erről Darwinnak. A változékonyság eredetére vonatkozóan 1900-ban derült fény: hirtelen bekövetkező, gyakran csupán kevéssé szembetűnő, maradandó gén-megváltozások – ***mutációk*** – szolgáltatják az evolúcióhoz szükséges variánsokat.

A korai 1900-as években matematikai képleteket dolgoztak ki annak leírására, hogy a gének hogyan oszlanak meg egy nagy, véletlenszerűen kereszteződő populációban. Haldane, Fisher és Wright az 1930-as években dolgozták ki a populációgenetika meglehetősen bonyolult matematikai módszertanát. Az ő képleteik segítségével értékelni lehetett a szelekció, a vándorlás és a populáció-nagyság relatív hatását az evolúciós változásokban – és azt, hogy e változások milyen gyorsan vagy lassan mennek végbe. Későbbi kutatások az afrikai populációkban észlelt sarlósejtes vérszegénységre vonatkozóan megmutatták, hogy milyen összefüggés lehet a környezeti tényezők és a genetikai változások között. Ebben az esetben értelmezni lehetett, hogy a maláriás vidékeken miért gyakoribb a sarlósejtes vérszegénység, mint ott, ahol nincs malária. Újabban populációgenetikusok is a molekulák szintjén tanulmányozzák az evolúciót (belefoglalva azt az elméletet is, hogy némely mutáció a szelekció szempontjából semleges, és hogy az evolúció néha robbanásszerűen megy végbe egy-egy élőlénycsoport relatíve gyors megváltozásával).

Az evolúció nyersanyagát a folytonosan keletkező mutációk képezik. Ezek a gének maradandó megváltozásai, amelyek következménye a megfelelő polipeptidek szerkezetének, vagy képzésük mértékének a módosulása. Ellentétben a tudományos fantasztikus irodalommal, a legtöbb, a természetes szelekció által megőrzött mutáció csupán kis változásokat hozott létre a test szerkezetében vagy működésében. A mutációk előre megjósolhatatlanok, általában nincs közvetlen hasznuk a szervezet számára, sőt egyenesen károsak. Néha azonban hordozóikban való jelenlétük azok jobb alkalmazkodását teszik lehetővé a meglevő vagy a jövőbeni körülményekhez. Az 1920-as években Müller zseniális módszert dolgozott ki a mutáció mértékének meghatározására gyümölcslegyekben. Kimutatta, hogy bár a röntgensugárzás drámai mértékben növeli a mutációs rátát, az így keletkezett mutánsok nem különböztek a spontán létrejöttektől. A későbbiekben a mutációs rátát számos fajban meghatározták; más típusú sugárzások, valamint sok kémi-

ai termék is mutagénnek bizonyult. A régi és új környezeti tényezők genetikai hatásainak az értékelése változatlanul bonyolult és nehéz feladat.

AZ ÖRÖKLŐDÉS ÉS KÖRNYEZET, A TERMÉSZET ÉS A NEVELÉS PROBLEMATIKÁJA – KVANTITATÍV GENETIKA

A faj nem minden változata keletkezik génmutáció hatására. Környezeti különbségek is nagy szerepet játszanak. Galton már 1900 előtt megkísérelte az öröklődés és a környezet relatív hatásait megkülönböztetni olyan ***mennyiségi jellegek*** esetében, mint a magasság, szellemi képességek és a magatartásbeli tulajdonságok. Ezen tulajdonságok megjelenésének mértéke folyamatosan változik a populáció egyedeiben egyik és másik véglet között, és aligha lehetséges őket kisszámú, egymástól jól elhatárolódó, át nem fedő csoportokba sorolni. Galton rakta le a ***biometria*** alapjait, a statisztika tudományának alkalmazását a biológiában. Ő és mások is eleinte inkább az örökítő anyagok *összekeveredésének* és nem Mendel *részecske elméletének* adtak hitelt.

1910 körül kimutatták, hogy az olyan örökletes mennyiségi jelleg, mint az emberi bőrszín néhány mendeli gén együttes hatásával megmagyarázható. Bár a biometriai módszerek fejlődése a mezőgazdasági alkalmazás jobb megértését és gyakorlatát eredményezte, sem ezekkel, sem más módon nem sikerült meghatározni az örökletes (természeti) és a környezeti (nevelési) faktorok szerepének mértékét a humán mennyiségi jellegek létrejöttében. Viták elsősorban az IQ genetikai meghatározottságának mértékéről folynak a különböző rasszok viszonylatában. És bár az ikerkutatás idevonatkozó eredményei fontos érveket szolgáltattak, ezek az adatok nem eléggé pontosak és ezért hasznuk korlátozott.

Galton ***eugenika***nak nevezte el azt a tudományos irányzatot, amelynek célja, hogy megjavítsuk saját emberi genetikai örökségünket. A célkitűzés azt a naív optimizmust tükrözi, amely a mesterséges szelekció alkalmazásával oly sok sikert hozott a mezőgazdaságban: segíteni a „jobb" egyedek elszaporodását és hátráltatni vagy megakadályozni ebben a „gyengébbeket". Sajnálatos módon az eugenikai mozgalmat az idealisták mellett a demagógok is meglovagolták és a darwini szelekció értelmét meghamisítva hozzájárultak a holocaust öldökléseihez a náci Németországban. Annak előtérbe állításával, hogy a „rossz" géneket csökkentik a populációban, amikor szegényeket, bűnözőket, gyengeelméjűeket és bevándoroltakat pusztítanak el, ez az irányzat erkölcsi értelemben rossz hírbe keveredett.

Ma már tudjuk, hogy még a legnemesebb szándékú kísérlet is arra, hogy az emberi génösszetételt megváltoztassuk, nehézségekkel teljes. Először is a populációgenetika legegyszerűbb egyenleteiből is kitűnik, hogy ha meg is akadályoznánk a ritka recesszív

géneket hordozó emberek szaporodását, a káros gének gyakorisága alig változna. Másrészt – enyhén szólva is – meglehetősen bizonytalanok azok a kritériumok, amelyeknek alapján eldöntenék, hogy ki szaporodjon és ki nem, továbbá könnyen felhasználható bűnös társadalmi és politikai célokra.

Szerencsére a humángenetikát lehet humánus módon, az egyén hasznára alkalmazni – amikor is az egyre kifinomultabb prenatális (a születést megelőző) diagnosztikus módszerekkel és a genetikai tanácsadással meg lehet előzni családi tragédiákat, ill. meg lehet nyugtatni azokat, akik szerencséjükre mentesek a örökletes rendellenesség kockázatától. Nagy óvatosságot, körültekintést és tapintatot igényel azonban az, ha nagy volumenű szűrővizsgálatot tervezünk, vagy kivitelezünk egy adott örökletes rendellenességre nézve nagyobb kockázatú népességben. Még akik mindenféle szűrést elleneznek, azok sem térhetnek ki az elől a probléma elől, hogy mit lehetne tenni annak érdekében, hogy legalább megőrizzük a humán populáció jelenlegi génösszetételét, amikor az orvoslás fejlődése következtében olyan kóros gének is fennmaradnak, amelyek különben az őket hordozó egyedek halála esetén eltűntek volna. Az orvosi beavatkozások hosszú távú genetikai és társadalmi következményeiről még valószínűleg sokáig fognak vitatkozni.

A sejtosztódás áttekintése genetikai szempontból

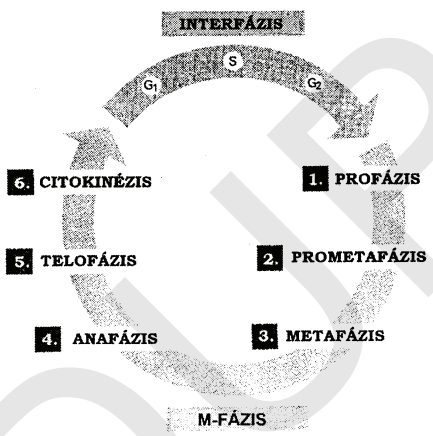
A sejtosztódás lefolyását, szabályozását a Sejttan keretében tanítják részletesen (l. Biológia Gyógyszerész Hallgatóknak [a továbbiakban rövidítve: BiolJegyz] 12. fejezet). A genetika szempontjából az az osztódás leglényegesebb mozzanata, hogy az utódsejtek a fajra jellemző gének teljes sorozatát öröklik.

Ez viszonylag könnyen megvalósítható prokarióták esetében, ahol a teljes génsorozat egyetlen DNS molekulán, a körré zárt baktérium kromoszómán található. A megduplázott kromoszómát egy meghatározott nukleotid sorrendű szakaszhoz kapcsolódó fehérjék húzzák az osztódó sejt ellenkező pólusaihoz. Ez biztosítja, hogy az utódsejtek génállománya ugyanaz legyen, mint a szülősejté volt. Az esetenként előforduló, a kromoszómákkal azonos számban jelen lévő nagy plazmidok szétosztása az utódsejtek között hasonló mechanizmussal, de más jelző szakasz és más fehérjék közreműködésével történik. Ha nagy számban előforduló kis plazmidok vannak a baktérium sejtben, a puszta véletlen elegendő ahhoz, hogy mindkét utódsejtbe kerüljön belőlük legalább néhány példány. (l. BiolJegyz 12. fejezet)

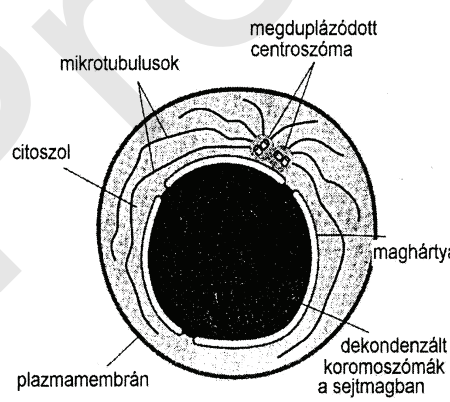
Az eukarióta sejtek osztódásának két típusa ismeretes. Egyik a számtartó ***mitózis***, másik a kromoszómaszám megfelezését eredményező ***meiózis***.

MITÓZIS – SZÁMTARTÓ SEJTOSZTÓDÁS

A mitózis során a megduplázódott kromoszómák testvérkromatidjaiból egy-egy kerül mindkét utódsejtbe. (Ezek ugyanannak a kromoszómának egymással teljesen egyező másolatai – a szemikonzervatív DNS replikáció termékei.) Mitózissal haploid és diploid sejtek egyaránt osztódhatnak. A mitózis eseményeit az 1.2. ábrán szemléltetjük. A két osztódás között az interfázis ***S szakasz***ában megduplázódik a DNS-állomány a sejtmagban (1.2. ábra). Mivel minden kromoszómába egyetlen DNS molekula csomagolódik (ember diploid sejtjeiben a közel két méter hosszúságú DNS 46 kromoszóma között van szétosztva!), a DNS molekulák megduplázódása egyet jelent a kromoszómák megduplázódásával.



1.2. ábra. *Mitózis és sejtciklus.* Az ábra a valóságosnál sokkal rövidebbnek mutatja az interfázist benne a G1, S és G2 szakaszokkal. (Valójában ezek időtartama a ciklusnak mintegy 80-90 %-át teszi ki.) A jobb áttekinthetőség kedvéért a mitózis fázisait megnyújtottuk.

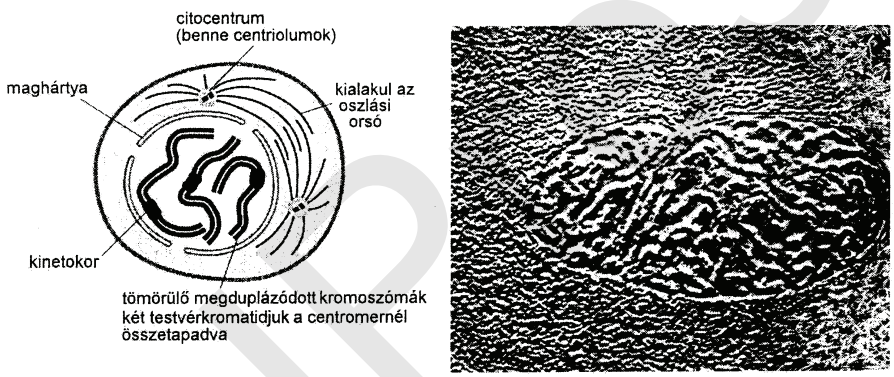


1.3. ábra. *Interfázisban lévő sejt vázlatosan.* A maghártya megtartott, a mag kromatin állományában az egyes kromoszómák nem különböztethetők meg.

DUPress

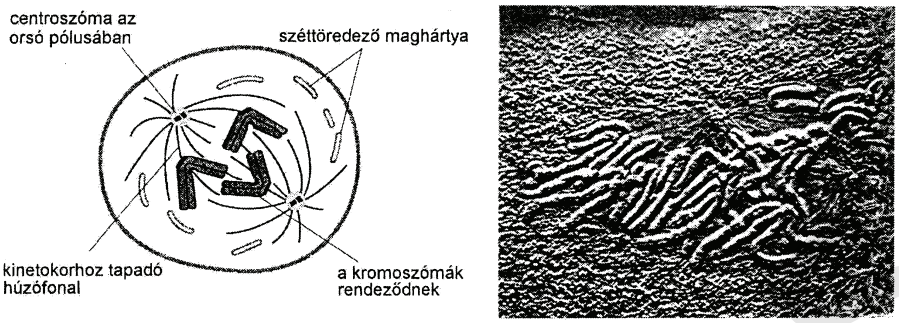
A DNS duplázódását hosszabb-rövidebb ***felkészülési szakasz (G_1)*** előzi meg és egy ***várakozási szakasz (G_2)*** követi. Maga a mitózis ezután kezdődik szabályozó kaszkádok indító hatására.

A MITÓZIS SZAKASZAI (1.4.-1.9. ábrák)

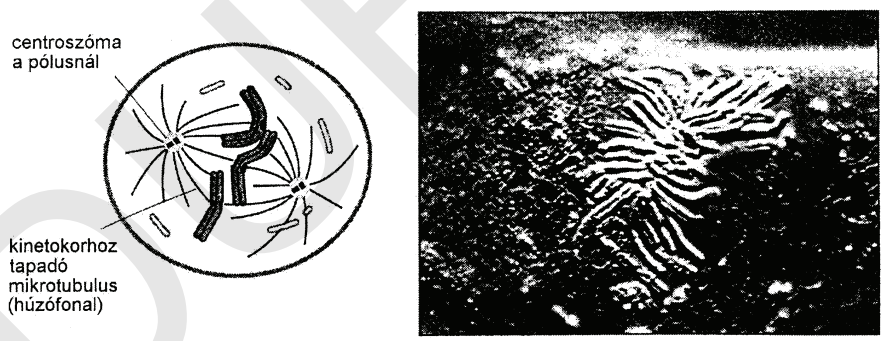


1.4. ábra. *Profázis.* (Az 1.4.-1.9. ábrákon a bal oldalon vázlatos rajz, jobb oldalon interferencia kontraszt mikroszkóppal készült fénykép látható.) A magban a kromatin állomány mikroszkóppal látható kromoszómákba tömörül. A citoplazmában a megkettőződött citocentrum két ellentétes pólusra vándorol, formálódik az oszlási orsó.

DUPLA

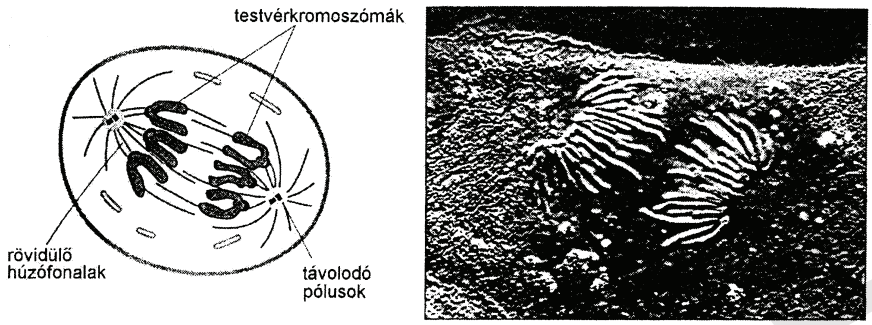


1.5. ábra. *Prometafázis.* Szétesik a maghártya, a kromoszómák kinetokorjaihoz húzófonalak (mikrotubulusok) kapcsolódnak. A kapcsolódás csak akkor stabilizálódik, ha egyik testvérkromatid kinetokorjához az egyik pólushoz, a másikhoz a másik pólushoz tartozó húzórost kötődik. (Ez a mechanizmus akadályozza meg, hogy mindkét testvérkromatid ugyanabba az utódsejtbe jusson, míg a másik utódsejtbe nem kerülne be az adott kromoszóma egyetlen példánya sem.)

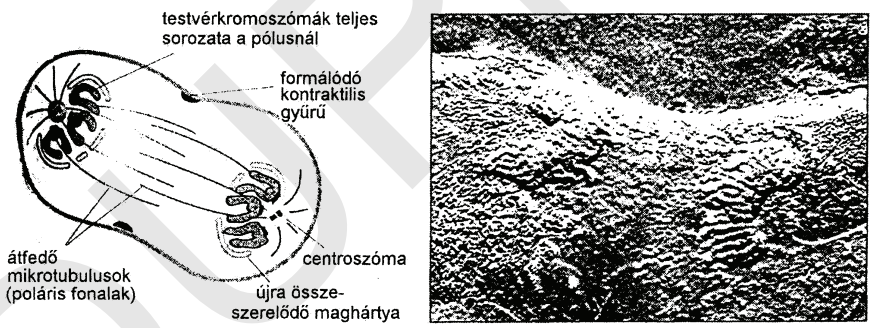


1.6. ábra. *Metafázis.* A kromoszómák (két pólus irányában már elkötelezett, de még egymáshoz tapadó testvérkromatidokkal) felsorakoznak az orsó egyenlítői síkjában. Ez az osztódási szakasz a legrövidebb, a felsorakozás megtörténtével véget is ér. A kromoszómák ebben a szakaszban vizsgálhatók eredményesen.

DUPress

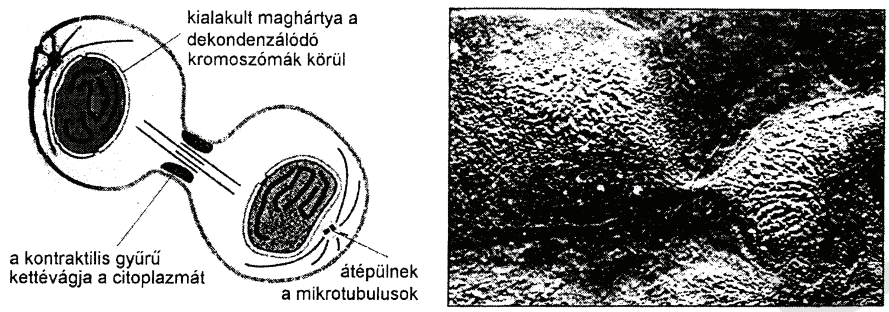


1.7. ábra. *Anafázis.* Az eddig már csak a centromerjüknél egymáshoz kapcsolt testvérkromatidok összetapadása hirtelen megszűnik, szétválnak, a kinetokorjukhoz kapcsolódó húzófonalak az ellentétes pólusokhoz húzzák őket.



1.8. ábra. *Telofázis.* A pólusokhoz húzott kromoszómák dekondenzálódnak, körülöttük újra összeszerelődik a maghártya. Állati sejtekben az egyenlítői síkban megjelenik a membrán belső felszínén, a membránhoz kapcsolódó kontraktilis gyűrű.

DUPress



1.9. ábra. *Citokinézis.* Állati sejtekben a kontraktilis gyűrű összehúzódása magával húzva a membránt kettéfűzi a citoplazmát. Növényi sejtekben fragmoplasztok membrán hólyagjainak összeolvadásával a sejteket elválasztó membrán kettőzet, majd sejtfal alakul ki.

A mitotikus osztódás végeredménye az anyasejttel mindenben – örökítő anyagban is! – megegyező, egymással azonos két utódsejt. Ilyen módon haploidból haploid, diploidból diploid sejtek jönnek létre.

MEIÓZIS – SZÁMCSÖKKENTŐ (REDUKCIÓS) SEJTOSZTÓDÁS

Az ivaros szaporodásnak két fontos követelménye van a populációk számára: a gének keveredésének biztosítása és a diploid állapot megőrzése.

A diploid állapot lehetővé teszi, hogy a különböző génekben mutáns genomok egymás hibáit kompenzálják. Mi több, gyakran a heterozigóta állapot kedvezőbb az egyed túlélése szempontjából, mint akár egyik, akár másik allél homozigóta állapota. Az ivaros szaporodás adja a különböző allélváltozatok állandó újrakombinálódását. Ehhez a diploid összekevert két genomjának szaporodásakor két külön genommá kell szétválogatódnia.

A meiózisban létrejövő halpoid ivarsejtek a szülő diploid génállományának felét-felét tartalmazzák, minden egyes allélpárból egy-egy allélt. A haploid sejtek minden homológ kromoszómapárból egyet-egyet tartalmaznak. Ezt ***a teljes és ismétlés nélküli kro-***

moszóma-sorozatot nevezték régebben ***kromoszóma szortimentum***nak, a benne lévő gének együttese felel meg ***egy genom***nak. (Ez utóbbi megnevezés lett mára elterjedtebb.)

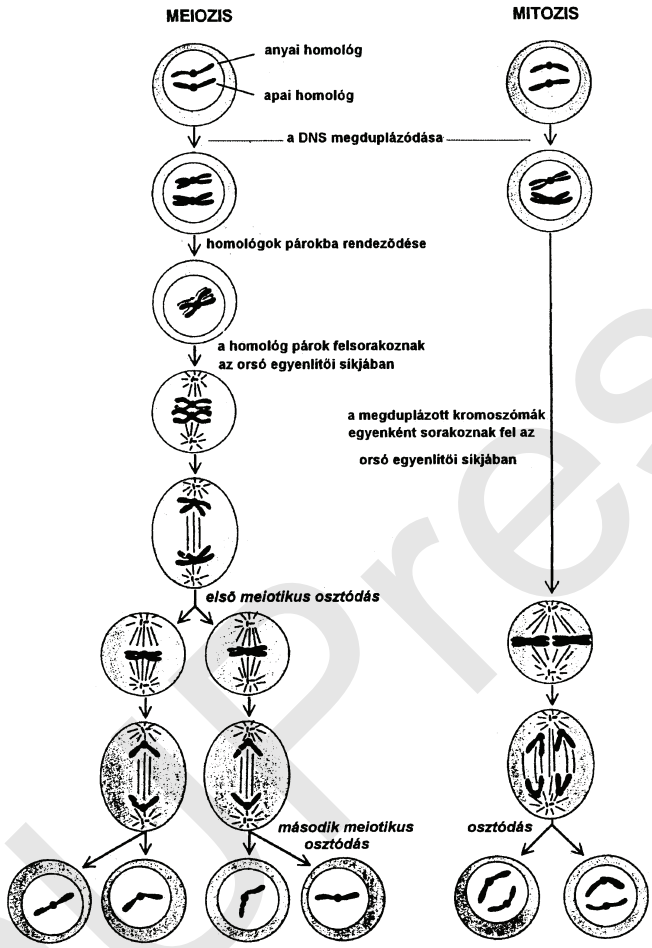
A meiózisban két osztódás követi egymást és közöttük nincs DNS duplázódás. Négy utódsejt jön létre, melyek kromoszómaszáma a kiindulási sejt kromoszómái számának fele. Értelemszerűen a kiindulási sejt kromoszómáinak száma általában páros. Mi több, ezen belül mindegyik kromoszómának homológ párja van (azaz olyan másik kromoszóma, mely DNS-ének bázissorrendje azonos az adott kromoszóma DNS-ének bázissorrendjével – néhány kisebb eltérést leszámítva.) Más kifejezéssel a meiózis csak diploid (esetleg tetra v. hexaploid, stb.) sejtekből indulhat ki.

Ez az osztódási forma az ivaros szaporodás kulcseseménye. Általa keletkeznek azok a haploid sejtek, melyek összeolvadásával az új génösszetételű diploidok létrejöhetnek.

Magasabbrendű szervezetek testi sejtjei diploidok, ivarsejtjeik meiózissal jönnek létre és haploidok. (Vannak alacsonyabbrendűek, melyek haploid sejtek formájában léteznek. Ezeknél a diploid állapot létrejöttét azonnal, vagy néhány mitotikus osztódás után meiózis követi.)

A meiózis sokban emlékeztet a mitózisra. A legnagyobb különbséget az első meiotikus osztódásban találjuk. Az első meiotikus osztódás (meiózis I.) profázisa megnyúlt, öt szakaszra tagolódik. Ezekben az alszakaszokban történik meg a homológ párok összeválogatása, mely lehetővé teszi, hogy minden homológ párból a pár egyik tagja egyik, másik tagja a másik utódsejtbe kerüljön (1.10. ábra).

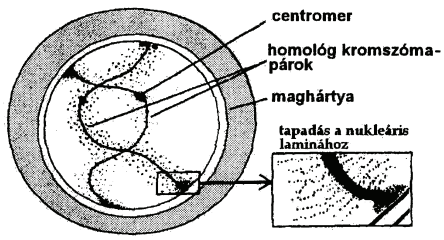
DUPLÁS



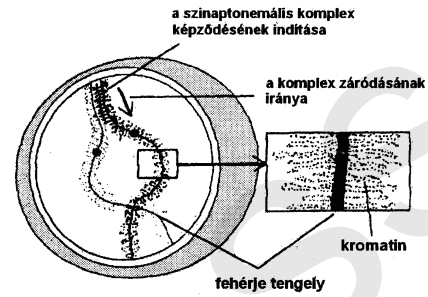
1.10. ábra. *Mitózis és meiózis összehasonlítása.* Mindkét osztódási formát a DNS, s vele a kromoszómák megduplázódása előzi meg. A mitózis egyetlen osztódás, melyben az utódsejtek minden kromoszómából 1-1 példányt kapnak (egyik ill. másik testvérkromatidot). A haploid sejtből halpoid, a diploid sejtből diploid utódsejtek jönnek létre. A meiózis diploid – különös esetben tetra- ill. hexaploid – sejtekből indulhat csak. Két egymást követő osztódásból áll. Az első osztódáskor a homológ párok tagjai válnak el egymástól, a második osztódáskor a különvált homológok testvérkromatidjai válnak szét. Az eredmény diploid sejtből négy haploid utódsejt.

DUPress

MEIÓZIS I – A PROFÁZIS ALSZAKASZAI

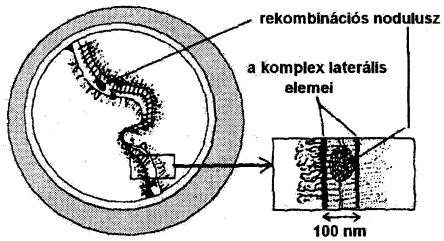


1.11. ábra. *Leptotén szakasz.* Megkezdődik a megduplázott kromoszómák kondenzációja (tömörödése). A két testvérkromatid egyetlen vékony fonal formájában válik mikroszkóppal észlelhetővé. A sejtmagot egymást átfedő vékony fonalak töltik ki, ezek végei a nukleáris laminához, a magboríték belsejéhez tapadnak és e kapcsolódási pontok vándorolnak.

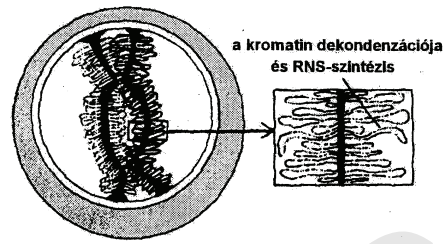


1.12. ábra. *Zigotén szakasz.* A magburoknál egymással találkozó homológ párok végei egy specifikus fehérjeszerkezet (szinaptonémális komplex) segítségével összekapcsolódnak. Az összekapcsolódó szinaptonémális komplex tovább épül és a homológ párokon lokuszról lokuszra haladva, azokat összeköti, mintha egy cipzár záródna közöttük a maghártyától a mag belseje felé haladva. Az így kialakult képleteket ***bivalens***eknek nevezik. Mivel bennük két-két testvérkromatid áll össze egyetlen látható fonállá, ***tetrád***nak is mondják ezt a formációt. Ebben a lépésben történik a homológ párokon az azonos lokuszok, a bázissorend szintjén azonosított DNS szakaszok felismerése és kapcsolása.

DUPress

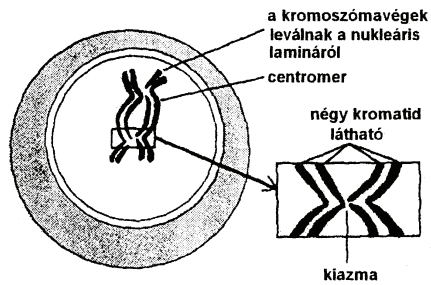


1.13. ábra. *Pachitén szakasz.* A szinapszis-képzés befejeződése után az egymással összekapcsolt homológ párok kromatin állománya vastag fonalak formájában látható a mikroszkópi képen, azaz ezek bivalens jellege itt nem észlelhető. Számban ill. hosszúságban az összes fonal hosszúsága kb. fele, vastagsága kb. Kétszerese a leptoténben látható képletekének. A szinaptonémális komplexben találhatók a rekombinációs enzimek, ún. Rekombinációs noduluszokban. A *crossing over* végbemenetelét a legtöbb szerző ehhez a szakaszhoz köti, kevesebben említik a zigotént. Akármelyik nézetet fogadjuk is el, ennek a genetikai szempontból rendkívül jelentős eseménynek mindenképpen a tökéletes szinapszis-képzés az előfeltétele.

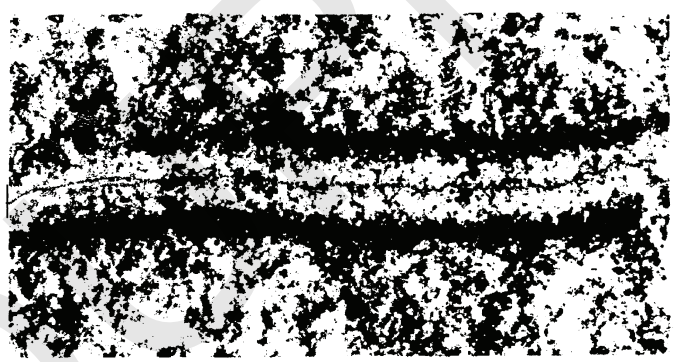


1.14. ábra. *Diplotén szakasz.* Miután megtörtént a homológ-párok tagjainak összeválogatása és összekapcsolása, a kromoszómák teljes hosszában létrejött a szinapszis, megtörténtek a homológ párok tagjai között a crossing overek, megkezdődik a szinaptonémális komplexek lebontása. A homológ párok tagjai kissé távolodnak egymástól, de még nem válnak szét, mert egy vagy több kiazma összetartja őket.[5] A ***kiazma*** a kromatidák mikroszkóppal látható átkereszteződése a pár tagjai között, a lezajlott crossing overeket jelzi. A tényleges csere helyétől fokozatosan távolodik a kromoszómák vége felé (ahogy a kromatidák távolodnak egymásból). A kromoszómák tömörödése folytatódik, az alszakasz végére felismerhető a két homológ két-két testvérkromatidja, azaz láthatóvá válik a tetrádokban a négy kromatid. Elektronmikroszkóppal vizsgálva a kromoszómák többékevésbé „lámpakefe" jellegűek: kromatinhurkok lógnak ki a kromatidokból, s ezeken RNS-szintézis folyik. Magasabbrendűek, így a *Homo sapiens* petesejtje is ebben a stádiumban várakozik az embrionális kortól a tüsző éréséig (ember esetében akár 50 évig is).

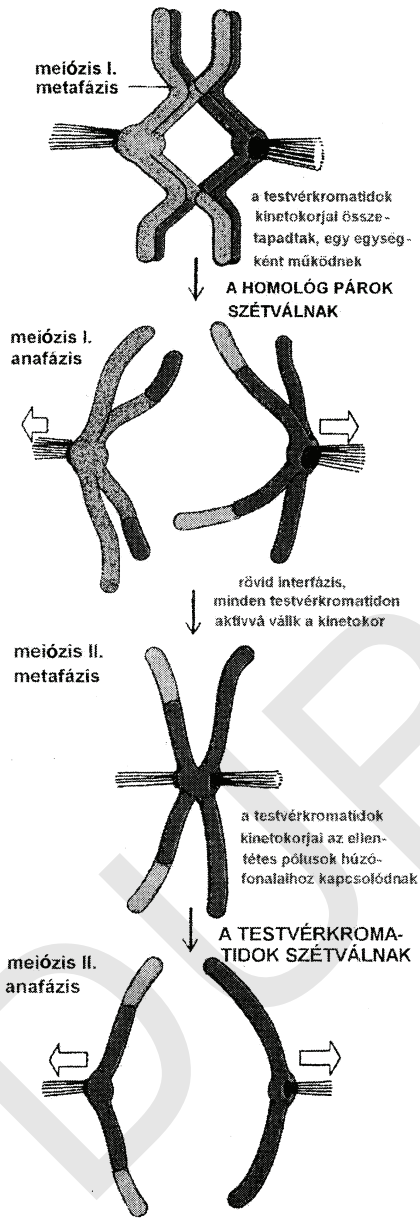
[5] Nem minden homológ pár esetében vannak kiazmák. Pl. hím *Drosophilák* spermiogenezisében nincs crossing over, nincsenek tehát kiazmák sem. A homológ párok között nem látunk összetartó szerkezetet, mégis össze vannak kötve!



1.15. ábra. *Diakinézis.* A kromoszómák elnyerik szokásos alakjukat. Minden kromoszóma bivalens, azaz egymás mellett tartalmazza a homológ pár anyai és apai eredetű tagját. Mindkettő két-két testvérkromatidból áll, melyek jól felismerhetők mikroszkópos képen. A négy kromatidból álló tetrádokban a centromerek területén a testvérkromatidokat fehérjeszerkezet tartja egymáshoz kötve. Ellentétben a mitózissal, a testvérkromatidok centromerjén a meiózis I.-ben csak egy aktív kinetokor alakult ki (4. és 5. ábra).

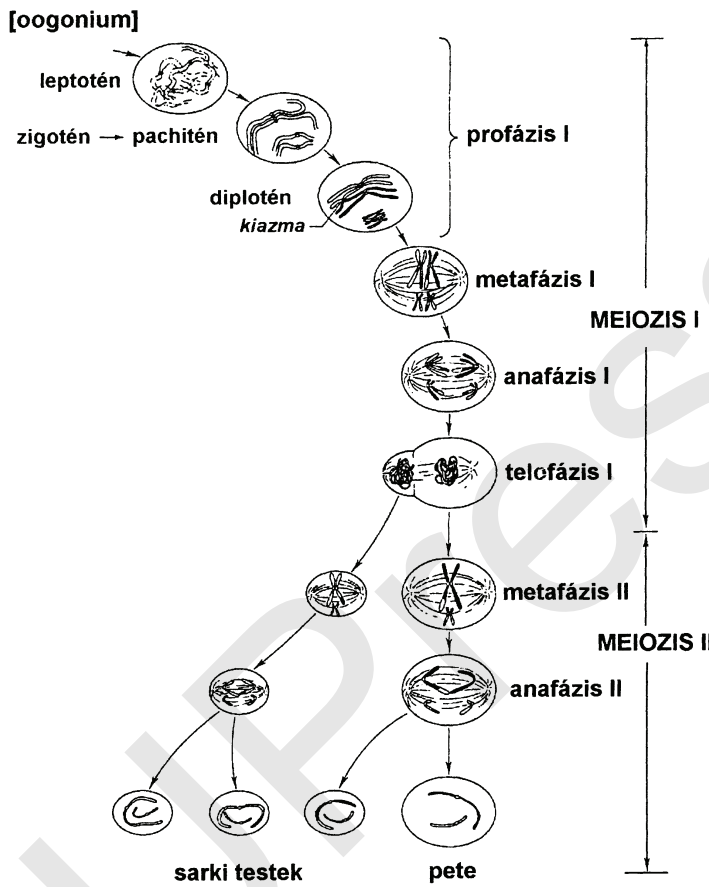


1.16. ábra. *Szinaptonémális komplex elektronmikroszkópos képe.* Középen a centrális komponens, két szélen a laterális komponensek, melyekhez két oldalról a homológ párok kromatin hurkai kapcsolódnak (mindkét oldalon 2-2 kromatid). A centrális és laterális szalagokat keresztbe futó fehérjeszálak kötik össze.



1.17. ábra. *A homológ kromoszómapárok és ezek testvérkromatidjainak szétválása meiózisban* (elvi vázlat). Tetrádok (= homológ párok) kiazmákkal, crossing overrel. Az első és második meiotikus osztódás lényege és legfontosabb eseményei.

DBPress



1.18. ábra. *A meiózis lépéseinek összefoglalása* (a profázis részeleteit lásd előbb).

Meiózis I, prometafázis. A maghártya szétesését követően hasonlóan zajlanak az események, mint mitosisban, azzal a különbséggel, hogy nem testvérkromatidok, hanem homológ párok tagjainak szétválasztását készíti elő a húzórostok kapcsolódása. Az egyik pólus felől érkező húzórost véletlenszerűen találkozik a tetrádot alkotó egyik vagy másik homológ két testvérkromatidájához tartozó egyetlen kinetokorral. A húzás a tetrádot fordítja úgy, hogy a homológ pár másik tagjának kinetokorja a másik pólus felé nézzen. Az orsó akkor stabilizálódik, mikor a homológ pár egyik tagja az egyik, másik tagja a másik pólushoz tartozó húzórosthoz kapcsolódik. Ez eredményezi az osztódás során a kromoszómák számának megfeleződését, és egyben azt, hogy az utódsejtek mindegyike minden kromoszómából kapjon egy-egy példányt. Minden bivalens kettéválasztása a többitől füg-

DUPress

getlen, önálló esemény. Csak a véletlenen múlik, melyik tagja melyik utódsejtbe jut.

Meiózis I – metafázis, anafázis, telofázis. Úgy zajlik le, mint mitózisban. Spermiumok képzésekor a citokinezis is olyan, míg petesejt érésekor mind az oszlási orsó elhelyezkedése, mind a citoplazma ezt követő kettéosztódása aszimmetrikus és egyenlőtlen, az elsőrendű sarki sejtbe (*polocita*) csak elenyésző mennyiség kerül az utóbbiból.

Meiózis II. A második meiotikus osztódás eseményeit és azok sorrendjét tekintve egyezik a mitózissal. Az első meiotikus osztódástól hosszabb-rövidebb szünet választja el. Ez a szünet nem felel meg a mitotikus ciklus interfázisának. Nincs benne DNS-duplázódás, és nincs G_1, G_2 szakasz. Az osztódás kezdetén minden homológ párból egy-egy példány van jelen megduplázott állománnyal. Így a profázis, prometafázis során szemben a mitózissal 2n helyett n kromoszóma alakul ki 2-2 testvérkromatiddal, melyek az anafázis során egymástól elkülönülnek.

A MEIÓZIS EREDMÉNYE

A két meiotikus osztódás eredményeképpen létrejött négy sejt mindegyike haploid. Minden homológból egyet-egyet tartalmaz egyetlen példányban. Spermiogenézisben összességében négy egyforma sejt keletkezik, míg a petesejt kialkulásában itt is inekvális az osztódás: a másodrendű polocitában minimális mennyiségű citoplazma kerül. (Az emberi oogenezisben a második meiótikus osztódás kiváltó ingere a spermium fejének behatolása, tehát praktikusan csak a megtermékenyülő petesejt fejezi be a meiózist, aminek komplettálása után egyesül egymással a két ivarsejt pronukleusza.)

DUPLÁSS

DUPress

2. FEJEZET

A GÉNÁTADÁS ALAPSZABÁLYAI: MONOLOKUSZOS ÖRÖKLŐDÉS

Autoszomális gének: Mendel első törvénye

Mendel kísérletei
Modern nómenklatúra (Mai elnevezések)
A Punnett (sakktábla) módszer
Az utódvizsgálat módszerei – teszt-keresztezés

X-hez kötött gének

A nem meghatározása
Gének a nemi kromoszómákon
A színvakság
A hemofília
Duchenne-féle izomdisztrófia (DMD)
X-hez kötött letális gének – eltolódás a nemek arányaiban

Y-hoz kötött gének

Többszörös allélek

A többszörös allélsorozatok eredete
Az allélek genotípussá kombinálódása

A heterozigóták fenotípusa

A megfigyelés szintjei

DUPress

A valószínűségszámítás néhány szabálya

Definíció
A valószínűségek kombinálódása

A gaméták tisztasága (Mendel első törvénye) alkalmazása két génre

Nem-homológ kromoszómákon lévő gének: Mendel második törvénye

Gaméták arányai
Az utódok geno- és fenotípusai kétgénes öröklődés esetében
A gén × gén módszer
Mendel második törvénye és a meiózis

A génexpresszió variációi

Nemek szerinti különbségek
Változó expresszivitás
Inkomplett penetrancia
Génkölcsönhatások
Anyai génhatás
Egy gén több hatással
Egy fenotípus különböző okokból

Adatfelvételi torzítás

A hipotézisek tesztelése

A $\chi 2$ próba: értelmezés, megjegyzések

Öröklődő-e a jelleg?

Kuru

DUPress

Autoszomális gének: Mendel első törvénye

Amennyire egyszerűnek tűnik ma az, ahogyan az öröklődés alapvető törvényszerűségeit Mendel feltárta, annyira meglepő, hogy senki sem értette meg körültekintően végiggondolt analízisét 1865-ben. Munkája, amely a kvantitatív biológia kezdetét jelöli, még ma is a ragyogó kísérleti megközelítés modelljeként szolgálhat.

Mendel volt az első, aki statisztikai elveket alkalmazott biológiai jelenségek tanulmányozása során. Feljegyezte, hogy a különböző keresztezésekből származó utódok *milyen* fenotípus-osztályokba sorolhatók, s hogy ezekbe *hány* egyed tartozik. Megfigyelte, hogy bizonyos típusú keresztezésekben a különböző fenotípusú utódok számának egymáshoz viszonyított aránya mindig azonos, s hogy ez egy egyszerű aránnyal leírható (pl. 3:1). Felismerte a nagyszámú egyeddel végzett kísérletek értékét. „Minél nagyobb a kísérletbe vont egyedszám, annál inkább kiküszöbölődnek a véletlen hatásai" – írta.

Mendel – kísérleteiben – nagyon egyszerűen feltett kérdésekre kívánt választ kapni. Nem az élőlények *valamennyi* tulajdonságának öröklődésére volt egyszerre kíváncsi, hanem *egyetlen* élőlény *néhány* tulajdonságának egymástól könnyen elkülöníthető és egymást kölcsönösen kizáró (***allelomorf***) formáira, ill. ezek öröklődésére összpontosította figyelmét. Vizsgálatainak alanyául a borsót választotta, több okból: (*1*) E növénynek több, egymástól jól megkülönböztethető változata van, pl. magas és alacsony növésű, kerek és ráncos magvú, egyszerűen ívelt és befűződött hüvelyű, valamint szürke és fehér maghéjú. (*2*) Virágjában a porzó a termő közvetlen közelében helyezkedik el, ami lehetővé teszi az önbeporzást. Lehet két különálló növényt is keresztezni, de ehhez el kell távolítani a porzókat még a pollen érése előtt, s egy másik növényről származó pollennel kell a beporzást elvégezni. (*3*) A keresztezésekből származó hibridek épp olyan termékenyek, mint a szülői alakok, így nagyszámú utód vizsgálható minden nemzedékben.

Mendel ***tiszta vonalak***ból indult ki, melyekre az jellemző, hogy az önmegtermékenyítéssel kapott utódok a szülőkkel mindig azonos fenotípusúak, tehát nem észlelhető bennük genetikai variáció. A két tiszta vonal közötti keresztezéseket mindig reciprok módon végezte: az A vonal egyedeinek megtermékenyítését a B vonal egyedeiről származó pollennel végezte el, ill. egyidejűleg a B vonal egyedeit az A vonal virágporával termékenyítette meg. Így eldönthette, hogy a tulajdonság öröklődését befolyásolja-e a szülők neme. Mendel rendkívül körültekintően a növényi nemzedékeket egymástól elkülönítve tartotta, s minden ***hibrid*** utódait legalább négy nemzedéken át vizsgálta önbeporzással. Felismerte továbbá a környezeti tényezők változatlanul tartásának fontosságát. Az említett elővigyázatossági rendszabályok szükségessége manapság már mindenki számára nyilvánvaló, de Mendel volt az első, aki ezeket felismerte.

MENDEL KÍSÉRLETEI

Ugyanazokat a kísérleteket végezte el hét tulajdonságpárral, és minddel ugyanazokat az eredményeket is kapta. Itt csupán egy kísérletsorozat eredményeit ismertetjük ezek közül, melyben *magas* növényt keresztezett *törpe* növénnyel. (Ma már tudjuk, hogy a különbség oka egy növekedési hormon megléte vagy hiánya, amelynek szintézisét genetikai tényezők szabályozzák.) Nagyszámú reciprok keresztezést végzett el magas és törpe fenotípusú tiszta vonalak között (2.1. ábra). Ezek képezték a ***szülői nemzedék***et (P^1). A szülők csak egyetlen vizsgált jellegben tértek el egymástól, ezért az ilyen típusú keresztezést ***monohibrid keresztezés***nek nevezzük. A létrejött utódokat F_1[1] ***hibrid***eknek nevezzük, s ezek mind magasak. Mindebből arra következtetett, hogy a magas tulajdonság a kifejeződés tekintetében ***domináns*** a törpe jelleggel szemben, amelyet ***recesszív***nek nevezett. A többi hat jellegpár esetében is mindig csupán az egyik jelent meg az F_1 hibridekben.

Ezután Mendel az F_1 hibrid növényeket önbeporzással szaporította tovább és a keletkezett magvakat összegyűjtötte. Ezeket a következő évben elültette. Ebben az F_2[1] ***nemzedék***ben 787 magas és 277 törpe növényt kapott, amelyek aránya megközelítette a 3:1-et. Ehhez hasonló eredmény adódott a többi hat tulajdonságpár F_2 arányait illetően is. „Nem voltak átmeneti alakok a kísérletek során" – jegyezte fel Mendel; azaz sohasem talált közepes magasságú növényt, vagy olyat, amely köztes tulajdonságú lett volna a szülői típusokhoz képest (2.1. táblázat).

A harmadik lépésben az F_2 nemzedék növényeit ismét önbeporzással szaporította és így vizsgálta az F_3 nemzedéket. A recesszív tulajdonságú növények mindig tiszta vonalként viselkedtek, azaz a törpék utódai csak törpék voltak. A domináns tulajdonságú F_2 növények utódai azonban kétféléknek bizonyultak. A magas növények kb. 1/3-a tiszta vonalként viselkedett, önbeporzással csupán magas utódokat, míg a maradék 2/3 önbeporzással magas és törpe utódokat eredményezett 3:1 arányban. Ebből Mendel arra következtetett, hogy utóbbiak ugyanolyanok, mint az F_1-ben kapott hibridek. Amint a 2.1. ábrából látható, tovább folytatva a kísérletet néhány újabb nemzedéken át, minden esetben az előzőekben ismertetett öröklésmenetet kapta.

Ezek a kísérleti eredmények nem voltak összhangban az öröklődésről kialakított akkori elgondolásokkal, melyek szerint két különböző fenotípusú szülő utódainak köztes megjelenésűeknek kellene lenniük – tulajdonságaik maradandó összekeveredése következtében. E hipotézis szerint az F_1 növényeknek mind közepes magasságúaknak kellett volna lenniük és nem kizárólag magasaknak. Ebből az elméletből az is következett volna, hogy az eredeti szülői tulajdonságok (ebben az esetben a magas és a törpe) sohasem

---

[1] P és F_{1-n}: *generatio parentalis*, ill. *generatio filialis* (latin).

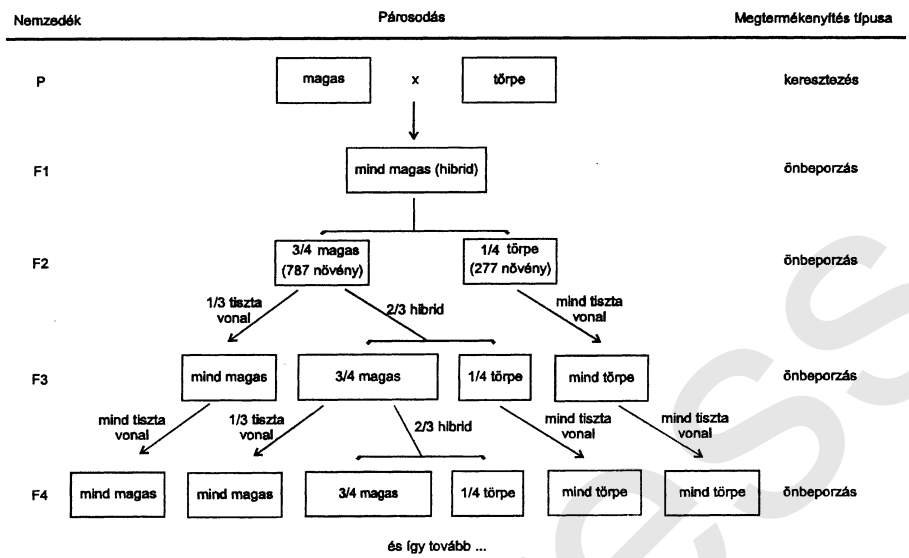
jelennek meg újra a további nemzedékek során, mivel ezek egymást a hibridben „beszennyezik". De ezt az eredményt sem tapasztalta, hanem azt látta Mendel, hogy az F_1 hibridből származó F_2 utódok vagy az egyik, vagy a másik eredeti szülőre hasonlítanak (azaz vagy magasak vagy törpék), de sohasem köztes megjelenésűek. Tehát a két alternatív, ún. ***allelomorf jelleg*** nem keveredik össze, s nem is szennyezi egymást a hibridben való közös létezésük során.

2.1. táblázat. *Mendel néhány keresztezési kísérletének eredményei*

Szülői tulajdonságok	F_1 utódok fenotípusa	F_2 utódok száma	F_2 arány
kerek x ráncos (mag)	kerek	5474 kerek	
		1850 ráncos	2,96 : 1
sárga x zöld (sziklevél)	sárga	6022 sárga	
		2001 zöld	3,01 : 1
bíbor x fehér (virágszín)	bíbor	705 bíbor	
		224 fehér	3,15 : 1
ívelt x befűződött (hüvely)	ívelt	882 ívelt	
		299 befűződött	2,95 : 1
magas x törpe (növény)	magas	787 magas	
		277 törpe	2,84 : 1

Mendel értelmezése szerint ezekből az adatokból a ***szétválás***, ***elkülönülés*** (v. ***szegregáció***) ***törvénye*** következik. A fentiekben leírt arányokból gondolt arra, hogy minden látható jegyet (pl. a növény magasságát) két öröklődő tényező (faktor) határoz meg. Az ivarsejtképzés során a két örökletes faktor elválik egymástól (elkülönül, szegregál), így aztán a pollen vagy a pete csak az egyiket vagy csak a másikat tartalmazza, de sohasem mindkét eredeti tényezőt együtt[2]. (Ez a szabály a „gaméták tisztasága" törvénye néven is ismert, máskor mint Mendel első törvénye szerepel.)

[2] A kromoszómákat még nem fedezték fel ebben az időben, de a Schleiden és Schwann által kidolgozott sejtelméletet már általában elfogadták, és azokat a közleményeket is, melyek szerint a pete és a spermium is csupán egyetlen sejt. Azt azonban, hogy egy petesejtet egyetlen spermium termékenyít meg, csak 1879-ben bizonyították be.

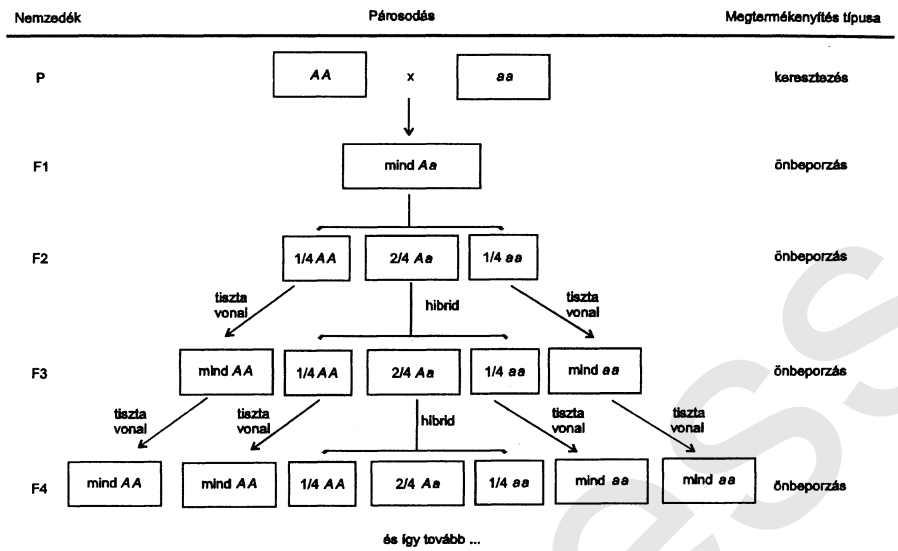


2.1. ábra. *A Mendel által alkalmazott keresztezési kísérlet vázlata, monohibrid keresztezés esetében.* (A *hibrid* elnevezés itt nem két különböző fajhoz tartozó egyed keresztezésének eredményére vonatkozik, amint ez gyakran használatos, hanem *ugyanazon* faj két korábban izolált tiszta vonaláéra.)

Mivel a reciprok keresztezés azonos eredményt adott, Mendel arra következtetett, hogy mindkét szülő egyenlő mértékben járul hozzá az utód létrejöttéhez. Tehát amint a 2.2. ábra mutatja, mindegyik F_1 hibrid kap egy magas tulajdonságért felelős (*A*) tényezőt a magas szülőtől és egy törpe tulajdonságért felelős (*a*) tényezőt az alacsony szülőtől, ezért faktorösszetételük *Aa* formában írható fel. S bár a recesszív *a* tényező nem fejeződik ki a *Aa* hibridben, az változatlanul jelen van és későbbi nemzedékekben kifejeződhet.

Amikor aztán az *Aa* növények gamétát képeznek, azok fele az *A* tényezőt, másik fele az *a* tényezőt fogja hordozni. „Az már csupán a véletlen kérdése, hogy a kétféle pollen melyike egyesül egy bizonyos petesejttel. A valószínűségszámítás törvényei értelmében mindig az várható, hogy sok esemény átlagértékeként minden *A,* ill. *a* tartalmú pollen egyforma gyakorisággal fog egyesülni *A,* ill. *a* tartalmú petesejttel" – írja Mendel.

DEPress



2.2. ábra. *Mendel monohibrid keresztezésének genetikai magyarázata.* Összehasonlítandó a 2.1. ábrával.

A négy egyforma valószínűségű kombináció a következő :

	A pete típusa		A pollen típusa	A mag és a növény típusa		
1/4	*A*	x	*A*	*AA*		
1/4	*A*	x	*a*	*Aa*	**1/2** *Aa*	**3/4 magas**
1/4	*a*	x	*A*	*aA*		
1/4	*a*	x	*a*	*aa*		**1/4 törpe**

Ebből következik az F_2-ben kapott eredmény: 1/4 *AA* : 1/2 *Aa* : 1/4 *aa* növény. Mivel azonban a magas jelleg domináns, csupán ránézéssel a *AA* és a *Aa* növényt nem lehet megkülönböztetni egymástól. Azt látjuk, hogy a növények 3/4 része magas és 1/4 része törpe lesz.

MODERN NÓMENKLATÚRA (MAI ELNEVEZÉSEK)

Mendelt követően jónéhány fogalmat vezettek be ezen jelenségek leírására. Az *A*-val és *a*-val jelzett faktorok ***allél***jei egymásnak; a növény magasságát meghatározó gén alternatív formái. Az *A*-t mint a növény magasságát meghatározó ***domináns gén***t

DUPress

tekinthetjük, az *a*-t pedig mint ennek ***recesszív allél***jét. A *gén* és *allél* fogalmakat sokszor kölcsönösen felcserélve használják, pedig legtöbbször csak az egyik volna helyes. Azt pl. nyugodtan mondhatjuk, hogy a növény magasságát meghatározó gén (és nem az allél) kémiailag különböző allélek formájában létezik, amelyek közül az egyik magasabb növényt határoz meg, mint a másik. (Mellesleg, legtöbb génnek több mint kétféle allélje létezik, de ezek közül egy adott egyedben csak kettő lehet jelen.) Későbbi fejezetekben foglalkozunk majd egy adott gén alléljeinek eltérő kémiai szerkezetével, és azzal, hogy ezek miként idézik elő az észlelt különbségeket.

A ***genotípus*** fogalmán az allélösszetételt értjük, mint pl. *AA, Aa* vagy *aa*. A ***fenotípus*** a vizsgált szervezet aktuálisan megfigyelt jellegére vonatkozik, azaz a növény magasságára vagy törpe voltára. A törpe fenotípusú növény genotípusa *aa*. A magas fenotípusú lehet *AA* vagy *Aa* genotípusú. ***Homozigóta*** a genotípus akkor, ha mindkét allél egyforma (*AA* és *aa*), s ***heterozigóta***, ha a két allél nem azonos (*Aa*). Ha nem vagyunk biztosak abban, hogy egy fenotípusosan magas növény genotípusosan homozigóta (*AA*) vagy heterozigóta (*Aa*), akkor a genotípust *A*– -ként írjuk fel, mely írásmódban a kötőjel azt az allélt jelzi, amely lehet *A* és *a* is. Az *A*– kifejezést akkor is használhatjuk, ha nem akarunk különbséget tenni a domináns tulajdonságú homozigóták és heterozigóták között.

Magasabbrendű szervezetekben a gének a sejtmagban levő ***kromoszómák***on találhatók, melyek létezéséről Mendel még nem tudhatott. A kromoszómák, éppúgy mint a mendeli tényezők (allélek), párosával fordulnak elő, egy adott pár tagjait ***homológ kromoszómák***nak nevezzük. Egy gén alléljei a homológ kromoszómák azonos helyein találhatók. Azt a helyet, melyet egy gén a kromoszómán elfoglal, ill. ahol egy gén a kromoszómán megtalálható, ***lokusz***nak nevezzük. Így pl. egy heterozigóta magas *Aa* genotípusú növényben az *A* allél egy meghatározott kromoszóma meghatározott lokuszán található. A homológ kromoszóma ennek megfelelő helyén található az *a* allél. Emberben és mindazon fajokban, amelyekben – a borsótól eltérő módon – a nemek elkülönülnek, a mindkét nemben homológ párokat képező kromoszómákat ***autoszómák***nak (szomatikus kromoszómáknak) nevezzük. A nemi kétalakúságot mutató pár tagjai a ***nemi (szex-) kromoszómák***.

A PUNNETT (SAKKTÁBLA) MÓDSZER

Ez könnyen elsajátítható módszer az egy vagy két lokuszt érintő keresztezések eredményének meghatározására. (Ugyanerre a célra alkalmazható, a valószínűségszámításon alapuló módszert is l. 4. fejezet.) A módszer a következő lépésekből áll (2.3. ábra):

DUPress

(*1*) A táblázat sorai elé írjuk fel az egyik szülő különböző lehetséges gamétáinak génösszetételét, és az adott gamétatípus által képviselt hányadot (azt, hogy az adott gamétatípus hányad részét teszi ki a szülő által képzett összes gamétafeléleségnek). A táblázatnak annyi sora lesz, ahány különböző génösszetételű gaméta keletkezik. A gamétahányadok összege szükségszerűen 1.

(*2*) Hasonlóképpen, az oszlopok fölé írjuk fel a másik szülő gamétáinak génösszetételét és gamétahányadát. Ha a lehetséges hímivarsejtek és petesejtek száma eltér egymástól, nem négyzet, hanem téglalap alakú táblázatot kapunk.

(*3*) A táblázat négyzeteibe írjuk be az utódok genotípusait és azok hányadát, amit a gamétahányadok összeszorzásával kapunk meg, pl. 1/2 *A* × 1/2 *A* = 1/4 *AA*.

Ha összeadjuk a két azonos genotípus hányadait, a 2/4 *Aa* értéket kapjuk. Az *AA* és az *Aa* fenotípusosan magasak (3/4) míg a *aa* törpe (1/4). Ebben a sakktáblában mind a pete, mind a pollen kétféle típusú (vagy domináns, vagy recesszív gént tartalmaz), mivel a keresztezés önbeporzással történt, de más keresztezések esetében ez a feltétel természetesen változhat. A gamétahányad értékek – amelyek mindkét nem esetén egyaránt 1/2-del egyenlőek – Mendel első törvényét tükrözik: az allélek elválnak egymástól és véletlenszerűen vagy egyikük, vagy másikuk kerül egy-egy gamétába. Később látunk majd olyan eseteket is, amelyekben a különböző gaméták nem egyenlő arányban képződnek.

AZ UTÓDVIZSGÁLAT MÓDSZEREI – TESZT-KERESZTEZÉS

Mendel az F_2 nemzedék magas növényeinek a genotípusát ***utódvizsgálat***tal határozta meg. Vett 10-10 magot az önbeporzással termékenyített F_2 növényekről, felnevelte őket, és megfigyelte az F_3 nemzedék fenotípusát (2.2. ábra). A homozigóta magas *AA* növények csak *A* gamétát képeznek, ezért önbeporzással csakis magas utódokat hoznak létre. A heterozigóta magas F_2 növények (*Aa*) viszont azonos számban képeznek *A,* ill. *a* gamétát (1/2 *A* és 1/2 *a*). Ahogyan F_1 hibrid szüleiknek, nekik is magas és törpe utódaik lesznek, önbeporzás esetén. Mendel azt tapasztalta, hogy az F_2 magas növényei 1:2 arányban voltak homozigóták, ill. heterozigóták ilyen genetikai analízis esetén.

Igazából ez a mód, hogy az F_2 növényeket önbeporzással vizsgáljuk, nem a legmegbízhatóbb módszer annak eldöntésére, hogy homozigóta ill. heterozigóta-e az egyed. A heterozigótában található recesszív allélt biztosabban kimutathatjuk azáltal, hogy minden magas növényt törpével keresztezünk (*A*– × *aa*). Amint a 2.4A. ábrából látható, a heterozigóta magas és törpe növények keresztezéséből 1 : 1 arányban kapunk magas és törpe utódokat és nem 3 : 1 arányban, mint az önbeporzásnál (2.3. ábra). Figyeljük meg, hogy a homozigóta magas növények utódai mind magasak lesznek, akár törpe növénnyel keresztezzük, akár önbeporzással szaporítjuk (2.4B., ill. 2.4C. ábra).

		pollenszemek	
		1/2 *A*	1/2 *a*
peték	1/2 A	1/4 *AA*	1/4 *Aa*
	1/2 a	1/4 *Aa*	1/4 *aa*

a sor-hányadok összege = 1

az oszlop-hányadok összege= 1

2.3. ábra. *A Mendel F_1 keresztezését bemutató Punnett tábla (Aa × Aa).* A vastag vonallal bekeretezett részen belül az utódok (az F_2 nemzedék) genotípusait és azok hányadát (a gamétahányadok szorzatát) tüntettük fel.

Gondoljunk arra, hogy Mendel az önbeporzással nyert F_2 növények 10-10 magját ültette el, tehát a heterozigóta magas növények (*Aa* × *Aa*) utódai között legfeljebb 2 vagy 3 törpe növényre számíthatott (1/4 · 10 = 2,5). Természetesen a véletlen variáció miatt ennél hol több, hol kevesebb törpe növényt kapott. Már egyetlen törpe növény megjelenése a 10 utód között elégséges ahhoz, hogy a szülőt heterozigótának minősítsük. De mi van akkor, ha a véletlen folytán az *Aa* × *Aa* keresztezésből 10 magas és 0 törpe keletkezik 7-8 magas és 2-3 törpe növény helyett? Ilyen esetben a szülőt tévesen heterozigóta helyett homozigótának minősítenénk. Ki lehet számítani, hogy ez milyen gyakorisággal fordulna elő (l. később), és valószínű is, hogy Mendel ilyen módon heterozigótákat veszített el.

Ha viszont egy *Aa* × *aa* keresztezésből 10 magot elültetünk, akkor az utódok között 5 törpe növényt várunk (10 · 1/2 = 5). Ebben az esetben is néha 5-nél többet, néha kevesebbet kapunk a véletlen ingadozások miatt. De már a józan ész is azt diktálja, amit egyszerű számítás igazol, hogy ebből a keresztezésből 10 magas és 0 törpe utód sokkal kisebb valószínűséggel várható, mint a heterozigóta önbeporzása esetében.

Ezért a genetikusok, ha csak lehetséges, a domináns fenotípusú egyedeket mindig recesszív fenotípusúval keresztezik annak megállapítására, hogy a domináns heterozigóta vagy homozigóta-e. Ezt a módszert ***teszt-keresztezés***nek nevezzük. A teszt-keresztezés csupán egyike annak a hat lehetséges keresztezési formának, ahogyan a három genotípus (*AA*, *Aa* és *aa*) páronként kombinálható.

Mendel számos további kísérletet végzett annak meghatározására, hogy mi történik akkor, ha két tulajdonságpár öröklődését vizsgálja, pl. a *AABB* × *aabb* keresztezés esetén. Ezen vizsgálatok és a Mendel által megfogalmazott független szétválás törvényének a megbeszélésére alább kerül majd sor.

DUPLICATE

(A) *Heterozigóta* magas x törpe: *Aa* x *aa*

	a törpe szülő gamétái: 1 *a*	
	1/2 *A*	1/2 *Aa*
magas szülő gamétái	1/2 *a*	1/2 *aa*

az utódok felének fenotípusa várhatóan magas, fele törpe

(B) *Homozigóta* magas x törpe: *AA* x *aa*

	a törpe szülő gamétái: 1 *a*	
magas szülő gamétái	1 *A*	1 *Aa*

az utódok fenotípusa várhatóan mind magas

(C) *Homozigóta* magas öntermékenyítő: *AA* x *AA*

	hím gaméták: 1 *A*	
női gaméták	1 *A*	1 *AA*

az utódok fenotípusa várhatóan mind magas

2.4. ábra. *Három Punnett tábla egy gén két allél esetére, amikor A domináns az a-val szemben.* Az *A*– fenotípusa magas, az *aa* törpe. (A heterozigóta növények önbeporzással nyert utódainak genotípusát a 2.3. ábrán tüntettük fel).

X-hez kötött gének

Mendel nem talált különbséget az utódok vizsgálatakor, ha keresztezéseit reciprok módon végezte el. Ugyanazon fenotípus-osztályokat kapta, ugyanolyan arányban, függetlenül attól, hogy a szóban forgó genetikai jegyet az anya vagy az apa örökítette át. De szellemi nagyságát mutatja, hogy számításba vette a nemek jelentőségét az öröklődésben, annak ellenére, hogy a borsó növények nem különböztethetők meg a nemük alapján. Mind a hím, mind a női ivarszervek megtalálhatók ugyanazon virágban. Ezzel analóg módon hímnős állatok is ismeretesek.

DUPress

A NEM MEGHATÁROZÁSA

A növény- és állatfajok nagy részében a nemek elkülönülnek és vannak olyan örökletes tulajdonságaik, amelyek eltérő eredményt adnak a reciprok keresztezésekben. A nemek meghatározottságának biológiai alapja a századfordulóig rejtély maradt, amikor is rovarokon és más állatokon kimutatták, hogy a nem tulajdonképpen egy öröklődő jelleg.

A nem genetikai meghatározottsága a törzsfejlődés különböző szintjein eltérő, de annak az emberre is jellemző módja meglehetősen elterjedt. A két X-szel rendelkező egyedek a női nemhez tartoznak, míg az egy X-szel és Y-nal rendelkezők a férfiak. Az X és Y kromoszóma, mint sok más szervezetben, az ember esetében is strukturálisan és funkcionálisan is alapvetően különbözik egymástól. Festés utáni fénymikroszkópos vizsgálattal megállapítható, hogy a közepes nagyságú X kb. két és félszer hosszabb, mint a piciny Y kromoszóma (l. 10. fejezet).

Ennek ellenére e két kromoszóma a meiózis során homológként válik el egymástól (2.5. ábra). Ez a rendszer biztosítja a nemek 1:1 arányát nemzedékről nemzedékre. Valójában azonban a nemek aránya születéskor némileg különbözik az 1:1 aránytól (a fiúk vannak többen), valószínűleg azért, mert a kisebb Y kromoszómát hordozó, ezért könnyebb hímivarsejtek statisztikailag valamivel nagyobb eséllyel érik el a petesejtet, mint X-tartalmú társaik. (Ezen kívül szerepet játszik a különböző nemű magzatok méhen belüli életben történő különböző mértékű elhalása is.)

Hangsúlyozni kell azonban, hogy a nemi fejlődés hihetetlenül bonyolult folyamat, amelyet sok gén szabályoz és amely érzékeny a környezeti tényezők változásaira a fejlődés valamennyi szakaszában, a születés előtti időktől a felnőtt korig. Sok faj, így az ember nemi jellemvonásai is módosulhatnak, sőt ellentettjükbe fordulhatnak át hormonkezelés, sérülés, sebészeti beavatkozás és sok más ok következtében. Ezért érthető, hogy a kromoszomális nem és a fenotípusos nem általában egybeesik, de nem mindig (l. 8. fejezet). Az alábbiakban elsősorban a nemi kromoszómák viselkedésére, ill. a rajtuk levő génekre összpontosítunk (a nemek kialakulásának kérdésével kapcsolatban l. 8. fejezet).

		spermium	
		1/2 *X*	1/2 *Y*
pete	1 *X*	1/2 *XX* nő	1/2 *XY* férfi

2.5. ábra. *A nem kromoszomális meghatározottságát biztosító rendszer embernél.* Hasonló rendszereket találunk sok más szervezet esetében is. A két X kromoszómával rendelkező nők minden petesejtje egy X kromoszómát tartalmaz, az X és Y kromoszómával rendelkező férfiak spermiumainak fele X, másik fele Y kromoszómát hordoz. Így a nemek 1:1 aránya a megtermékenyítésből adódik, s fennmarad nemzedékről nemzedékre.

DUPLICATE

GÉNEK A NEMI KROMOSZÓMÁKON

A legtöbb faj X kromoszómáján annyi gén található, mint a vele azonos nagyságú autoszómákon. Ezeket a géneket ***X-hez kötött***nek vagy nemhez kötöttnek nevezzük, mert öröklődésük az X kromoszómához kapcsolódik. Ne felejtsük el, hogy az X-hez kötött gének semmiben sem különböznek az autoszómákon találhatóktól. Az emberi X kromoszómán talált gének száma 1363. Az általuk meghatározott tulajdonságok igen sokféle működést érintenek: vércsoport, látás, idegrendszer, izomrendszer, fogak, bőr, glükóz-anyagcsere. A legtöbb X-hez kötött génnek nincs köze a nemi differenciálódáshoz. Ezzel szemben sok olyan autoszómához kötött gént ismerünk, amelyeknek szerepük van a szexuális fejlődésben. Tehát *az X-hez kötöttség nem a gének funkcióját, hanem csupán azok kromoszomális elhelyezkedését jelzi.*

A SZÍNVAKSÁG

A *színvakság* elnevezés félrevezető, mert a legtöbb e rendellenességgel sújtott ember sokféle színt felismer, különösen a sárga és kék tartományokban. Valójában *részleges* színvakságról, ill. *színtévesztés*ről van szó, a zöld és vörös megkülönböztetésének zavaráról. Több, mint kétszáz éve ismeretes ezen állapot családi halmozódása, többször híres tudósok családjában is (pl. Dalton). 1911-ben, nem sokkal Mendel közleményének újrafelfedezése után Wilson már feltételezte, hogy az emberi színvakság génje az X kromoszómán található[3].

Később kiderült, hogy a vörös-zöld színtévesztésért két lokusz felelős, a *protan* és *deutan*, melyek az X kromoszóma hosszú karjának a végéhez közel találhatók. A molekuláris genetika módszereit alkalmazva sikeresen izolálták a fenti két gént, sőt meghatározták e gének DNS-ének teljes bázissorrendjét is[4].

Kiderült, hogy a két gén szekvenciája 98%-ban azonos és a kromoszómán egymáshoz nagyon közel vannak. E hasonlóság, valamint az, hogy egy normális színlátású férfi a *deutan* génből több példánnyal is rendelkezik, megerősítette azt az elgondolást, hogy a rokon gének duplikáció útján keletkeznek.

---

[3] Csak nagyon kevés valódi színvak található, aki csak feketét és fehéret lát – és általában nagyon rosszul lát napvilágnál – a retinában levő színérzékeny festékanyagok teljes hiánya miatt. Ez az állapot rendkívül ritka és mint autoszomális recessziv jelleg öröklődik.

[4] Nathans és mtsai ugyancsak izoláltak két autoszomálisan öröklődő pigment gént (a kék-érzékeny opszinét a 7-es kromoszómáról és a rodopszinét a 3-as kromoszómáról), de ezeket itt nem tárgyaljuk, mivel nem X-hez kötöttek.

Mindkét X-hez kötött lokusz egy-egy fehérje (***opszin***) képzéséért felelős, amelyek közül az egyik a ***vörös-érzékeny*** míg a másik a ***zöld-érzékeny*** színlátási pigment része. E két pigmentfajta külön-külön csapokban található a retinában. (Van egy harmadik, kék-érzékeny pigment is, amelyet most nem tárgyalunk). A látott árnyalatok milliárdjai ebből a három komponensből jönnek létre: a vörös-, zöld-, és kék-érzékeny csapok különböző mértékű gerjesztésével keletkező ingerületek keveredése, összegződése révén. Pl. a sárga szín érzékelése a vörös és zöld-érzékeny csapok együttes stimulálásának eredménye[5].

A színlátási rendellenességek típusai. Négy fajta X-hez kötött színlátási hiba ismeretes: mindkét lokusz kétféleképpen változhat meg. (*1*) A gén mutációja miatt rendellenes pigment képződik, vagy (*2*) egyáltalán nem képződik pigment. A normális pigment génje domináns a hibással szemben és a hibás domináns a hiányzóhoz képest.

A nyugateurópai férfiak kb. 8%-a színtévesztő. A leggyakoribb eltérés a ***deuteranomalia (zöld színtévesztés)*** a fehérbőrű férfiak 5%-ában fordul elő. Az érintett egyének mindhárom pigmenttel rendelkeznek, de a zöld pigmentjük rendellenes, mivel abszorpciós spektruma eltolódott a hosszabb hullámhosszak felé, amely a vörös-érzékeny pigmentek tulajdonsága. Ezért ezek bizonyos színtartományokban kevesebb árnyalatot tudnak megkülönböztetni, mint a normál színlátásúak; a vöröst vörösesbarnának, az élénk zöldet sárgásbarnának látják és az olajzöldet nem tudják megkülönböztetni a barnától. Ha azzal a feladattal bízzák meg őket, hogy egy bizonyos sárga színt állítsanak elő a vörös és zöld keverésével egy *anomaloszkóp*nak nevezett diagnosztikai műszerrel, az érintett egyedek olyan keveréket állítanak elő, amelyet a normális szem zöldesnek lát.

Protanomalnak (***vörös színtévesztő***nek) nevezzük azokat az embereket, akiknek ugyan megvan mindhárom látási pigmentje, de a vörös-érzékeny nem normális, abszorpciós spektruma eltolódott a normális zöld-érzékeny festékanyagra jellemző, valamivel rövidebb hullámhosszú tartomány felé. Ezek a személyek hasonlóan a *deuteranomal*okhoz, látják a vörös, zöld, sárga, kék, fekete és fehér színeket, de kevesebb színt észlelnek és összekeverik a barnát és az olajzöldet. Ha a protanomal megpróbálja az anomaloszkópban kikeverni a sárga lámpa színét, olyan zöld-vörös keveréket válogat össze, amely a normális szem számára vöröses lesz. A vörös színtévesztők gyakorisága a nyugateurópaiak között kb. 1%.

A másik két X-hez kötött színlátási rendellenesség (amelyek fehér férfiaknál kb. 1-1%-ban találhatók meg), súlyosabb elváltozás, ezekben egyfajta pigment teljesen hiányzik. A ***deuteranop***oknak hiányzik a zöld-érzékeny, míg a ***protanop***oknak nincs vörös-érzékeny pigmentjük. Csak két látási festékanyaggal rendelkezvén három helyett, egyik

---

[5] A további részleteket l. az élettan tankönyvekben.

sem képes megkülönböztetni a vörös és a zöld színt, vagy ezeket a sárgától. Az érintett egyének csak a sárga, kék, fekete, fehér és szürke különböző árnyalatait látják. Ha az anomaloszkópban sárga fényt próbálnak előállítani, mindkettő véletlenszerűen a zöld vagy a piros színt választja, s mivel a protanop a vöröset csak igen halványnak látja, azt a vöröset választja, amely 10-szer fényesebb, mint a deuteranop által választott. Egyszerűbb, de kevésbé pontos diagnosztikus módszer a színes táblák használata. Ezek sokféle színű pontokból állnak, amelyek szürke hátteret képeznek, s amelyekbe beágyazva találhatók azok az alakok, melyeket a színtévesztők különböző fenotípusai vagy felismernek vagy nem.

A színlátási rendellenességek genetikája. Amint láttuk, a nők két X kromoszómával rendelkeznek, amelyek közül az egyiket az apjuktól, a másikat az anyjuktól örökölték. Mivel a zöld színtévesztés allélje (nevezzük *g*-nek) recesszív a normális alléllel (*G*) szemben, a nők csak homozigóta (*gg*) állapotban válnak színtévesztővé. A heterozigóta (*Gg*) nők, egy normális és egy zöld színtévesztő alléllel rendelkezvén ***konduktor***ként (hordozóként) viselkednek, mert bár saját színlátásuk normális vagy csaknem az, a hibás gént utódaiknak továbbadhatják. A homozigóta *GG* nők normális színlátásúak.

A férfiak egyetlen X kromoszómájukat csak az anyjuktól kaphatják. Akármilyen gént hordoz is ez az X, legyen az domináns vagy recesszív, ki fog fejeződni. Ezért férfiaknál az X-hez kötött jellegek esetében nem használhatjuk a homozigóta vagy heterozigóta elnevezést. Inkább azt mondhatjuk, hogy ***hemizigóta*** a *G*-re nézve (a görög hemi = fél), azaz fenotípusosan normális, vagy hemizigóta a *g*-re nézve, azaz fenotípusosan zöld színtévesztő. A megfelelő genotípus jelölése: *G*/**Y** vagy *g*/**Y** (ahol az **Y** jelölés arra utal, hogy az Y kromoszómán nincs meg az X-nek megfelelő lokusz).

Először azt a legáltalánosabban előforduló szituációt gondoljuk végig, amikor az anya homozigóta normális színlátású és az apa zöld színtévesztő (2.6. A ábra). Minden anyai petesejt a normál *G* gént hordozza (hányada = 1), vagyis minden fiúgyermekük normális színlátású lesz. Az apának kétféle spermiuma van; az egyik az Y kromoszómát tartalmazza, amelyet fiúutódai örökölnek, a másik fajtában a *g* gént hordozó X kromoszóma található. Így a leányok, mind ***konduktor***ok (hordozók) lesznek.

Mi várható a heterozigóta normális színlátású anya és zöld színtévesztő apa házassága esetében? Amint a 2.6. B ábrából kitűnik, a petesejtek kétfélék, *G* és *g* tartalmúak. A spermiumok is kétfélék, Y és *g* típusúak. Ebből négy fajta genotípus-kombináció keletkezhet, amelyek fenotípusosan is különböznek: a leányok fele hordozó, fele zöld színtévesztő, a fiúk fele normális színlátású, másik fele zöld színtévesztő lesz. Mindkét nemben az utódok fele normális színlátású, fele pedig rendellenes.

Végül, ha az apa normális színlátású és az anya színtévesztő (2.6C. ábra), az apa *G*/**Y**, az anya pedig *gg* genotípusú lesz. Az anyai petesejtek mind *g* tartalmúak, az apa

spermiumainak a fele Y kromoszómával fog rendelkezni, a másik felében *G* lesz. Így minden fiú színtévesztő lesz és minden leány hordozó. Megfigyelhető, hogy a színtévesztés ebben az esetben ellenirányúan öröklődik, a szülői nemzedékben az anya érintett, az utódok között pedig csak a fiúk.

Most már bizonyára érthető, hogy miért van több deuteranomalia a férfiak között, mint a nők esetében. A férfiaknak csak egy rendellenes génre van szüksége ahhoz, hogy a színtévesztés tulajdonsága megjelenjék, és ezt akár heterozigóta hordozó, akár homozigóta zöld színtévesztő anyától kaphatják. Az apa genotípusának nincs jelentősége, mivel tőle csak az Y kromoszómát kapják. Egy zöld színtévesztő nőnek azonban az anyja legalábbis heterozigóta kell legyen a színtévesztés génjére nézve, és ezenkívül az apjának is ugyanolyan típusú színtévesztőnek kell lennie. Az ilyen szülők előfordulásának kis valószínűsége miatt a zöld színtévesztő férfiak és nők aránya a teljes populációban kb. 20:1.

Mivel egy mutáns allél jelenléte már elegendő a férfiakban ahhoz, hogy egy X-hez kötött gén jelenlétére következtethessünk, míg egy autoszomális recesszív jelleg kifejeződéséhez mindkét nemben két gén együttes jelenléte szükséges, ezért a családfák vizsgálata során az X-hez kötöttség felfedezése sokkal könnyebb. Ez azonban nem vonatkozik a domináns jellegekre, amelyek egyetlen gén jelenléte esetén is kifejeződnek, akár X-en, akár szomatikus kromoszómán helyezkednek is el. Mivel azonban a mutánsok zöme recesszív, korábban nagy különbség adódott az X-re térképezett és egy-egy autoszómához hozzárendelt gének száma között. Nem azért, mintha az X kromoszóma lényegesen több gént tartalmazna, mint a méretben hozzá hasonlítható bármely autoszóma. Inkább arról van szó, hogy az X-hez kötött géneket könnyebb volt kimutatni és az X-hez kapcsoltságot igazolni. Ez a különbség azonban ma, a humán genom szekvenciájának ismeretében nem jelentős.

A HEMOFÍLIA

A véralvadás rendkívül bonyolult folyamat, amely kb. 20 anyag – amelyek többsége enzimaktivitással bíró plazmafehérje – összerendezett működése révén megy végbe. Csaknem valamennyi véralvadási faktorra vonatkozóan találtak öröklődő alvadási zavart, de legjobban ismert ilyen rendellenesség az X-hez kötött recesszív ***hemofília A (VIII. faktor elégtelenség)*** és a ***hemofília B*** (***IX. faktor elégtelenség,*** vagy Christmas betegség). Ezek együttes gyakorisága 10 000 férfi közül 1, amelyből a hemofília A teszi ki az esetek 80%-át. Nagyon kevés női hemofíliást ismerünk[6].

---

[6] Egy harmadik hemofília féleség a von Willebrand betegség, amelyet autoszomális gén okoz. Azonos (1/20 000) gyakorisággal fordul elő férfiakon és nőkön.

(A) *Homozigóta* normális színlátású anya x zöld színtévesztő apa: *GG* x *g/Y*

		spermium	
		1/2 *g*	1/2 **Y**
petesejt	1 *G*	1/2 *Gg* norm. színl. hordozó nő	1/2 *G/***Y** normális színlátású férfi

(B) *Heterozigóta* normális színlátású anya x zöld színtévesztő apa: *Gg* x *g* / **Y**

		spermium	
		1/2 *g*	1/2 **Y**
petesejt	1/2 *G*	1/4 *Gg* norm. színl. hordozó nő	1/4 *G/***Y** normális színlátású férfi
	1/2 *g*	1/4 *gg* zöld színtévesztő nő	1/4 *g/***Y** zöld színtévesztő férfi

(C) *Homozigóta* zöld színtévesztő anya x normális színlátású apa: *gg* x *G/***Y**

		spermium	
		1/2 *G*	1/2 **Y**
petesejt	1 *g*	1/2 *Gg* norm. színl. hordozó nő	1/2 *g/***Y** zöld színtévesztő férfi

2.6. ábra. *Normális színlátású és zöld színtévesztő egyedek között lehetséges házasságok és az ezekből származó utódok.* Normális színlátású anyák és színtévesztő apák között kétfajta kombináció lehetséges: (A) és (B). Csak egyfajta házasság lehetséges zöld színtévesztő anyák és normális színlátású apák között (C).

Bár a hemofília meglehetősen ritka betegség, mégis az anyáról a fiúgyerekre való átörökítési módot már 2500 évvel ezelőtt megfigyelték. A Talmud szerint, ha egy asszonynak már két vérzékeny fiúgyermeke volt, akkor minden további fiúgyermeke mentesül a körülmetélés (*circumcisio*) kötelezettsége alól. Ha három nővérnek volt már vérzékeny fia, akkor további nővérük fiúgyermeke menetesül a körülmetélés alól; e mentesség azonban nem érvényes fivéreik fiaira.

A hemofília jól nyomon követhető Európa egymással rokoni kapcsolatban lévő királyi családjaiban. Feltehetően Viktóra királynő szülei valamelyikében létrejött mutáció miatt négy fia közül egy hemofíliás volt. Elég hosszú ideig élt ahhoz, hogy hordozó leánygyermeke szülessék, akinek viszont volt egy egészséges és egy hemofíliás fia. Viktória öt lánya közül kettő hordozó volt, akiknek összesen három hemofíliás fiuk és három hordozó lányuk született. Az utóbbiak együttesen öt hemofíliás fiút (Viktória dédunokái) és

hat hordozó leányt hoztak a világra. Ezek között a legismertebb eset Alexej cárevicsé (Viktória dédunokája, az orosz trónörökös), akinek a betegsége – egyes nézetek szerint – siettethette az 1917-es orosz forradalom bekövetkeztét[7].

A hemofília A és B nagyon súlyos betegségek; az 1950-es évekig, amikortól a vérplazma készítmények általánosan elérhetőkké váltak, e betegségben szenvedők ritkán érték meg a felnőtt kort. A belső ízületi bevérzések fájdalmakat és mozgáskorlátozottságot okozhatnak, még a mai kezelési lehetőségek mellett is. A kezelés igen költséges. Ehhez járul még a vérkészítményekkel együtt járó hepatitis fertőzés és az AIDS[8] veszélye is.

A biotechnológia eredményei azonban új reményekre jogosítanak fel, mert lehetővé vált mindkét hemofília génjének a klónozása és tiszta antihemofíliás VIII. és IX. faktor előállítása gyógyászati célokra. Legalább ennyire fontos az is, hogy géntechnológiai módszerekkel sokat megtudhatunk e gének szerkezetéről, működéséről, evolúciójukról és termékeik szerkezetéről, továbbá a véralvadás folyamatáról is (l. 18. fejezet).

E két génről – még a molekuláris genetikai módszerekkel nyert eredményeket megelőzően – családfa vizsgálatokból tudtuk, hogy egymástól elég távol vannak az X kromoszómán. A hemofília A génje (azaz pontosabban az antihemofíliás globulin, a VIII. faktoré) az X kromoszóma hosszú karjának végén található, közel a színtévesztés és a glukóz-6-foszfát dehidrogenáz (*G6PD*) génjéhez. Mindkét (A és B) lokuszon számos allél fordulhat elő, mivel a betegeknél mért antihemofíliás faktorszint tág határok között (0-30%) változhat.

Az egészséges hordozók ugyancsak nagyfokú variabilitást mutatnak a vérzési idő hossza és a termelt faktorok mennyisége tekintetében, de ennek oka lehet a nőkben észlelhető X inaktiválódás jelensége is (l. 10. fejezet). Tény azonban az, hogy a hordozók több mint 70%-a felderíthető a normálisnál kevesebb véralvadási tényező mennyisége alapján. Amíg a géneket nem izolálták, a fejlődő magzatban nem tudták kimutatni a hemofíliát, legfeljebb a magzatból történő vérvétel útján, de ehhez egy speciális endoszkópos módszerre van szükség, amelyet csak erre a célra kialakított néhány központban tudtak elvégezni. Manapság azonban a két gén izolálása lehetővé tette, hogy a hemofíliát standard módszerekkel (amniocentézissel vagy chorion boholy biopsziával) nyert sejtek DNS vizsgálatával kimutassák (l. 18. és 22. fejezet). Ily módon az anya hordozó voltát ma már nemcsak a vérzési idő hossza alapján ítélhetjük meg, hanem DNS-ében e gének

---

[7] II. Miklós cár és Alexandra cárné, Viktória unokája egy titokzatos sarlatánhoz, Raszputyinhoz fordultak, hogy gyógyítsa meg a három éves gyereket. Midőn a gyermek „felépült", a hálás szülők bizalmukba fogadták és jelentős politikai befolyáshoz juttatták a ravasz Raszputyint. Az ifjú Alexej még sok vérzéses állapotot élt és szenvedett meg, mielőtt 14 éves korában családjával együtt kivégezték a bolsevik forradalmárok. Számos szépirodalmi mű örökítette meg e történetet, pl. Harmat Endre: Gyilkosság a Palotában.

[8] Acquired immune deficiency syndrome, szerzett immunhiányos állapot, melyet egy, a vér útján terjedő retrovírus (HIV) okoz.

közelében található restrikciós hasítóhelyek polimorfizmusa (RFLP, l. 18. fejezet) alapján.

A DUCHENNE-FÉLE IZOMDISZTRÓFIA (DMD)

X-hez kötött recesszív gén által meghatározott öröklődő betegség. Az érintett fiúgyermekeken kora gyermekkorban (már 5 éves kor előtt) jelentkezik izomgyengség formájában, és ritkán érik meg huszadik életévüket. A tüneteket a harántcsíkolt izmok degenerációja okozza. A betegségnek az X kromoszóma rövid karján elhelyezkedő génjét sikerült klónozni. A gén terméke a *disztrofin* nevű fehérje, amely az izomműködésben játszik szerepet. A DMD-vel, valamint a Becker-féle izomdisztrófiával (BMD) kapcsolatban l. részletesebben az 5. fejezetet.

X-HEZ KÖTÖTT LETÁLIS GÉNEK – ELTOLÓDÁS A NEMEK ARÁNYAIBAN

Az eddigiekben olyan génekről volt szó, amelyek *normális* vagy *kóros* tulajdonságot határoztak meg. De van a géneknek egy harmadik csoportja is, amelyeket ***letális mutációk***nak nevezünk; ezek az élethez elengedhetetlenül szükséges folyamatokat gátolják meg. A letális gének is lehetnek dominánsak vagy recesszívek, és előfordulhatnak bármely kromoszómán, mint bármely más gén. Hatásukat az élet bármely szakaszában kifejthetik, a legkorábbi embrionális kortól a felnőtt korig. A spontán vetélések egy részének oka: a magzati fejlődés idején ható letális gén.

		spermium	
		1/2 +	1/2 Y
petesejt	1/2 +	1/4 +/+ normális nő	1/4 +/Y normális férfi
	1/2 l	1/4 +/l normális hordozó nő	1/4 l/Y meghal születés előtt

2.7. ábra. *Egy X-hez kötött recesszív letális génnel rendelkező heterozigóta nő várható utódai.* A normális (vad típusú) gén jelölésére a + jelet használjuk, míg recesszív letális allél jelölésére az *l*-et. Ha a letális gén már a magzati életben kifejti a hatását, a fiúutódok fele éri csak meg a szülés időpontját, azaz az élve született utódok között kétszer annyi lány lesz, mint fiú.

Tegyük fel, hogy egy, a magzati élet korai szakaszában halált okozó recesszív mutáció történik az X kromoszóma egyik helyén. Mindegyik ezt öröklő fiú meghal még a születést megelőzően. Azok a lányok, akik ezt az X kromoszómát öröklik, normális fenotípusúak lesznek, de amint a 2.7. ábrából láthatjuk, fiúgyermekeik fele nem fog meg-

születni. Ezért az élve születettek között megváltozik a nemek aránya, az 1:1 helyett 2 leány : 1 fiú lesz. Ahhoz azonban, hogy az eltolódott nemi arányt megkülönböztethessük a normális arány véletlen ingadozásaitól, nagyszámú kiterjedt családot kell megvizsgálni. Az X-hez kötött letális mutációk emberben nem túl gyakoriak, ezért nem befolyásolják lényegesen a nemi arányt.

Az X-hez kötött letális gének a gyümölcslegyekre ugyanilyen hatással vannak, mivel a nőstény itt is XX, a hím pedig XY. Müller az X-hez kötött letális mutációk által okozott nemi arány eltolódást használta fel a mutációk gyakoriságának meghatározására gyümölcslegyek természetes populációiban. Összehasonlította a spontán mutációs rátát azzal az arányszámmal, amelyet röntgenbesugárzás után kapott. Elsőként mutatta ki a röntgensugárzás letális mutációk gyakoriságát fokozó hatását[9] (l. 13. fejezet).

Y-hoz kötött gének

Legtöbb fajban igen kevés Y kromoszómához kötött gént találtak. Emberben az Y kromoszóma alig hosszabb, mint a legkisebb autoszóma, és rövidebb, mint az X kromoszóma hosszának a fele. Az Y szerepe esszenciális a hím nemi jelleg kialakításában, ill. a női nemi jelleg kialakulásának meggátlásában, hiszen azok az egyedek, akik ugyancsak egy X kromoszómával rendelkeznek, de nincs Y-juk, fenotípusosan nővé fejlődnek (l. 8. fejezet). Pontosabban azt mondhatjuk, hogy az Y kromoszóma egy meghatározott szakasza felelős a hím jellegért és ennek hiányában fejlődik ki a női fenotípus.

Az Y kromoszóma rövid karjának vége homológ az X kromoszóma rövid karjának végével – ez az ún. pszeudoautoszomális régió (l. 10. fejezet). Bármely gén, amely az Y kromoszóma nagyobb, az X-szel nem homológ részén található, különleges öröklésmenettel rendelkezik: minden fiú utód az apjától örökli ezt és kerül kifejeződésre benne ill. nemzedékről nemzedékre minden további fiúutódjában. A leányutódok nem örökölhetik ezt az X-el nem-homológ Y kromoszóma régiót.

---

[9] Van egy olyen vizsgálat, amely megkísérelte annak meghatározását, hogy a Japánra 1945-ben ledobott atombombák fokozták-e ott a mutációs arányszámot (l.13. fejezet).

Többszörös allélek

Emlékezzünk rá, hogy Mendelnek a szegregációra vonatkozó törvénye kimondja, az allélpárok tagjai szétválnak az ivarsejtek képződésekor úgy, hogy egy petesejt vagy egy hímivarsejt a két allélnek csak az egyikét tartalmazza. Az, hogy a két allél közül éppen melyik jut egy kiválasztott ivarsejtbe, a véletlen dönti el. Így egy *Aa* heterozigóta ivarsejtjeinek átlagosan az egyik fele tartalmazza az *A* és a másik fele az *a* allélt. Egy ilyen heterozigótában az allélek nem „szennyezik" egymást: pl. egy *aa* egyed fenotípusa ugyanaz, akár egy *Aa* × *Aa*, akár egy *Aa* × *aa*, akár esetleg egy *aa* × *aa* keresztezésből származik.

Egyetlen gént véve két alléllel (*A* és *a*) arra is emlékezzünk, hogy ezek 3 genotípussá, és ezek a genotípusok 6 keresztezési típus szerint kombinálhatók. A várható utódosztályok mindegyik keresztezésből könnyen megjósolhatók a ***Punnett tábla*** segítségével, és az 1:2:1, az 1:1, vagy az 1:0 ideális arányokat mutatják.

A TÖBBSZÖRÖS ALLÉLSOROZATOK EREDETE

Egy gén változó formái – az allélek – mutációval keletkeznek. Ez az egyik, mondjuk a „standard" vagy „vad típusú" allélnek a kémiai megváltozása egy másik, „mutáns" változatra. Eddig csak két alléllel bíró géneket tekintettünk, de ez nem egy mágikus szám. Mutációval elméletileg annyi különböző allél jöhet létre, ahány kémiai változás csak lehetséges egy génben. Néhány génnek több száz ismert allélje van.

Egy gén különböző allél formáinak a jelölésére kényelmes az indexbe tett sorozatszám: pl. A^1, A^2, A^3,...,A^N, ahol N a legnagyobb szám a sorozatban.[10] Fontos megjegyezni a többszörös allél sorozatokról, hogy *minden egyed itt is csak két allélt hordozhat* (vagy csak *egyet* az X-hez kötött génekből a férfiakban). Ezek a populáció egészében nagyobb, N számban létező változatokból származnak. (Természetesen, egy egyed – bármelyik változatra nézve – lehet homozigóta is.)

Jó példa a többszörös allél sorozatokra a hemoglobin molekula β polipetid láncát kódoló gén (l. 13. fejezet). E génnek több mint 100 alléljét fedezték már fel, és bizonyosan többet is találnak még. A gén (legalábbis a világ egyes régióiban) leggyakoribb alléljei közül négyet gyakran jelölnek így: Hb^A, Hb^S, Hb^E és Hb^C. Az *A* index a normális allélt jelöli, az *S*, *E* és *C* pedig olyan allél formákat, amelyek különböző abnormális β láncokat kódolnak. Fenotípusosan a Hb^S-re homozigóták sarlósejtes anémiában szenvednek, mely

---

[10] Ahol kézenfekvő, a nemzetközi rendszert követjük az emberi gének és allélek elnevezésére. Ezt a terminológiát azonban kutatók számára tervezték, és általában nehézkesebb, mint ami e jegyzetben szükséges.

súlyos betegség. A Hb^E és a Hb^C homozigótáknak csak enyhe vagy középsúlyos anémiájuk van. Azok a heterozigóták, akikben a normális allél akár a Hb^S, akár a Hb^E vagy a Hb^C alléllel kombinálódik, egészségesek vagy közel azok.

AZ ALLÉLEK GENOTÍPUSSÁ KOMBINÁLÓDÁSA

Vegyünk egy gént a következő három alléllel: B^1, B^2 és B^3. Az allélekre nézve *homozigóta genotípusok* alább a bal oldali, a különböző allélek párosításával keletkező lehetséges *heterozigóta genotípusok* pedig a jobboldali oszlopban vannak felsorolva.

B^1B^1	B^1B^2
B^2B^2	B^1B^3
B^3B^3	B^2B^3

Általánosítva, egy N alléllel (A^1, A^2, A^3, ..., A^N) rendelkező gén esetében egy kis algebrai jártassággal levezethető az alábbi képlet:

$$\text{Lehetséges genotípusok} = \frac{N(N+1)}{2}$$

ahol N az allélek száma. Az összes kombinációból N homozigóta, a többi heterozigóta. Ellenőrizhetjük, hogy a fenti képlet a helyes eredményt adja N = 2, 3 vagy 4 esetén. Ahogy az allélek száma emelkedik, a lehetséges különböző genotípusok száma meredeken nő (10 allélnél 55, 20 allélnél 210). Egyes populációkban az összes genotípus előfordulhat, de néhány hiányozhat is, azaz nem fordul elő egyetlen élő vagy valaha élt egyedben sem. Mindenesetre ismét hangsúlyozzuk, hogy minden egyes genotípus csupán két allélből áll össze minden lokuszra nézve.

A heterozigóták fenotípusa

Az, hogy valaki milyen fenotípusú, függ mind az illető génjeitől mind a környezettől, amelyben fejlődik és él. Emellett gyakori, hogy egy bizonyos fenotípus állandóan ugyanazzal a genotípussal asszociálódik, még széles tartományban változó környezet és más lokuszok változatos allél összetétele (az ún. „háttér" genotípus) mellett is. Egy

DuPress

gén különböző allél kombinációi által létrehozott fenotípusok lehetnek megegyezők, de kissé vagy (mint egyes súlyos örökletes rendellenességek esetén) nagyon eltérőek is. Egy gén két alléljével (A^1 és A^2) és így három genotípusával (A^1A^1, A^1A^2, $A^2\ A^2$) számolva a genotípusok és fenotípusok négyféle viszonyát az alábbi rövid elnevezésekkel illetjük:

Domináns és recesszív allélek. Ha a heterozigóta $A^1\ A^2$ úgy néz ki mint az egyik homozigóta, ***dominancia*** és ***recesszivitás*** áll fönn. Pontosabban, ha a heterozigóta ugyanolyan fenotípusú mint az A^1A^1, azt mondjuk, hogy az A^1 allél a domináns és az A^2 a recesszív. Az albinizmus egyik formája jó példa: a gén A^1 allélje egy működő (tirozináz) enzimet határoz meg; A^2 allélje nem kódol működő enzimet. Fenotípusosan:

$A^1A^1 = A^1\ A^2$ = normális pigmentáció, domináns tulajdonság
$A^2\ A^2$ = albinizmus, recesszív tulajdonság.

Általában a domináns allélt nagy betűvel jelöljük, a recesszívet pedig a megfelelő kis betűvel. Így az albinizmus példájában az indexelés helyett a következő jelölést használjuk:

$CC = Cc$ = normálisan pigmentált
cc = albínó (c mint *colorless*)

A dominancia és recesszivitás elég elterjedt, mert egyetlen vad típusú alléllel is elegendő jó enzimet termelhet az egyed a hibátlan fejlődéséhez; azaz, a normális mennyiségű enzim fele is elég. Általában az enzimek csak kis mennyiségben szükségesek a reakciók katalizálásához. Ezért mondhatjuk, hogy a dominancia a szervezetekbe az evolúció során beépült biztonsági faktor tükröződése.

Intermedier (köztes) heterozigóta. Ha a heterozigóta A^1A^2 fenotípusa a két eltérő homozigóta megjelenési formája közé esik, ***intermedier heterozigóta*** a neve. Szinonim kifejezések: *szemidominancia*, *intermedier* vagy *részleges dominancia*, ***inkomplett dominancia***, *inkomplett recesszivitás*. A könnyen megfigyelhető fenotípussal járó intermedier heterozigótaság tiszta esetei ritkák a humángenetikában, de jó példák vannak rá a virágok, ill. az állati szőr színének öröklődésében. Pl. a piros virágszínt egy antocianin nevű pigment eredményezi, aminek a szintézisét végző enzim csak az R allélről termelődik, az r allélről nem. A csodatölcsér esetében az RR virág piros, az Rr rózsaszín, az rr fehér.

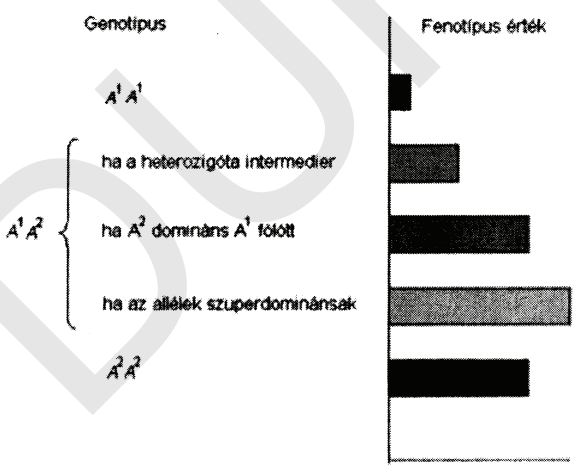
Kodomináns allélek. Ha az A^1A^2 heterozigóta mindkét homozigóta fenotípusnak megfelelő jelleget egyaránt mutatja – nem elegyítve, hanem keveredésmentesen kombinálva –, ***kodominanciá***ról beszélünk. Minden allél megtartja a homozigótára jellemző kifejeződését a heterozigótákban is. Az ABO vércsoport rendszer I^A és I^B alléljei (7. fejezet) jó példái a kodomináns expressziónak.

A kodominancia gyakran várható a közvetlen géntermék, azaz a polipeptid szintjén. Egy gén két allélje által kódolt két polipeptid változat rendszerint nagyjából azonos mennyiségben van jelen a heterozigótában. A kétféle (és jellemző esetben egyenként a normális mennyiség felét kitevő) polipeptid együtt egy köztes kifejeződést eredményezhet a külső fenotípus szintjén, de a fehérjék szintjén az allélek kodomináns viselkedésűek.

Szuperdomináns (a dominánst felülmúló) heterozigóta. Ha az A^1A^2 heterozigóta fenotípusa mindkét homozigótát felülmúlja, ennek ***szuperdominancia*** a neve. A „felülmúlja" jelentheti azt, hogy jobban alkalmazkodik a környezethez vagy termékenyebb, és ezen esetekben *heterozigóta előny*ről vagy *heterózis hatás*ról beszélünk. Az, hogy a heterozigóta jobb lehet mint a homozigóták, fontos gondolat az evolúció elméletében (l. 21. fejezet), de hogy mennyire széleskörű lehet ez a jelenség, nem ismeretes.

A szuperdominanciának szerepe van néhány magas hozamú haszonnövény előállításában.

Figyeljük meg, hogy a heterozigótákban a „fenotípus érték" lehet kisebb, egyenlő vagy nagyobb egy homozigótáéhoz képest, vagy lehet nagyobb mint akármelyik homozigótáé. Ez látható az 2.8. ábrán.



2.8. ábra. *Az intermedier heterozigóta, a dominancia és szuperdominancia jelentésének grafikus megjelenítése.* A fenotípus érték (vízszintes tengely) bármely alkalmas mértékegységben megadható.

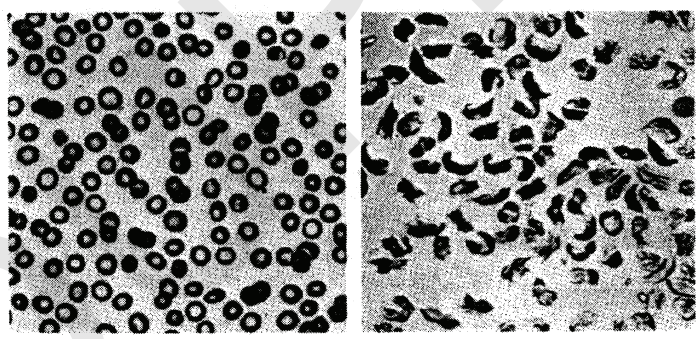
DUPress

A MEGFIGYELÉS SZINTJEI

Az elnevezés, amit a fenotípus kialakításában az allélek viszonyának leírására használunk, nagyban függ attól, hogyan vizsgáljuk a fenotípust. A hemoglobin normális β polipeptidjét kódoló Hb^A gén és az abnormális sarlósejtes polipetidet kódoló allélje, a Hb^S jól illusztrálja ezt a jelenséget.

A Hb^S recesszív a Hb^A mellett. A klinikusok szemszögéből csak a homozigóta (Hb^SHb^S) egyedeknek – akiknek sarlósejtes vérszegénysége van – szükséges kórházi ellátás. A heterozigótákra általában klinikailag nem figyelnek fel, bár alkalmanként enyhébb tüneteik jelentkezhetnek.

A Hb^S domináns a Hb^A mellett. A laboratóriumban a vért mikroszkóp alatt vizsgálóknak a Hb^S allél inkább dominánsként viselkedik, mintsem recesszívként. A standard tesztben a tárgylemezre cseppentett vért légmentesen fedőlemez alá zárják. Ilyenkor szabálytalan, úgymond sarló alakú vörösvértesteket látni *mind* a sarlósejtes vérszegénységben szenvedő homozigóták, *mind* a klinikailag tünetmentes heterozigóták esetén (2.9. ábra). A heterozigóták vörösvértestjeinek „sarlósodása" csak extrém O_2 hiány esetén következik be *in vitro,* a szervezetben, normális keringési viszonyok mellett azonban nem. A heterozigótákra azt is szokás mondani, hogy a sarlósejtes jelleg – nem beteg – hordozói.



2.9. ábra. *A sarlósejtes jelleg laboratóriumi tesztje.* Mikroszkópi tárgylemezen a fedőlemez alá légmentesen lezárt normális (bal oldalon), és sarlósejtes hemoglobint – is – tartalmazó vérminta (jobb oldalon) jellemző mikroszkópi képe. Bár a sarlósejtes allélre heterozigóta és homozigóta személyből vett vér egyaránt sarló alakú sejteket eredményez e tesztben, a heterozigóták nem betegek.

A Hb^S és Hb^A kodominánsak. A heterozigótákból izolált β láncokat (pl. gél elektroforézissel) analizáló biokémikus számára a két (bár csak egy aminosavban) különböző polipeptid jelenléte kodominanciát jelent. Az egyik polipeptidet a Hb^S, a másikat a Hb^A allél kódolja.

A Hb^SHb^A heterozigóta intermedier. Maguknak a hordozóknak az olykor jelentkező szubklinikai tüneteik azt sugallják, hogy a fenotípusuk intermedier. Csökkent oxigén ellátás körülményei között (pl. nyomás kiegyenlítés nélküli kabinban nagy magasságú repülés alkalmával, vagy akár szülés közben) néhány heterozigóta tünetei (hasi fájdalom és véres vizelet) köztesek a normális és beteg fenotípus között. A heterozigótáknak szintén akadnak sarlósejtes vörösvértestjei *in vivo*, de sokkal kevesebb mint a sarlósejtes vérszegénységre jellemző 30%.

A Hb^SHb^A heterozigóta szuperdomináns. A populáció genetikusoknak a sarlósejtes gén a heterozigóta előny legjobb ismert példája lett. Az 1950-es évekbeli orvosi kutatások kimutatták, hogy a heterozigóták csaknem teljesen rezisztensek a malária-val szemben. Így a világ azon részein, ahol a malária előfordul, a heterozigóták élet- és szaporodóképesebbek mint akár a sarlósejtes vérszegények, akár a normális homozigóták. Ne felejtsük, hogy a heterozigóták előnye nem terjed ki a Föld azon területeire, ahol a malária nem honos.

A valószínűségszámítás néhány szabálya

Eddig Punnett táblát használtunk az utódok genotípusának megállapítására egy keresztezésben. Így eljárva kimondatlanul is a valószínűség elveit használtuk. Vannak azonban módszerek, melyek – a valószínűségszámítási képleteket használva – több gén esetén gyorsabban, egyszerűbben vezetnek ugyanarra az eredményre.

Itt meg kell jegyezni, hogy a következőkben leírtak nem képeznek egy valószínűségszámítási tananyagot - azt a hallgatók a Biometria keretében találhatják meg. Csupán néhány, az alapfokú genetikai alkalmazásokhoz szükséges fogalom rövid, szemléletes felidézését végezzük el, főleg példákon keresztül.

DUPress

DEFINÍCIÓ

Kérdezzük meg, mi az esélye egy A esemény bekövetkezésének. A valószínűség így írható:

$$P(A) = \frac{\text{az A számára "kedvező" kimenetek száma}}{\text{az egyenlő esélyű, különböző kimenetek összes száma}}$$

A P(A) jel olvasása: „az A esemény bekövetkezésének valószínűsége".

Egy véletlen eseménycsoport összegzett valószínűségének 1-et kell kiadnia, ha az eseménycsoport *teljes eseményrendszert* alkot, azaz az összes lehetséges eseményből áll. Tehát a teljes eseményrendszerben az egyes események valószínűségeinek összege egyenlő 1-el. Ez az állítás gyakran hasznos ellenőrzési módot kínál a számításainkhoz. Pl. a *Bb* × *Bb* keresztezésben a heterozigóta utódok valószínűsége plusz a homozigóta utódok valószínűsége egyenlő 1-el.

A VALÓSZÍNŰSÉGEK KOMBINÁLÓDÁSA

Sokszor az *összetett események* valószínűségének kiszámításához szükség van az *elemi események* valószínűségeinek kombinálására. A következő szabályokat intuitív alapon mutatjuk be.

Az összeadási szabály (a „vagy" szabály). Ha annak valószínűségét akarjuk megadni, amellyel különböző események közül *vagy* egyik *vagy* másik, stb. következik be, akkor a külön-külön meghatározható valószínűségeiket *össze kell adnunk.*

Az összeadási szabály megszorítása: *az eseményeknek egymást kölcsönösen kizáróaknak kell lenniük.* Ez azt jelenti, hogy az egyik esemény bekövetkezése kizárja, hogy egyidejűleg egy másik esemény is megtörténjen. A genetikában általában erről van szó. Ha egy szervezet *BB* genotípusú, az ugyanakkor nem *Bb,* sem más.

Az egymást kölcsönösen ki nem záró események szemléltetésére vegyük, hogy A = szív jelű kártya (13 db egy pakliban) húzása, és B = dáma (4 db egy pakliban) húzása. Mivel lehetséges, hogy egy kártya szív jelű és dáma is egyszerre,

$P(\text{szív vagy dáma}) \neq 13/52 + 4/52$

Mivel ilyenkor az összeadási szabály nem alkalmazható, máshogy kell számolni. Pl. közvetlenül a valószínűség meghatározásából 16/52 (azaz 13 szív plusz a többi 3 dáma az 52-es csomagból).

DUPress

A szorzási szabály (az „és" szabály). Vegyük ismét a kísérletet, melynek eredménye lehet A, B, C, D, ... Többször megismételve a kísérletet, érdekes lehet az egymásutáni próbálkozások kombinált kimenetele: pl. A elsőre és B másodikra. A később megadott megszorítással ez a kombinált valószínűség

$$P(A \textit{ és } B) = P(A) \cdot P(B)$$

Valahányszor a mindennapi nyelvben az *és* használatos, általában a szorzási szabály alkalmazandó. Mi az esélye annak, hogy 4 testvér közül mind lány legyen? A válasz:

$$P(4 \text{ lány}) = P(\text{lány}) \cdot P(\text{lány}) \cdot P(\text{lány}) \cdot P(\text{lány}) = (1/2)^4 = 1/16 = 0{,}0625$$

(Bár itt 1/2-el számoltunk, a valóságban egy lány születésének esélye ennél valamivel kisebb, népcsoportonként változóan 0,48-0,49). Általánosan

$$P(A \text{ és } B \text{ és } C \text{ és } \ldots) = P(A) \cdot P(B) \cdot P(C) \cdot \ldots$$

Szavakkal, ha egy esemény *és* egy másik, stb. bekövetkezésének együttes valószínűségét határozzuk meg, az egyes események külön-külön meghatározható valószínűségeit *össze kell szoroznunk.*

A szorzási szabály alkalmazásának megszorítása, hogy *csak független eseményekre érvényes.* Ez azt jelenti, hogy az egyik esemény bekövetkezése semmilyen módon nem befolyásolja a többi esemény esélyét.

A független események esete lényegesen különbözik az egymást kölcsönösen kizáró eseményekétől, ami az összeadási szabály feltétele. Az egymást kölcsönösen kizáró események sohasem függetlenek, mivel egy másik esemény kizárása drasztikusan befolyásolja az előfordulását.

Az összeadási és szorzási szabály együttes alkalmazására vegyük példaként egy *Aa* × *Aa* keresztezés utód nemzedékét. Alkalmazva a megismert valószínűségi szabályokat:

$P(AA)$ = P(*A* pete *és A* hímivarsejt) = $1/2 \cdot 1/2 = 1/4$

$P(Aa)$ = P(*A* pete *és a* hímivarsejt *vagy a* pete *és A* hímivarsejt) =

= $(1/2 \cdot 1/2) + (1/2 \cdot 1/2) = 1/4 + 1/4 = 1/2$

$P(aa)$ = P(*a* pete *és a* hímivarsejt) = 1/4

P(domináns fenotípus) = $P(AA) + P(Aa) = 1/4 + 1/2 = 3/4$

DUPress

A gaméták tisztasága (Mendel első törvénye) alkalmazása két génre

Sutton mutatta ki elsőként, hogy egy gén alléljeinek öröklődése egyetlen kromoszómapárnak a meiózis során mutatott viselkedésétől függ. Ebben a fejezetben bebizonyítjuk, hogy több különböző gén alléljeinek megoszlása is a kromoszómáknak a meiózis során mutatott viselkedésétől, mozgásától függ. Bár Mendel számára a gének még pusztán absztrakciók voltak, törvényei mégis igaznak bizonyultak, mivel a kromoszómák sajátos módon viselkednek a meiózis során.

Mint bármely diploid élőlényben, az emberben is minden génnek (emberben összesen kb. 30-40 ezer) két allélje lehet jelen (ha az egyén heterozigóta). Eddigi tanulmányaink során csak egy-egy gén (lokusz) alléljeinek öröklődését vizsgáltuk egyenként, az itt következőkben egyszerre két gén sorsát fogjuk követni. Vizsgáljuk meg a legegyszerűbb esetet: milyen petesejtjei keletkezhetnek egy, a ***T*** és ***U*** génekre nézve homozigóta nőnek (genotípusa tehát ***TTUU***)?

Mendel első törvénye alapján kimondhatjuk, hogy minden egyes ivarsejt a ***T*** alléleknek csak egyikét fogja tartalmazni, ugyanez természetesen igaz az ***U*** allélekre is. Így az illető nő minden petesejtje ***TU*** genotípussal jellemezhető. Ha egy férfi genotípusa ***ttuu***, akkor spermiumai ***tu*** genotípusúak. Ilyen genotípusú szülők gyermekei természetesen a ***TU*** és ***tu*** genotípusú ivarsejtek összeolvadásából származnak, tehát genotípusuk ***TtUu*** lesz. Egy ilyen egyén kettős heterozigóta (Mendel terminológiáját használva a két génre nézve heterozigóta egyed dihibrid genotípusú, ezért beszélünk ilyen esetekben ***dihibrid keresztezés***ről). Esetében a következő kérdéseket tehetjük fel:

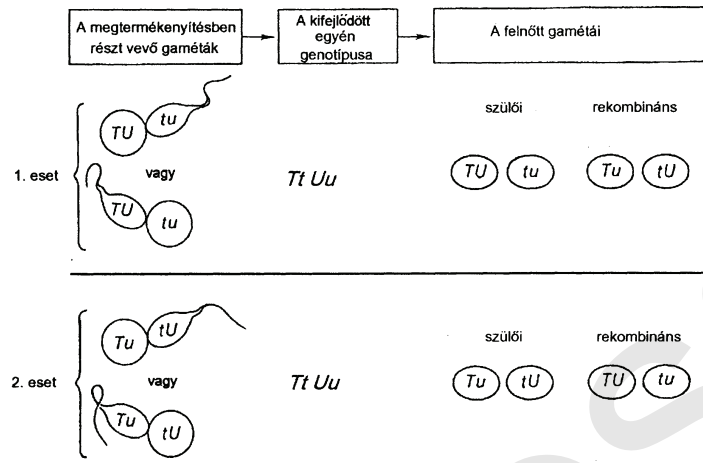
1. Milyen gamétái keletkeznek?
2. Milyen arányban keletkeznek a különböző gaméták?

Az első kérdésre könnyebb válaszolni. Mendel első törvénye értelmében a gaméták a ***T*** és ***t*** valamint az ***U*** és ***u*** allélek egyikét fogják tartalmazni. Attól függően tehát, hogy a ***T*** és ***t***, allélek hogyan kombinálódnak az ***U*** és ***u*** allélekkel, négy különböző genotípusú gaméta keletkezhet:

TU; ***Tu***; ***tU***; ***tu***.

Az első és az utolsó gaméta genotípusa megegyezik annak a két szülői gamétának a genotípusával, amelyekből létrejött az utód. A két középső azonban a gének új kombinációit tartalmazza, eltérőeket a közvetlenül megelőző generációétól (szülői gaméták); ezek a ***rekombináns (neokombináns) gaméták***. Az ilyen kettős heterozigóták keletkezésének két lehetséges módját szemlélteti az 2.10. ábra.

Puffer



2.10. ábra. *A szülői és rekombináns genotípusú gaméták fogalmának magyarázata.* Látható az ábrán, hogy ugyanolyan kettős heterozigóta genotípusú egyed két különböző módon is létrejöhet. Mindkét esetben az illető egyed gamétái közül azokat nevezzük rekombináns gamétáknak, amelyek allél összetételükben különböznek a kettős heterozigóta egyedet létrehozó gamétáktól. Ennek megfelelően az egyik változat szülői gamétái azonosak a másik változat rekombináns gamétáival.

A ***kettős heterozigóta egyén*** négyféle lehetséges gamétájának arányai természetesen a kérdéses gének viszonyától függően változhatnak. Itt most azt az esetet vizsgáljuk meg, amikor a gének különböző (nem-homológ) kromoszómákon találhatók.

Nem-homológ kromoszómákon lévő gének: Mendel második törvénye

A második törvényt úgy illusztrálhatjuk, hogy együttesen követjük két tulajdonság – a hipofizer[11] törpeség és az AB0 vércsoportrendszer – öröklődését. A törpenövésnek sokféle oka lehet, ezek egyike az agyalapi mirigy elülső lebenyében termelődő növekedési hormon hiánya. Ez a leggyakoribb formája a törpeségnek (I. típus, pituiter törpeség).

[11] hipofízis (*hypophysis*) = agyalapi mirigy

Jellemzője az arányos törpeség, lapos arc, magas homlok és magas hang. Legyen ***d*** a törpeség génjének recesszív allélje. Az érintett egyének ***d/d***, a normál testméretű egyének pedig ***D/d*** vagy ***D/D*** genotípusúak.

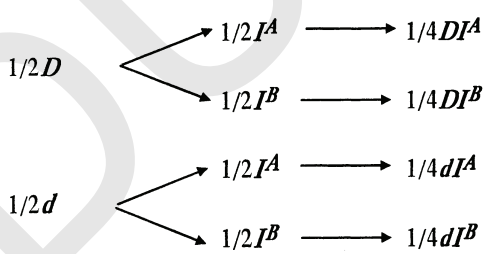
A GAMÉTÁK ARÁNYAI

A DdI^AI^B kettős heterozigóta négyféle gamétát termel, melyek genotípusa a következő:

$$DI^A \qquad DI^B \qquad dI^A \qquad dI^B$$

Milyen arányban keletkeznek ezek? Mendel az allélek ***szegregáció***ját leíró törvényének megfelelően a gamétáknak várhatóan a fele hordozza majd a ***D*** és a másik fele pedig a ***d*** allélt. Ugyanezen törvénynek megfelelően a gaméták fele tartalmazza majd az I^A a másik fele pedig a I^B allélt. A következő kérdés az, hogy milyen kombinációban fog megoszlani ez a két pár allél a gamétákban. Mendel azt is kimutatta, hogy különböző gének alléljei egymástól függetlenül válnak szét a gaméták kialakulása során, azaz az egyik allélpár tagjainak szétválása nem befolyásolja egy másik allélpár tagjainak szétválását. Az allélpárok tehát önállóan, egymástól függetlenül szegregálódnak. A különböző gaméták gyakorisága pedig a véletlen megoszlásnak megfelelő, bármely gaméta előfordulásának valószínűsége egyenlő a benne meglévő allélek előfordulási valószínűségének a szorzatával.

Az alábbi diagram alkalmas a kettős heterozigóták gamétáinak a meghatározásához. A valószínűségszámítás „és" törvényének figyelembevételével a mi példánk a következően alakul:



Ez a diagram tartalmazza Mendel második törvényének, a független hasadásnak a lényegét (két vagy több génpár tagjai [ha különböző kromoszómákon helyezkednek el] egymástól függetlenül, véletlenszerű kombinációkban kerülnek a gamétákba).

DUPress

A függetlenül öröklődő gének esetében a kettős heterozigóták gamétáinak 50%-a a szülőkével megegyező, 50%-a rekombináns gaméta. Mivel ilyenkor a kromoszómák és azok DNS molekulái nem változnak meg, csak újra kombinálódnak, ezt a folyamatot ***neokombináció***nak is szokás nevezni, megkülönböztetésül attól a (máshol tárgyalt) esettől, amelynél a kromoszómák „crossing over" révén részeket cserélnek (ez a szorosabban vett rekombináció), így alakítva ki a különböző gének alléljeinek új kombinációit a gamétákban és az utódokban. Ha a megtermékenyítéskor a kettős heterozigótát létrehozó gaméták DI^A és dI^B genotípusúak voltak, akkor a diagram első és utolsó gamétája szülői genotípusú, a másik kettő pedig rekombináns gaméta. Ha a megtermékenyítéskor a DI^B és dI^A gaméták egyesültek, akkor a diagram első és utolsó gamétája a rekombináns és a másik kettő pedig a szülői genotípusú. Mindkét esetben a függetlenül öröklődő gének – a pituiter törpeség és az AB0 rendszer génjei – 50%-os rekombinációt mutatnak. A Mendel által leírt gének mindegyike így viselkedik.

AZ UTÓDOK GENO- ÉS FENOTÍPUSAI DIHIBRID KERESZTEZÉS ESETÉBEN

Határozzuk meg most a:

$$Dd\,I^A I^B \times Dd\,ii$$

genotípusú szülők házasságából származó utódok lehetséges fenotípusait. A sakktábla diagramon a sorok és az oszlopok a különböző gamétákat és azok gyakoriságát tartalmazzák. A négy különböző spermium genotípusa az előző diagramban látható. A petesejtek genotípusát hasonló módon határozzuk meg, mindössze az okoz eltérést, hogy a nő homozigóta a *i* génre nézve.

Törpeség allélje	AB0 allélek	Gaméták összetétele
½*D*	mind *i*	½*Di*
½*d*	mind *i*	1/2*di*

A sakktábla-diagramon meghatározhatjuk az utódok lehetséges genotípusait és azok valószínűségét is.

DUPress

♂ \ ♀	1/2 *Di*	1/2 *di*
1/4 DI^A	1/8 DDI^Ai normál; A	1/8 DdI^Ai normál; A
1/4 DI^B	1/8 DDI^Bi normál; B	1/8 DdI^Bi normál; B
1/4 dI^A	1/8 DdI^Ai normál; A	1/8 ddI^Ai törpe; A
1/4 dI^B	1/8 DdI^Bi normál; B	1/8 ddI^Bi törpe; B

Minden genotípus valószínűsége 1/8 (1/2 · 1/4). Mivel a hipofizer törpeség recesszív jelleg, minden utód, aki legalább egy *D* allélel rendelkezik, normális növésű. Összeadva a genotípusokat az alábbi fenotípus megoszlás várható az utódgenerációban:

3/8-ad normál növésű A vércsoportú
3/8-ad normál növésű B vércsoportú
1/8-ad törpe növésű A vércsoportú
1/8-ad törpe növésű B vércsoportú

A vércsoportú utód valószínűsége a „vagy szabály"-nak megfelelően a valószínűségek összegéből számítható. 1/8 DDI^Ai + 1/8 DdI^Ai + 1/8 DdI^Ai = 3/8 a normál növésű A vércsoportú utódok valószínűsége. Az is megfigyelhető, hogy a normális növekedésű utódok között 1:2 a *DD* és *Dd* genotípusok aránya, tehát egyharmaduk homozigóta, kétharmaduk heterozigóta a növekedést meghatározó génre nézve. Ugyanezen megállapítások igazak a normál növésű B vércsoportú utódokra is.

A GÉN × GÉN MÓDSZER

A genetikai problémák megoldására használható sakktábla módszer (Punnett táblázat) ***gaméta × gaméta módszer***nek is nevezhető, mert először a gaméták genotípusait és azok gyakoriságait kell meghatározni, és azután kell azokat összeszorozni a megfelelő kombinációkban. A másik használatos eljárás, amit ***gén × gén módszer***nek is neveznek, különösen akkor hasznos, ha sok gént kell egyszerre figyelembe vennünk és a sok lehetséges kombinációnak csak némelyike érdekel bennünket. Ennek a módszernek a bemutatására is az előbbi példát használjuk.

$$DdI^AI^B \times Ddii$$

Ha egyszerre csak egy-egy allélpárt veszünk figyelembe, akkor Mendel első törvénye értelmében a következőket kapjuk:

DUPress

$Dd \times Dd$	genotípusok:	1/4 *DD*, 1/2 *Dd*, ¼ *dd*
	fenotípusok:	3/4 egészséges, 1/4 törpe
$I^A I^B \times ii$	genotípusok:	1/2 $I^A i$, 1/2 $I^B i$
	fenotípusok:	1/2-ed A vércsoportú, 1/2-ed B vércsoportú

Mivel tudjuk, hogy a két gén egymástól függetlenül öröklődik, összeszorozzuk a várható egyedi kategóriákat (azok valószínűségét) és így kapjuk meg a különböző utódok keletkezésének a valószínűségét. A fenti fenotípusos valószínűségeket figyelembe véve az alábbi eredményeket kapjuk:

P(normál növ., A vércsop.) = P(normál növ.) · P(A vércsop.) = 3/4 · 1/2 = 3/8
P(normál növ., B vércsop.) = P(normál növ.) · P(B vércsop.) = 3/4 · 1/2 =3/8
P(törpe növ., A vércsop.) = P(törpe növ.) · P(A vércsop.) = 1/4 · 1/2 =1/8
P(törpe növ., B vércsop.) = P(törpe növ.) · P(B vércsop.) = 1/4 · 1/2 =1/8

Ez a ***gén* × *gén*** módszer természetesen ugyanarra az eredményre vezet, mint a ***gaméta* × *gaméta*** módszer.

Most a ***gén* × *gén*** módszert használva számítsuk ki, hogy kétszeresen heterozigóta szülőknek milyen fenotípusú utódai lehetnek, és mennyi ezeknek az utódoknak az előfordulási valószínűsége? A szülők genotípusa a következő:

$$DdI^A i \times DdI^A i$$

Ha csak a növekedési hormon mennyiségét meghatározó alléleket vesszük figyelembe, akkor az utód nemzedékben 3/4 normál növekedésű és 1/4 törpe növésű fenotípus arány jön létre. Ha a vércsoport alléleket ismét csak önmagukban vizsgáljuk, az utódok fenotípusának a valószínűsége 3/4 A vércsoportú és 1/4 0 vércsoportú lesz. A gén × gén módszer szerinti összeszorzásukkal a következő lehetséges fenotípusokat és azok alábbi valószínűségeit várjuk:

P(normál növekedés) · P(A vércsoport)=3/4 · 3/4 = 9/16
P(normál növekedés) · P(0 vércsoport)=3/4 · 1/4 = 3/16
P(törpe növekedés) · P(A vércsoport)=1/4 · 3/4 = 3/16
P(törpe növekedés) · P(0 vércsoport)=1/4 · 1/4 = 1/16

Ez természetesen nem más, mint a már ismert **9 : 3 : 3 : 1** dihibrid arány, amit már Mendel is megfigyelt a borsókkal végzett kísérletei során, amikor két függetlenül öröklődő tulajdonság öröklődését együttesen vizsgálta.

Ennek a két analitikai módszernek a használata (**gaméta x gaméta; gén x gén**) nagyjából ugyanannyi munkát igényel az eredmény kiszámításához, ha két független gén öröklődését vizsgáljuk. Más a helyzet, ha több mint két gén öröklődését kívánjuk követni.

DUPress

Számoljuk ki pl. azt, hogy az alábbi keresztezés utódnemzedékében (F_1) az összes utód hány százaléka mutatja a domináns fenotípust az összes génre nézve!

(P) *CcDdEeFF* · *CcDdeeFf*

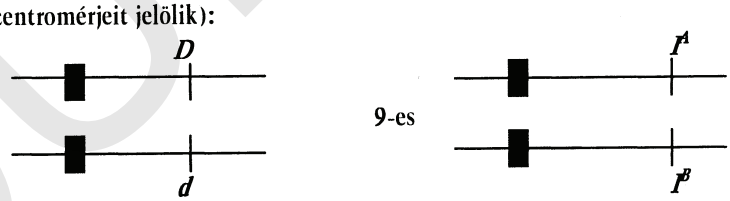
A Punnett táblázat elkészítése ebben az esetben túlságosan is bonyolult lenne, a **gén X gén** módszer használata azonban egyszerűen elvezet a megoldáshoz.

A gének párosítása	P (a domináns fenotípusú utódé)
Cc × *Cc*	3/4
Dd × *Dd*	3/4
Ee × *ee*	1/2
FF × *Ff*	1

A gyakoriságokat összeszorozva 9/32-et kapunk, azaz az utódok 9/32 része mutatja az összes génre nézve a domináns fenotípust. Természetesen a Punnett táblázat használata is megfelelő lenne, de a **gén × gén** módszer egyszerűbb.

MENDEL MÁSODIK TÖRVÉNYE ÉS A MEIÓZIS

A hipofizer törpeség és az AB0 vércsoportrendszer esetében ismert, hogy a két gén különböző homológ kromoszómapárokon található. (A hipofizer törpeség génje a 17-es kromoszóma hosszú karjának közepén helyezkedik el, az AB0 vércsoportrendszer lokusza pedig a 9-es kromoszóma hosszú karjának a végén található.) A kétszeresen heterozigóta apa genotípusa és kromoszóma képlete az alábbi módon ábrázolható (a vastag téglalapok a kromoszómák centromérjeit jelölik):



Mivel a *D* és *d* ugyanannak a génnek az alléljei ezért ugyanazt a helyet – lokuszt – foglalják el a két homológ kromoszómán. Ugyanez igaz az I^A és I^B allélekre is. Ez a férfi a 17-es és a 9-es kromoszómáinak egy-egy példányát az apjától, a másik példányát pedig az anyjától örökölte. A szervezetében végbemenő spermiogenezis során a meiózis I anafázisában a 9-es kromoszómapár apai és anyai eredetű tagjainak szétválása független a 17-es kromoszómapár apai és anyai eredetű tagjainak szétválásától (szegregációjától).

DUPress

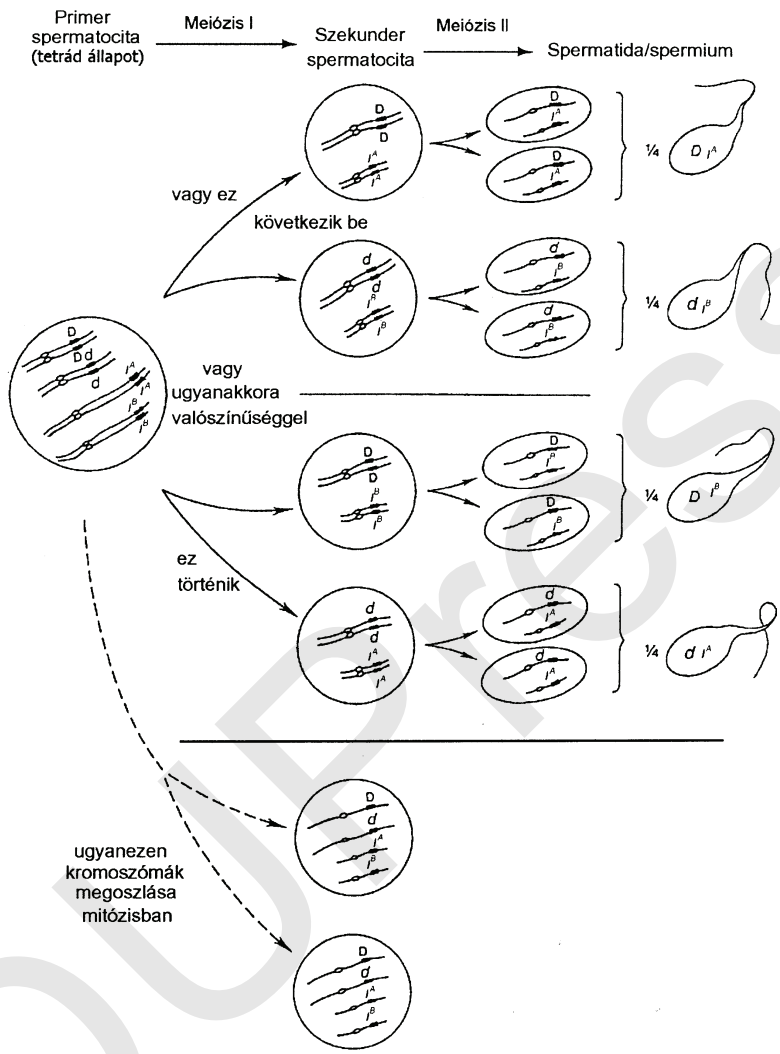
Amint az a 2.11. ábrán is látható, a keletkező gaméták genotípusa azonos lesz a korábban már megtárgyalt keresztezés eredményével.

Lehetséges-e közvetlenül – mikroszkóppal megfigyelve – bebizonyítani azt, hogy egy homológ pár tagjai egy másik pár tagjaitól valóban függetlenül, véletlenszerűen válnak szét és jutnak be az utódsejtekbe?

A közvetlen citológiai bizonyítás feltétele az, hogy legalább két kromoszómapár tagjai legyenek megkülöböztethetőek a mikroszkópban. A legtöbb fajban például az X és Y kromoszómák alkotnak egy ilyen párt. Századunk elején Carothers kimutatta, hogy egyes szöcskékben nem csak az ivari kromoszómák tagjai különböznek, hanem az egyik autoszomális pár két tagja is, mert a pár egyik tagja tartalmaz az egyik végéhez tapadva egy másik kromoszómáról letört darabot is. Így a két homológ pár tagjai mikroszkópban is jól megkülönböztethetőek voltak. Szöcskék hereszövetének mikroszkópos vizsgálatával Carothers kimutatta, hogy a szekunder spermatociták mind a négy várható típusa (2.11. ábra, második oszlop) nagyjából azonos arányban található meg. Ez egyértelműen bebizonyította, hogy a kromoszómák viselkedése határozza meg a génátadás mendeli törvényszerűségeit.

A génexpresszió variációi

Sok növényi és állati példából tudjuk, hogy egy gén hordozása nem jelenti azt, hogy az minden egyedben ugyanúgy kerül expresszióra. Amikor egy gén „bekapcsolt" állapotban van, RNS és polipeptid termékei kölcsönhatásba lépnek a belső környezet (beleértve más gének termékeit és az anyagcsere közti termékeit) és a külső környezet (beleértve a táplálkozást, a gyógyszereket, az éghajlatot, a szennyezéseket, az edzést és a szellemi stresszt) elemeivel. Egyes gének, mint pl. az AB0 vércsoportokat meghatározók, lényegében mindig hasonlóan fejeződnek ki, tekintet nélkül a „háttér" genotípusokra és a külső körülményekre. Más gének, mint pl. a rövidujjúságé, különbözőképpen (vagy egyáltalán nem is) fejeződhetnek ki, attól függően, hogy más, gyakran nem azonosítható tényezők jelen vannak vagy hiányoznak.



2.12. ára. *A négyféle lehetséges gaméta képződése a spermatogenezis során két homológ kromoszómapár független hasadásával és újra kombinálódásával.* Az egyik homológ pár tagjai a D vagy d alléleket hordozzák, ezek a növekedési hormon termelődését befolyásoló gén alléljei. A másik pár tagjai az I^A vagy I^B alléleket tartalmazzák, amelyek az AB0 vércsoportot meghatározó antigének kialakulásáért felelős allélek. A végeredmény: a meiózis I anafázisa során a különböző homológ párok független hasadása következtében négyféle gaméta keletkezhet és mindegyik kialakulásának azonos a valószínűsége (1/4). Az oogenezis során ugyanilyen genotípusú sejtek keletkezhetnek, de a négy haploid utódsejt közül csak egy fejlődik funkcióképes gamétává.

DUPress

NEMEK SZERINTI KÜLÖNBSÉGEK

A nemi hormonok nagy hatást képesek gyakorolni a belső környezetre. A géntermékek így a két nemnek megfelelően két kémiailag eltérő környezet valamelyikében találják magukat. Bár ez sok gén expressziójában nem okoz eltérést, néhány öröklődő jelleg különbözik a két nemben. Világossá kell tennünk, hogy itt a ***nem által befolyásolt öröklődés***nek nevezett körben *autoszomális* lokuszok hatásait tárgyaljuk, amelyek öröklődésmenete különbözik a máshol sorra kerülő nemhez kötött génekétől.

A nem által befolyásolt öröklődés egyik példája a *férfias kopaszság*, ami a homlokon és a fejtetőn korai hajhullással jár, de másutt nem. Ennek öröklődését nehéz vizsgálni, mert a hajhullást sok – genetikai és környezeti – tényező okozhatja. Ráadásul a hajhullás különböző életkorban kezdődik, és változó mértékű. Főleg a férfiakat érinti; a nőknél, akik ugyanezen allélokat hordozzák, inkább csak a haj ritkulása, mintsem teljes elvesztése történik. A jelleg expressziójában hím nemi hormonok, androgének játszanak szerepet. Pl. az egész fejre kiterjedő, sokszor feltűnően dús hajzat figyelhető meg még idős korban is olyan férfiakon, akik a pubertás előtti kasztráció vagy súlyos here sérülés miatt nemileg éretlenek maradtak. Androgén kezeléskor azonban egyesek közülük megkopaszodnak. Másrészt, mellékvese-daganatos nők nagy mennyiségű androgént termelhetnek, és kopasszá válhatnak. A daganat eltávolítása ezen esetekben elősegíti a haj újranövését. Tehát ehhez a kopaszság-fajtához szükség van *mind* egy bizonyos allélre (amely közösnek látszik nőkben és férfiakban), *mind* a megfelelő androgén koncentrációra. A konkrét géntermék és annak kölcsönhatási módja az androgénekkel még nem ismert.

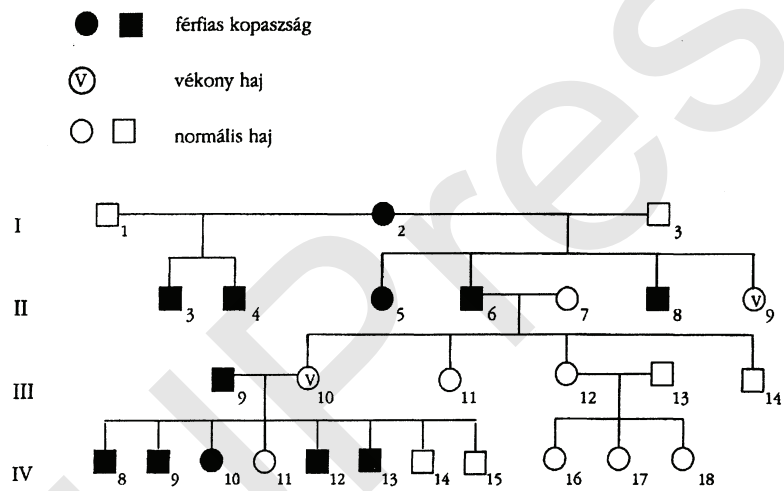
Az apáról fiúra történő átadás és egyéb adatok kizárni látszanak az X-hez kötött öröklődést, de a pontos öröklésmenet még mindig nem világos. Régi feltételezés, hogy a férfias kopaszságért felelős autoszomális allél (B_1) domináns a férfiakban és recesszív a nőkben (egy B_2 alléllal szemben). A 2.12. ábrán látható családfa tényleg megfelel ennek a hipotézisnek, de nyitva hagyja az utat más magyarázatok előtt is.

Azon jellegeket, amelyek csak az egyik nemben létező szervekkel vagy folyamatokkal kapcsolatosak, ***nemre korlátozott***nak nevezzük. Itt speciális öröklésmentről nem helyénvaló beszélni, ui. a géntermékeknek a test belső környezetével történő kölcsönhatása vezet a nemi különbségekhez. Pl. a *hydrometrocolpos*, amit a méhben és a hüvelyben felgyülemlő folyadék jellemez, egy bizonyos autoszomális recesszív génre homozigóta nőkben fordul elő. Nyilvánvalóan férfiakban ez a tünet még homozigótaság esetében sem jelenhet meg soha. A marháknál a tej mennyiségét és minőségét autoszomális gének befolyásolják, amelyeket egyformán örökít mindkét szülő. De mivel a bikák ezen gazdaságilag fontos géneket nem fejezik ki, a tenyésztők a bikák értékét ebből a szempontból a nőstény rokonaik tejtermelése alapján értékelik. (Egy arra érdemes bika még elpusztulása után is ezrével nemzhet utódokat fagyasztott sperma és mesterséges meg-

termékenyítés révén.) A tejtermelést befolyásoló gének emberben is léteznek, de öröklésmódjukról még keveset tudunk.

VÁLTOZÓ EXPRESSZIVITÁS

A nemi jellegek kifejeződése csupán egyetlen tényező a géntermékekkel történő kölcsönhatásokban. Általánosabban: a genotípus és a környezet egésze módosíthatja az egyes géntermékek hasznosítását. A ***változó expresszivitás*** egy adott allélnak a különböző egyedekben mutatott eltérő hatását jelenti. A nem által befolyásolt jellegek ennek egy specális esetét képezik.

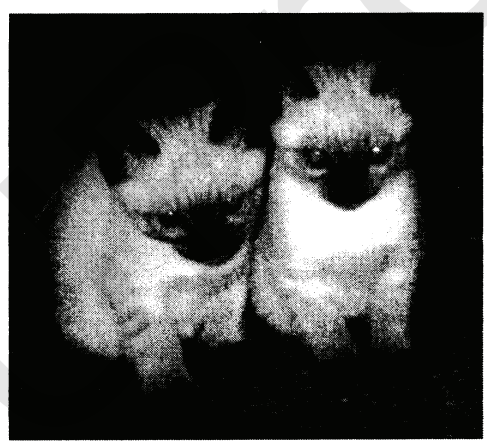


2.12. ábra. *A férfias kopaszság részleges családfája.* Az I-2 nőről azt mondták, hogy fiatal korától „nagyon kopasz volt a feje teteje és a homloka". Fiai (II-6 és II-8), továbbá fiú dédunokái (IV-8, IV-9, IV-12 és IV-13) ugyanilyen minta szerint megkopaszodtak 25 éves korukra. (I-2 előző házasságából származó fiairól keveset tudunk.) Ha a férfias kopaszság recesszív a nőkben, akkor II-5-nek nem lenne szabad kopasznak lennie. De mivel ő krónikus beteg volt, és csak elég előrehaladott korban kopaszodott meg, az ő esetében más tényezők játszhattak közre.

Kísérleti élőlényekben számos génről tudjuk, hogy más gének expresszióját világosan meghatározott módon befolyásolják. A ***szuppresszor mutációk*** visszafordítják egy másik mutáns gén hatását a normális vagy közel normális fenotípusra, bár a másik mutáció is megmarad. A szupressziót nagyon részletesen tanulmányozták baktériumokban

és vírusokban, ahol a DNS specifikus bázis változásait is felderítették. A **módosítók** (*modifiers*) olyan gének, amelyek más gének expressziójának mértékét változtatják meg. Egérben, nyércben és más emlősökben pl. sok gén felelős a szőrzet színezéséért a fekete, barna és sárga különféle árnyalataira, de van egy módosító gén, a **hígító** (*dilute*), amely csökkenti a színek intenzitását fakó szürke, cserszínű ill. tompa sárgás színekre.

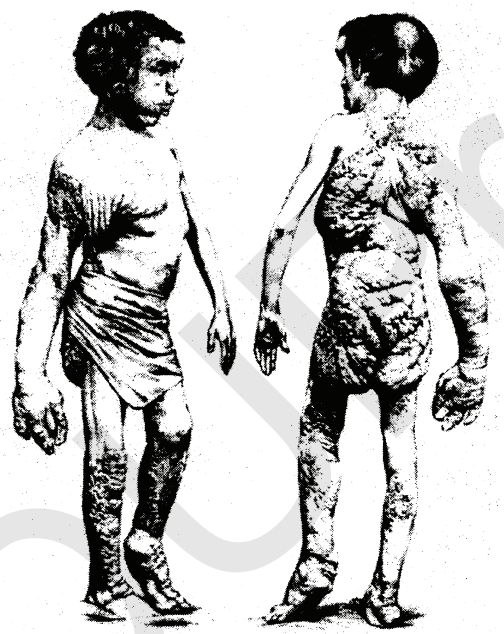
A sziámi macskák (l. 2.13. ábra) és a Himalája nyulak esete példa rá, hogy egy örökletes jellegben a környezet létrehozhat változatokat. Ezek az állatok homozigóták az egyik szőrszín gén egy mutáns alléljára, amely világos vagy fehér szőrt eredményez az egész testen, kivéve az ún. csúcsi részeket. A mancsok, a fülek, az orr környéke és a farok sötét szőrű, amelynek aktuális színét más gének határozzák meg. E sötét szín kifejlődése azonban a hőmérséklettől függ. Minél alacsonyabb a hőmérséklet, annál sötétebb a szín, és annál kiterjedtebbek a sötét területek. Láthatóan a pigmentet előállító enzimnek azok a valamivel alacsonyabb hőmérsékleti értékek kedveznek, amelyek a test fő tömegétől távolabb, illetve nagyobb hőleadásnak kitett területeken fordulnak elő. Ha egy Himalája nyúl fehér foltjáról leborotváljuk a szőrt, és egy jeges zacskót kötünk rá, a kinövő új szőr sötét lesz.



2.13. ábra. *Sziámi macskák. A szőrszín pigmentet előállító enzim a testvégi részeken lévő viszonylag alacsonyabb hőmérsékleteken a legaktívabb.*

A változó expresszivitás jellemző az emberre is, de itt általában nem könnyű azonosítani speciális módosító géneket vagy környezeti tényezőket. Csaknem minden mutáns fenotípusról (különösen a domináns gének által okozottakról) kimutatható, hogy egyénenként változó megjelenésű. Az autoszomális domináns betegség, a **neurofibromatózis** (pontosabban a *von Recklinghausen-féle neurofibromatózis*, megkülönböztetve ezzel a

hasonló betegségektől) jó példa erre. Az enyhe esetekben csak néhány pigmentált terület (ún. tejeskávé folt) és jóindulatú bőrdaganat (neurofibróma) van. A súlyosabb esetekben azonban a betegben ezrével fejlődnek ki a különböző méretű neurofibrómák (2.14. ábra), és egy sor egyéb tünet is társul. Néhány ezekből szerepel az 2.3. táblázatban. „A betegségnek annyi arca van, és annyira változó, hogy mind a remény, mind az elkeseredés egyaránt jelen van". Olykor kozmetikai sebészettel csökkenteni lehet a súlyos torzulásokat, így segítve a társadalmi beilleszkedést. A betegség viszonylag magas előfordulási gyakorisága – kb. 1 minden 3000 születésből – és sok kutatás ellenére az orvosok nem tudják még megbecsülni, hogyan fog jelentkezni egy adott egyénben, és a fő tüneteket sem tudják még hatásosan kezelni. A gént egy restrikciós enzim hasító hely közelébe térképezték a 17-es kromoszómán. A prenatális diagnózis és a lehetséges terápia bizonyára csak az izolált gén, ill. terméke analízise után várható.



2.14. ábra. *A neurofibromatózis egyik lehetséges végletes megjelenési formája csontváz deformitásokkal és tömeges karfiolszerű bőrdaganatokkal.*

A manifesztáció kezdetének életkor szerinti változatossága. A génexpresszió egy másik aspektusa az az életkor, amelyben a fenotípus jegyek először jelentkeznek. Bár sok örökletes jelleg, mint pl. az albinizmus vagy a polidaktilia már születéskor, sőt prenatálisan is jelentkezik, mások csak később jönnek elő. Pl. bár a fenilketonúriát már születéskor diagnosztizálni lehet egy egyszerű vizeletvizsgálattal, néhány hónapig nincs feltűnő rendellenesség. A változás egy szemre egészséges babától a súlyosan abnormálisig (ha nem kezelik) fokozatosan megy végbe az első életév folyamán, mégpedig a különböző tüneteknek egyénileg változó ***manifesztációs időpont***ban történő jelentkezésével.

Dürer

2.3. táblázat. *Neurofibromatózist kísérő tünetek*

Tünet[a]	*Gyakoriság a neurofibromatózis betegeknél*
Leukémia és más rosszindulatú folyamat	Általános
Fejfájás	Általános
Csökkent intelligencia (általában kisfokú)	40%
Beszédhiba	30-40%
Nagy fej (a 97 percentilist elérő fejméret)	27%
Alacsony növés (nem magasabb a 3 percentilisnél)	16%
Székrekedés	10%
A szem, az agy vagy a gerincvelő daganata	5-10%
Más belső tumor	Néhány százalék
Gerincferdülés	2%
A kar- és lábcsontok csökkent mésztartalma	0,5-1%
Csökkent agyi vérellátás	Nem gyakori
Magas vérnyomás	Ismeretlen gyakoriságú
Epilepsziás rohamok	Ismeretlen gyakoriságú
A neurofibrómákkal összefüggő viszketegség	Ismeretlen gyakoriságú
Nehéz társadalmi beilleszkedés	Ismeretlen gyakoriságú

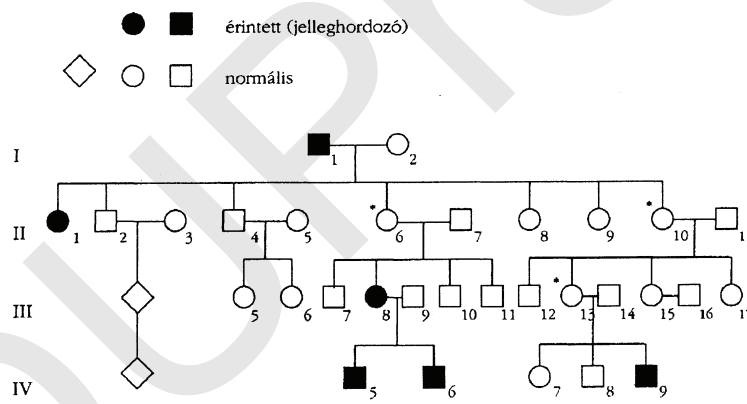
[a] Ezek a tünetek kiegészítésként járulhatnak a kávéfoltokhoz, a hónaljban lévő szeplőkhöz, a bőr neurofibrómáihoz, és a szem szivárványhártyájának kis csomócskáihoz, amelyek majdnem minden felnőtt betegben megtalálhatók.

A Huntington betegség (***Huntington-chorea***) autoszomális domináns öröklődésű. E mutáns allél elsődleges hatásmódja nem ismert, de az agysejtek előrehaladó degenerációjához vezet, ami azután súlyos izom-merevedéseket és személyiség-hibákat hoz létre. Nincs hatékony kezelése, és 10-15 évvel a tünetek jelentkezése után halállal végződik. Csak kivételesen jelentkeznek a betegség első jelei gyermekekben; az esetek kb. 60%-át 35 és 50 éves kor között diagnosztizálják, míg a maradék egyenletesen oszlik meg e korhatár alatt és fölött. Az allélt hordozó személyeknek megszülethetnek a gyermekei még az első tünetek megjelenése előtt, és gyermekeiknek abban a tudatban kell élniük, hogy egy napon ők is megbetegedhetnek. DNS-analízissel felfedhető ma már a betegséget okozó allél jelenléte vagy hiánya, mielőtt a tünetek jelentkeznek, de az érintett személyek számára nem könnyű a döntés, hogy egy ilyen tesztet elvégeztessenek-e vagy sem (l. még 18. fejezet).

INKOMPLETT PENETRANCIA

Szélsőséges formája a változó expresszivitásnak a kifejeződés teljes hiánya azon személyekben, akik biztosan hordozzák a megfelelő allélt. Egy jellegzetes fenotípus expressziójának ez a teljes elmaradása az ***inkomplett penetrancia*** (részleges áthatolóképesség). Genetikai és környezeti okokból egyaránt létrejöhet, értékét %-ban szoktuk megadni.

Egy dominánsan öröklődő jellegnél az inkomplett penetrancia „generáció átugrás"-ként jelentkezhet. Ez a helyzet látható a polidaktilia (számfeletti ujjak) egy családfáján a 2.15. ábrán. Mivel a betegség elég ritka, feltehető, hogy mind a hat érintett (jelleghordozó) egyén ugyanazt a domináns allélt hordozta. A II-6 személynek az allélt az apjától kellett kapnia, és a lányának adta tovább, bár rajta a jelleg nem mutatkozott. Egy két-generációs ugrás látható a családfa jobb oldalán. (Bár a domináns öröklődés még ezen a családfán is megállapítható, olykor a csökkent penetrancia kérdésessé teheti az öröklésmenetet.) A polidaktilia a változó expresszivitást is szemlélteti. Az 2.16. ábrán egy olyan eset szerepel, amelyben mind a négy végtagon 6 megkülönböztethető ujj van, de mindnél a csontok kissé eltérő fejlődése látszik.



2.15. ábra. *A polidaktilia egy családfája.* A három, csillaggal megjelölt személy kétségtelenül rendelkezett a polidaktilia domináns alléljával, de az nem fejeződött ki bennük.

DUPress

GÉNKÖLCSÖNHATÁSOK

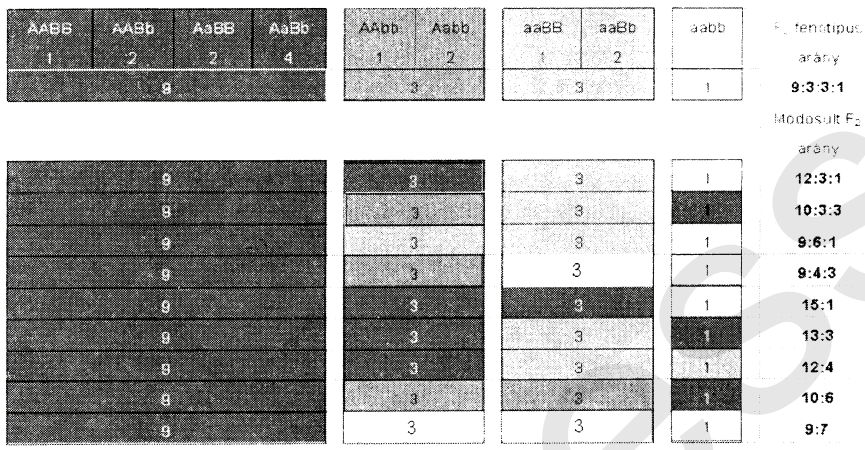
Különböző lokuszokon levő (tehát nem-allélikus) gének egymás expresszióját befolyásolhatják. Ezeket az eseteket ***génkölcsönhatás*** néven szokás említeni, melynek néhány gyakoribb formáját a következőkben ismertetjük.

Általában az inkomplett penetrancia pontos oka ismeretlen. Néhány speciális esetben felfedezték, hogy egy bizonyos allél az egyik (episztatikus) lokuszon elfedi egy *másik* (*hiposztatikus*) *lokusz* alléljának hatását. Ez a jelenség az ***episztázis***. (Nem tévesztendő össze a dominanciával, aminél egy allél szintén elnyom egy másik allélt, de *ugyanazon a lokuszon*). Például a *bb* genotípusú egér barna, a *B*– pedig fekete, de sem a barna, sem a fekete pigmentáció nem jelenik meg a szőrzetben, ha az egér egyúttal homozigóta *cc* egy másik lokuszon. A *cc* genotípus albínó egeret eredményez, amely egyáltalán nem képez semmilyen szőrszín anyagot, így a többi lokusznak erre az anyagra ható alléljei nem számítanak. Azt mondjuk, hogy a homozigóta recesszív *cc* genotípus episztatikus a B lokusz (és más szőrszín lokuszok) alléljei fölött. Ezt az esetet ***recesszív episztázis***nak nevezzük. Az episztázis általában eltérést okoz a várható fenotípus arányoktól. Az eltéréseket az alábbi táblázat szemlélteti olyan génekre nézve, amelyek függetlenül (azaz nem-homológ kromoszómákon) öröklődnek. A dihibrid keresztezésben szokásos (várható) F_2 fenotípus arány 9:3:3:1. Ehelyett azonban az episztázis miatt egyes osztályok eltűnhetnek, vagyis beolvadhatnak más osztályokba (különálló fenotípusuk elvész), és módosult arányokat kapunk. A fenti recesszív episztázis esetén pl. az F_2 arány 9:4:3 lesz. A legjobb humán példa a recesszív episztázisra az AB0 vércsoportok elnyomása az ún. ***Bombay*** fenotípusú egyénekben, amit egy másik fejezetben tárgyalunk részletesebben.

A ***domináns episztázis*** esetén az egyik lokuszon jelenlevő domináns allél elnyomja egy másik lokusz expresszióját, ami 12:3:1 F_2 arányt eredményez (ilyen kölcsönhatást pl. a lovak egyes szőrszín génjei között lehet megfigyelni).

Egy további gyakori eset az, amelyben egy végtermék (pl. egy színanyag) két enzimatikus lépésben jön létre, színtelen közti termékekből. Jellemző esetben a két enzim génjének csak a domináns alléljei eredményeznek funkcióképes enzim-fehérjét, míg recesszív aléljaik hibásak. Ilyenkor bármelyik gén homozigóta recesszív állapota a (színes) végtermék hiányához, és így hasonló fenotípushoz vezet. Ezeket az allélokat ezért ál-, azaz ***pszeudoallélek***nek is nevezik. A végtermékhez kötött tulajdonság (a szín) csak akkor jelenik meg, ha mindkét génből legalább egy domináns allél jelen van az egyedben, amelyek mintegy kiegészítik egymás működését. Ezt ***komplementer*** (kiegészítő) ***génhatás***nak, illetve a jelenséget ***komplementáció***nak is nevezzük. Ha a két enzim génje nem-homológ kromoszómán helyezkedik el, akkor az F_2 arány 9:7 lesz (pl. 9 színes : 7 fehér; l. a 2.4. táblázat utolsó sorát). Az ilyen esetek kapcsolatosak a genetikai hete-

rogenitassal is (l. később). Egyéb, nem említett esetek további arány-módosulásokkal járhatnak (2.4. táblázatot).

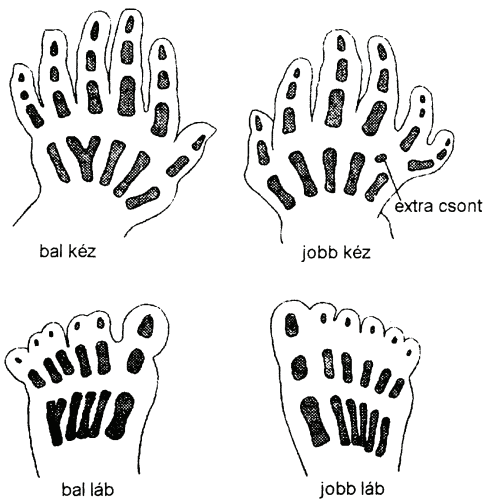


2.4. táblázat. *F_2 genotípus és fenotípus arányok különböző génkölcsönhatások esetén dihibrid keresztezésben.* (Á különböző háttér különböző fenotípust jelez).

A génkölcsönhatások igen gyakran érintenek morfológiai, fejlődési folyamatokat. Egy ismert példa erre a tyúkok taraj formájának kialakításáért felelős két gén kölcsönhatása. A közönséges, ún. „egyszerű" taraj *rrpp* genotípus alapján fejlődik ki. Az *RRpp* vagy *Rrpp* genotípusú baromfiak „rózsa", az *rrPP* vagy *rrPp* genotípusúak „borsó" alakú tarajjal rendelkeznek. Ha azonban mindkét lokuszon legalább egy domináns allél jelen van (*R–P–* genotípus), akkor az összes korábban említettől különböző, ún. „dió" taraj fejlődik ki. Vegyük észre, hogy ebben az esetben az F_2 arányok nem mutatnak eltérést a megszokottól, viszont a két nem-allélikus domináns gén által külön-külön meghatározott fenotípus nem jelenik meg egymás mellett az utódok 9/16 részét kitevő *R–P–* genotípusú egyedekben (hiszen ez nem is lehetséges, mivel más-más módon ugyanannak a struktúrának a kialakulására hatnak).

Általában, ha génkölcsönhatást, episztázist észlelünk, az annak a jele, hogy az illető gének termékei valamely közös folyamatban (anyagcsere útvonal, fejlődési program) vesznek részt. A génkölcsönhatásokat így az azonos folyamatokban szereplő gének összegyűjtésében, azonosításában is segítségül lehet hívni.

DUPress



2.16. ábra. *Egy hétéves norvég fiú röntgen felvételeinek vázlata* (nem a 2.15. ábra esetei közül való). A hatodik ujj mindegyik végtagon elég jól kifejlődött, de különbözőképpen. A bal végtagokon az egyik kéz- ill. lábközépcsont Y alakú elágazása jól látszik. Érdekes módon a jobb kéz extra csontja kimutatható volt a szintén hatujjú anya jobb kezében is.

ANYAI GÉNHATÁS

Vannak olyan gének, amelyek legfőbb hatása nem az őket hordozó egyedben nyilvánul meg, hanem a az utódokban. Ilyen gének elsősorban a korai embrionális fejlődést befolyásolják, ezért róluk a fejlődésgenetika tárgyalása során lesz még szó (8. fejezet). Ilyenkor – jellemző esetben – az anya testén belül képződő, majd megtermékenyítés után ott is fejlődő pete számára az anyai sejtek a fejlődés kezdeti lépéseit meghatározó (érintkezés útján vagy diffuzibilis anyagok révén közölt [8. fejezet]) információkat szolgáltatnak, amelyek a zigóta genotípusától függetlenül eldöntik az új egyed egyes fenotípusos sajátságait. Az ilyen ***anyai génhatás***nál tehát az egyed adott fenotípusa nem a saját génjei szerint, hanem az anya genotípusa szerint alakul. Fontos kiemelni, hogy a gének továbbadása ilyenkor is ugyanazon szabályszerűségek szerint történik, mint más kromoszomális gének estén, azaz az utódok genotípus arányai nem különböznek a más génekre levezethető arányoktól, de az örökölt anyai hatású gének fenotípusos érvényre jutását elfedi az anyai meghatározottság. Így tehát az F_1, F_2, stb. fenotípusok ill. arányok a keresztezésekben nem a klasszikus „mendeli" elvárások szerint alakulnak.

Az anyai génhatást fontos elkülöníteni az anyai öröklődéstől (l. az extrakromoszómális öröklődésnél). Az utóbbinál az utódok szóban forgó génjei egyedül az anyától származnak, és nem a sejtmagban levő kromoszómákon, hanem egyes citoplazmatikus sejtorganellumok DNS-ében vannak. Így a meiózis során egész másként viselkednek mint a kromoszómális gének, és nem követik a Mendel-szabályokat.

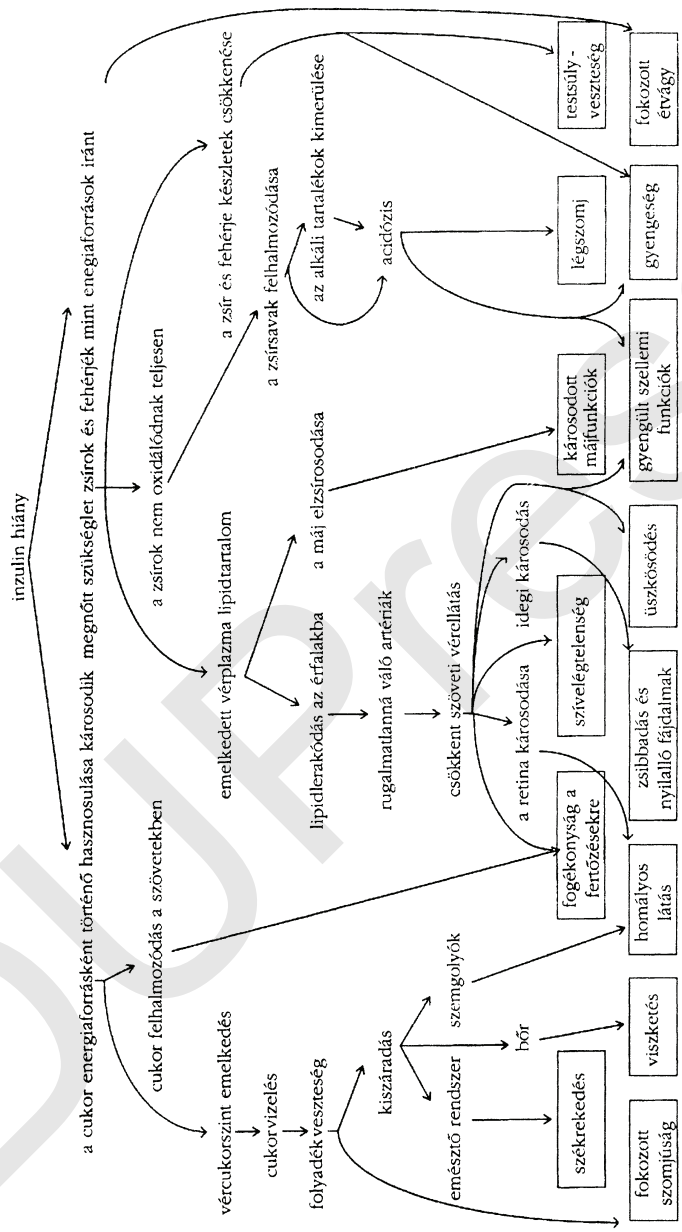
EGY GÉN TÖBB HATÁSSAL

Az embrionális fejlődés bonyolultságát tekintve nem meglepő, ha egyetlen gén elromlása több, olykor látszólag egymástól független következménnyel is jár. Egy géntermék sok biokémiai folyamatban is részt vehet, és így több különböző hatást is gyakorolhat a növekedésre és a fejlődésre. A hatások így létrejövő kaszkádja ***pleiotrópia*** (szó szerint „sok fordulat") néven ismert. Akárcsak a változó expresszivitás, a pleiotrópia is inkább szabály, mint kivétel, különösen ha a fenotípust alaposan, több szinten is megvizsgáljuk.

Vegyük pl. a ***juvenilis diabetes*** inzulin-hiányának többszörös hatását (2.17. ábra). Az ábra bal oldalán olyan kórélettani következmények láthatók (szomjúság, székrekedés, viszketés, stb.), amelyek a sejtmembránban lévő, a sejtekbe glükózt transzportáló rendszer hibája miatt alakulnak ki. A vércukorszint tehát magasra emelkedik. Még súlyosabbak a jobb oldalon ábrázolt hatások, amelyek a sejten belüli csökkent glükózbontás kompenzációját kísérelve meg, a fehérjék és zsírok energiaforrásként történő mozgósításából származnak. A fehérjék lebontása testsúly vesztéshez és általános gyengeséghez vezet. A zsírok lebontása savas vegyületek (ketontestek) termeléséhez vezet olyan magas koncentrációban, amit a szervezet képtelen maradéktalanul semlegesíteni; ez hozzájárul a kóma és a halál bekövetkezésének lehetőségéhez.

EGY FENOTÍPUS KÜLÖNBÖZŐ OKOKBÓL

Az előzőekben éppen azt tárgyaltuk, hogy egy génnek többféle hatása is lehet. A fordítottja ennek, amikor különböző gének eredményeznek hasonló fenotípust. A polidaktilia ilyen eset (l. a 2.15. és 2.16. ábrát). A számfeletti ujjak létrejöhetnek kb. egy fél tucat különböző gén miatt, amelyek rendszerint domináns öröklődést és inkomplett penetranciát mutatnak. (Csak olyan fenotípusokat tárgyalunk itt, amelyekben a polidaktilia az egyedüli megfigyelhető rendellenesség. Más esetekben ez más, súlyosabb tünetegyüttesekkel – szindrómákkal – együtt fordul elő.) Egyik formában egy elég jól működő ujj jelenik meg a kisujj felőli oldalon (vagy analóg helyzetben a lábon). Egy másik for-



2.17. ábra. *Az inzulinhiány pleiotróp következményei a juvenilis diabetes mellitus során.*

DUPress

mában az extra ujj az előzőhöz hasonló pozícióban van, de sokkal csökevényesebb. Ismét más formákat egy számfeletti hüvelykujj, vagy eggyel több ízülettel rendelkező hüvelykujj, vagy egy extra mutatóujj jellemez.

A polidaktilia egyes formáinak gyakorisága az újszülöttek között jelentősen különbözik, leggyakoribb a számfeletti kisujj. Az újszülöttekben talált gyakoriság azonban nem azonos a korrekciós sebészeti beavatkozásra jelentkező páciensek gyakoriságával. Az ilyen gyakoriságbeli különbségek, amelyek attól függenek, hogyan derülnek ki az esetek, gondot okozhatnak a humángenetikusoknak (l. alább: Adatfelvételi torzítás).

A polidaktilia egy további sajátsága, hogy nem minden eset öröklődő. A prenatális környezeti tényezők által okozott fejlődési hibák között is lehetnek csontfejlődési rendellenességek. Az egyébként jellegzetesen genetikai eredetű tulajdonságoknak ilyen, a környezeti tényezők által létrehozott utánzatait ***fenokópiáknak*** nevezzük. Egy polidaktiliás egyén, akinek nincs jelleghordozó rokona – ún. sporadikus eset – lehet fenokópia, bár más ok is lehetséges.

Genetikai heterogenitás néven szokás leírni, ha többféle genetikai oka is lehet ugyanazon (vagy közel azonos) fenotípus(ok)nak. Az érintett egyén szempontjából a pontos ok fontos lehet. Például a hemofília A VIII-as véralvadási faktor hibája miatt jön létre, míg az ún. ***Christmas-betegség***et az előbbihez hasonló fenotípussal a IX-es faktor hibája okozza. A hemofília A tünetei kezelhetők koncentrált VIII-as faktor adásával, de ugyanez hatástalan a Christmas-betegség esetén, ami a IX-es faktor adagolásával tartható egyensúlyban, és fordítva.

A genetikai heterogenitás kimutatásának egy érdekes és egyre hasznosabb módját alkalmazta Morton. Az *elliptocytosis* (ovális vörösvértestek) nevű ritka, jóindulatú elváltozás génje (*EL1*) szorosan kapcsolt az *Rh* génnel az 1-es kromoszómán. Ez a kapcsoltság igaz egyes családokban, de másoknál a két gén egymástól függetlenül öröklődik. Az elliptocitózisnak tehát két (esetleg több) különböző gén mutációja is oka lehet – az *EL1* az *Rh*-val kapcsolt, míg az *EL2* nem. A két gén által okozott fenotípus másképpen megkülönböztethetetlen, az elkülönítéshez tisztázni kell a kapcsoltságot. Hasonló módszerrel kimutatható volt a mániás depresszió és a skizofrénia genetikai heterogenitása is.

Genetikai heterogenitás mindig várható az összetett anatómiai, élettani vagy viselkedési jellegeknél. A hallás pl. néhány száz gén működésén alapszik. Súlyosabb vagy enyhébb fokú süketséget eredményezhet, ha ezen gének egyike olyan allélra mutál, amely révén kárt szenved a közép- vagy a belső fül finom szerkezeteinek, ill. az agyba vezető idegi összeköttetéseknek a fejlődése. Becslések szerint a gyerekkori süketségek kb. fele ered ilyen genetikai tényezőktől. A maradékot – a fenokópiákat – az anya terhesség alatti egyes vírus fertőzései (különösen a kanyaró és a rubeola), éretlenség, vagy a magzat és az újszülött más típusú környezeti károsodásai okozzák. Audiológiai tesztek és a társult

pleiotróp hatások alapján kb. 50 különböző genetikai eredetű hallás-csökkenési szindrómát ismerünk. Ezen örökletes esetek durván kétharmada autoszomális recesszív, kb. egyharmada autoszomális domináns, néhány pedig X-hez kötött, valamint van mitokondriális öröklődésű is. Finomítva a vizsgáló módszereket, az egyes formák további felbontása is várható.

Adatfelvételi torzítás

Még ha egyetlen, teljes áthatolású gén egységes, könnyen felismerhető, születéskor megjelenő fenotípust határoz is meg (és nincsenek fenokópiák sem), a humángenetikusok akkor sem mindig figyelhetnek meg világos mendeli arányokat, melyek megerősíthetnének bizonyos genetikai feltevéseket. A szokásos arányoktól való eltérések még nagy mintáknál is előfordulhatnak, mivel a nyers adatok torzulhatnak az adatgyűjtés indirekt módszerei révén.

Egy hasonlat bemutathatja a probléma természetét. Tegyük fel, hogy száz szülész orvos összesíti, hány élő felnőtt nő, ill. férfi van a családjukban a testvérek között, önmagukat is beleértve. Átlagosan három testvért véve, tipikus adat lehet a következő:

Férfi	Nő	Összes	Arány (% férfi)
189	111	300	63,0

Az arány meglepően eltolt a férfiak javára. Ennek kulcsa, hogy a szülész orvosok maguk – az adatszolgáltatók, a *probandus*ok – is szerepelnek az arányban, és ők várhatóan többségükben férfiak. Tegyük fel pl., hogy 90%-uk férfi és csak 10%-uk nő. Ha a probandusokat kihagyjuk a nyers adatok közül, torzítatlan adatokat kaphatunk a felnőttkori nemi arány számításához:

	Férfi	Nő	Összes	Arány (% férfi)
nyers adatok	189	111	300	–
probandusok	–90	–10	–100	–
torzítatlan minta	99	101	200	49,5

Egy kritikátlan vizsgáló akár azt a következtetést is levonhatja, hogy a szülész orvosok lánytestvérei között borzasztóan magas a halálozási arány (ki tudja, milyen biológiai vagy társadalmi feltevést támogatva). Azt látjuk azonban, hogy az adatokat

DUPress

egyszerűen az adatgyűjtés módja torzította: fölös számú férfit „vittek be" a vizsgálatba. Ez a példa mutatja az ***adatfelvételi torzítás***t.

A hipotézisek tesztelése

Korábban megjegyeztük, hogy az észlelt adatok nem *pontosan* egyeznek meg egy hipotézis alapján elvárható ideális értékekkel, hanem több-kevesebb eltérés, ***deviáció*** van köztük. Pl. Mendel 787 magas és 277 alacsony növényt számolt meg két heterozigóta szülő 1064 utóda között. Ezek eltérnek az ideális 3/4 ill.1/4 aránynak megfelelő 798 ill. 266 számoktól. Táblázatosan:

Osztály	Észlelt szám	Várt szám	Eltérés
magas	787	798	−11
alacsony	277	266	+11
összesen	**1064**	**1064**	**0**

Az egyik fenotípus osztályban észlelt −11 és a másikban talált +11 eltérés lehet akár (1) véletlen hiba vagy (2) rossz hipotézis miatt is. Mivel a deviáció „kicsi", nagy valószínűséggel véletlen okozza, így nem tulajdonítunk neki nagyobb jelentőséget, hanem elfogadható bizonyossággal állítjuk, hogy adataink megfelelnek a mendeli hipotézisnek. Ha azonban az eltérés „nagy", akkor fel kell vetnünk, hogy a kapott eredmény nem felel meg a hipotézis alapján vártnak, és valami más hipotézist kell keresnünk.

A χ^2 PRÓBA: ÉRTELMEZÉS, MEGJEGYZÉSEK

Azt, hogy *milyen nagy eltéréseknél van a határ, amin túl kétkednünk kell a felállított hipotézisünkben,* egy ***statisztikai próba*** adja meg. A genetikában a leggyakrabban a ***χ^2 (khi-négyzet) próba*** kerül alkalmazásra. (Itt ennek sem bocsátkozunk a részleteibe, azok tekintetében biometriai tanulmányaikra lesznek utalva.)

Öröklődő-e a jelleg?

Láttuk, hogy a gének kölcsönhatása olykor bonyolult, és az öröklődő jellegek vizsgálata nem mindig jár egyértelmű eredménnyel. Szélső esetben felvetődik, vajon egy adott fenotípus öröklődik-e egyáltalán. Az öröklődés megállapításához legalább két fontos körülmény együttes fennállása szükséges:

(*1*) *A jellegnek gyakoribbnak kell lennie a probandusok rokonságában, mint a populációban általában.* Ha a jelleget egyetlen gén örökíti komplikáló tényezők nélkül, meghatározott számarányok megléte jó érvet szolgáltat. Két vagy több gén részvétele vagy növekvő számú befolyásoló tényező esetén a várható arányok számítása egyre nehezebb, és az örökletesség mind kevésbé világos.

(*2*) *A jellegnek nem szabad átterjednie az ugyanolyan környezeti hatásoknak kitett nem rokon egyedekre.* Ez a kitétel segít kizárni a fertőzéseket, külső eredetű mérgezéseket, táplálkozási hiánybetegségeket és más eseteket, amelyek családi vagy helyi populációs halmozódást mutathatnak. Bár a fertőzések néhány típusa az öröklődést utánozhatja, pl. a szifilisz és néhány vírus betegség (AIDS) átadódhat az anyáról a magzatra a placentán keresztül.

Ezek a kritériumok szükségesek, de nem mindig elegendőek. További, rendszerint kevésbé erős, az örökletességet támogató adatok kellhetnek egyes helyzetekben:

(*3*) *A jelleg egy bizonyos, karakterisztikus életkorban jelenik meg, minden különösebb ezzel összefüggésbe hozható esemény nélkül.* Sok öröklődő jelleg már a születéskor is megvan, de ugyanez érvényes az újszülött genotípusával összefüggésben nem álló fejlődési rendellenességekre. Más öröklődő betegségek, mint pl. a Huntington-chorea, későbbi életkorban jelennek csak meg, bizonyos manifesztációs időpontbeli variációval. Bármiféle nyilvánvaló kiváltó körülmény hiánya arra utal, hogy inkább génműködés, semmint környezeti tényezők felelősek a betegségért.

(*4*) *A jelleg előfordulási gyakorisága különbözik elkülönült populációkban.* Az emberi reális populációk között sok allél gyakoriságában van különbség. Rasszok vagy etnikai csoportok sajátos tulajdonságai genetikai különbségeket *is* jelent*het*nek, de gyakran nehéz szétválasztani az örökletes és környezeti okokat.

(*5*) *Az egypetéjű ikrek gyakrabban egyeznek meg (**konkordáns**ak) a kérdéses jellegben, mint a kétpetéjű ikrek.* Továbbá, az örökbe fogadott gyermekek inkább hasonlítanak – a vizsgált jellegre nézve – biológiai szüleikre, mint nevelő szüleikre. Az iker vizsgálatok értelmezésének is van azonban néhány nehézsége (l. 9. fejezet).

(*6*) *Egy humán jelleg emlékeztet egy, a kísérleti vagy háziállatokban ismerten örökletes jellegre.* Sok hasznos ismeret származik olyan állatok kísérletes tanulmányozásából, amelyek az emberinek megfelelő örökletes betegségekben szenvednek.

DUNA

(Nem beszéltünk itt az általában erős érvet szolgáltató *molekuláris biológiai* adatokról. Ilyenek lehetnek pl. a *jellegekkel korreláló* RFLP mintázatok vagy szekvencia-specifikus oligonukleotid hibridizációs eredmények, és egyebek. Hasonlóan, az esetlegesen a jellegekkel asszociálható egyedi, ún. *markerekre* sem tértünk ki [l. 18. fejezet].)

KURU

Az öröklletesség hipotézise igazolásának nehézségeit jól példázza a ***kuru*** nevű neurológiai betegség esete. A kórkép jellegzetességei kielégítik az öröklletesség hipotézisének a fentiekben felsorolt kritériumai közül az első négyet. A nagy nehézséget annak megmagyarázása jelentette, hogy hogyan érhet el egy erőteljesen letális állél olyan nagy gyakoriságot.

Az első megfigyelés, amely nem genetikai okot hozott gyanúba, a kuru tüneteinek hasonlóságát állapította meg a juhok és kecskék egy „scrapie" nevű végzetes betegségével. A szarvasmarhák megfelelő betegsége az ún. ***kergemarha-kór (BSE,*** *Bovin spongioform encephalopathia)*. Ezek az állatbetegségek fertőzéssel átvihetők kísérleti emlősökre, egérre és hörcsögre is. A különös fertőző ágens a vizsgálatok szerint csak fehérjéből áll nukleinsav nélkül. Ezért ***prion*** lett a neve, hogy megkülönböztessék a vírusoktól. Nevezetes, hogy a prion fehérjét a gazda DNS-e kódolja, és normális, *nem fertőzött* sejtekben is megtalálható. Ha a prion fehérje egyedül felelős a tünetekért, miért nem kórokozó mindig, minden sejtben? Újabb elképzelés szerint a fertőző fehérje konformációja hibás, és képes a sejtek által termelt normális homológot is megváltoztatni.

A scrapie, a kergemarha-kór, a kuru és egy másik emberi betegség, a ***Creutzfeldt-Jakob kór*** hasonló a fertőzés progressziójában.

A kuru fertőző természetét a kuru áldozataiból vett agyszövetnek csimpánzokba oltásával erősítették meg. A különös nem és kor szerinti megoszlás okát a rituális kannibalizmus ceremóniájában találjuk.

DUPress

Összefoglalás

(*1*) Mendel gondosan megtervezett és kivitelezett keresztezési kísérletekkel megállapította, hogy a vizsgált élőlény minden örökletes tulajdonságát két öröklődő tényező (mai fogalmainkkal egy gén két allélje) határozza meg. A két azonos alléllel rendelkező élőlényt homozigótának, a két különbözővel rendelkezőt heterozigótának nevezzük. Azon allélt, amely heterozigóta formában is érvényre jut a fenotípusban, dominánsnak nevezzük. A recesszív viszont csak akkor nyilvánul meg fenotípusosan, ha domináns párja nincs jelen.

(*2*) A modern terminológia szerint Mendel első törvénye azt jelenti, hogy egy gén két allélje a gamétaképzés során elválik egymástól és véletlenszerűen vagy egyikük, vagy másikuk kerül egy-egy gamétába.

(*3*) A szétválás törvénye és a megtermékenyítés véletlenszerűsége bármely keresztezés esetén lehetővé teszi az utódok várható genotípus- és fenotípus-arányainak a megadását. A keresztezések várható eredményeinek meghatározására jól használható módszer a Punnett-tábla („sakktábla").

(*4*) Annak eldöntésére, hogy egy domináns fenotípusú egyed homozigóta vagy heterozigóta-e, a legalkalmasabb módszer a teszt-keresztezés homozigóta recesszív egyeddel.

(*5*) Emberben az Y kromoszóma felelős a hím nemi jellegek kialakulásáért. A férfiak nemi kromoszóma-összetétele: XY, míg a nőké XX.

(*6*) Az apa az X kromoszómáját leányainak, Y kromoszómáját fiainak adja tovább; az anya X kromoszómát ad mindkét nemű utódjának. A fiúgyermek X kromoszómáját anyjától, Y kromoszómáját apjától kapja; a leánygyermek egy X kromoszómát kap mindkét szülőtől.

(*7*) Az X-hez kötött gének a nők esetében éppen úgy, mint az autoszomális gének, lehetnek homozigóta és heterozigóta állapotban. A férfiaknak viszont csak egy X kromoszómájuk van, ezért az X-hez kötött géneknek csak egyetlen alléljét hordozhatják, melyeknek allélpárja az Y kromoszómán nincs, ezért ezt hemizigóta állapotnak nevezzük.

(*8*) Az X kromoszóma sok gént hordoz, amelyek döntő hányadának nincs kapcsolata a nemi fejlődéssel. A színtévesztést és a hemofíliát pl. X-hez kötött gének okozzák.

(*9*) Az X-hez kötött recesszív letális gének, melyek a magzati fejlődés idején fejtik ki hatásukat, spontán abortuszt okozhatnak és a nők javára megváltoztathatják a nemek arányát.

(*10*) Eddig csak néhány gént térképeztek az Y kromoszómára, és kevés emberi rendellenességről derült ki annak mitokondriális eredete.

(*11*) Egy génnek több mint kettő - többszörös - alléljei létezhetnek (Multiplex allélia). Ezek számát a megkülönböztethető fenotípussal járó kémiai változások – muta-

ciók – határozzák meg. Bár egy diploid egyedben csak két allél lehet minden génre nézve, a többszörös allélek a lehetséges genotípusok nagy száma miatt a populációs genetikai változatosság egyik alapját képezik.

(*12*) Az allélek viszonya leírásának módja a heterozigóta relatív fenotípusán alapszik. Hogy ez a viszony minek minősül, az a vizsgálat szintjétől és módszerétől függ. Ugyanazon két allél viszonyát többféleképpen is minősíthetjük.

(*13*) A valószínűség fogalma hasonló az intuitív „esély" vagy „gyakoriság" kifejezésekhez. A valószínűség 0-tól 1-ig terjedő értéket vehet fel.

(*14*) A valószínűségek kombinálódása a kérdés fajtájától és az események természetétől függ. Amikor *vagy* használatos az egymást kölcsönösen kizáró események leírásakor, a kombinált valószínűséget összeadással nyerhetjük. Amikor *és* használatos független eseményekre, az együttes valószínűséget szorzással kapjuk meg.

(*15*) A gaméták minden génnek csak egy alléljét tartalmazzák. Egy kettős heterozigóta egyedben a gametogenezis során négyféle gaméta keletkezhet. A négyféle gaméta közül kettő szülői genotípusú, kettő pedig új kombinációjú.

(*16*) Különböző kromoszómán lévő lokuszok esetében:

a. igaznak bizonyul Mendelnek, a gének független szétválását és újra kombinálódását leíró törvénye;

b. kettős heterozigóták esetében a gaméták 50%-a rekombináns (pontosabban: neokombináns) genotípusú;

c. az utódok lehetséges genotípusai meghatározhatóak a gaméta × gaméta (Punnett táblázat) vagy a gén × gén módszerek alkalmazásával;

d. a kromoszómák meiózis során mutatott viselkedése szolgál a Mendel törvények sejttani magyarázatául;

(*17*) A nem által befolyásolt gének különbözőképpen fejeződnek ki a két nemben a meglevő anatómiai és élettani különbségek talaján.

(*18*) Egy gén változó expresszivitása, beleértve a manifesztációs időpont variációit is, a genetikai háttér és a környezet eltéréseiből adódik.

(*19*) Egy gén inkomplett penetranciája a rá jellemző fenotípus kifejeződésének elmaradását jelenti. Ezt episztázis is okozhatja, ami a fenotípusnak egy nem-allélikus gén általi elfedése.

(*20*) A pleiotróp gén egy egyed fenotípusának különböző tulajdonságait befolyásolja.

(*21*) A genetikai heterogenitás közel ugyanazon fenotípusnak többféle genetikai okára utal. A fenokópia nem örökletes forma, amely örökletes jelleget utánoz.

(*22*) Az anyaggyűjtés indirekt módja torzításokat eredményez, ami speciális statisztikai módszerek alkalmazását igényli. Pl. a recesszív öröklődésre jellemző szokásos

3:1 arány nem a megfelelő várt érték, ha a heterozigóta szülőket a jelleghordozó gyermekeik alapján gyűjtjük össze.

(*23*) Egy jelleg valószínűleg örökletes, ha családi halmozottságú, és nem terjed nem rokon egyedekre ugyanolyan körülmények esetén, de ezen kitételek nem feltétlenül elegendőek egy genetikai hipotézis megalkotásához.

Kérdések

(*1*) McKusick a Mendelian Inheritance in Man címmel 1966-ban megjelent katalógusában 506 autoszomális és 68 X-hez kötött lokuszt azonosított, míg az 1988-as kiadásban 2069 autoszomális és 139 X-hez kötöttet. S bár az X kromoszóma fizikai hossza csupán 5,1%-át teszi ki a teljes haploid genomnak, az X-hez kötött lokuszoké 68/574-et vagyis 11,85%-ot képvisel az 1966-os adatok alapján, de csupán 139/2208-t vagyis 6,3%-ot az 1988-as adatok alapján.

Miért nagyobbak a százalékos értékek, mint az X kromoszóma hossza alapján várható érték, és miért mutat csökkenő tendenciát a különbség 1966 és 1988 között?

(*2*) A klasszikus albinizmus oka egy enzim hiánya, amely a melanin nevű pigment képzéséért felelős. Az enzim képzéséhez szükség van a *C* domináns allélre, így *C*– = normális pigmentációjú, míg a *cc* = albínó. Milyen utódok várhatók és milyen arányban, egy normálisan pigmentált asszony és egy albínó férfi házasságából, ha az asszony apja is albínó volt?

(*3*) Egy normálisan pigmentált asszony és albínó férjének 9 normálisan pigmentált és egy albínó gyermeke van. Milyen az anya leginkább valószínű genotípusa? Elképzelhető-e, hogy az anyának más a genotípusa?

(*4*) Egy normálisan pigmentált asszonynak és albínó férjének 10 normálisan pigmentált gyermeke van (és nincs egyetlen albínó sem közöttük). Milyen az anya leginkább valószínű genotípusa? Lehetséges-e, hogy mégis más a genotípusa?

(*5*) Tételezzük fel, hogy egy génnek két allélje van, *B* és *b*. (a) sorolja fel az összes olyan házasság-kombinációt (a szülők genotípusának magadásával), amelyekből heterozigóta gyermek származhat. (b) A felsorolásban szereplő házasságtípusok közül melyikből keletkezik a legnagyobb arányban heterozigóta utód?

(*6*) (a) Ismét a *B* és *b* alléleket figyelembevéve sorolja fel mindazokat a párosodási lehetőségeket, amelyekből az utód csak egyfajta genotípusú lehet. (b) Sorolja fel mindazon párosodási lehetőségeket, amelyekből az utód kétféle és csakis kétféle genotípusú lehet. (c) Melyik az a párosodás, amely egyik listán sem szerepel?

PUBLICS

(*7*) Tételezzük fel, hogy az Rh vércsoportot egy *D* gén határozza meg és így a *D–* = Rh pozitív (Rh^+) és a *dd* = Rh negatív (Rh^-) lesz. (A valóságos genetikai rendszer ennél sokkal bonyolultabb). Az Rh pozitívak vörösvértestjeinek a felszínén egy specifikus antigén található; az Rh negatívoknál ez hiányzik. Sorolja fel az összes lehetséges házasság-típust, melyekben mindkét szülő Rh pozitív (a reciprok jellegű párokat külön véve). Milyen utódok keletkeznek az egyes kombinációkból?

(*8*) Ritka autoszomális domináns gén által előidézett betegségek esetében lehetséges, hogy a homozigóta domináns formával nem is találkozunk sohasem. Ennek az is lehet az oka, hogy ez a genotípus a magzat fejlődésének korai szakaszában halált, azaz spontán abortuszt okoz (vagy megtermékenyítés után létre sem jön terhesség a zigóta fejlődésképtelensége miatt). Gondoljuk el a következő helyzetet: *QQ* meghal embrionális korban; *Qq* életképes és utódokat hoz létre, de ő maga a betegség által érintett; *qq* él és egészséges. Milyen a lehetséges genotípusa a *Qq* x *Qq* házasságból élve született gyerekeknek? Ezek között milyen arányban találhatók az egyes genotípusok?

(*9*) Az zöld színtévesztés génjére nézve a nőkben háromféle genotípus található: *GG*, *Gg* és *gg*, míg a férfiak csak kétféle genotípusúak lehetnek: *G*/**Y** és *g*/**Y**. A *G* a normális allél, amely domináns a zöld színtévesztést okozó *g* alléllal szemben. Sorolja fel az összes elvileg lehetséges házasság-kombinációt, amelyekben ez az X-hez kötött gén szerepel, megjelölve a szülők nemét is. Adja meg az egyes házasságok során várható utódok genotípusát. A fiúkat és lányokat külön csoportba sorolja.

(*10*) Melyik házasságból születik hordozó (konduktor) leány? Melyikből születnek kizárólag hordozó leányok?

(*11*) E házasságok melyikéből születhetnek zöld színtévesztő *és* normális színlátású fiúk? Milyen az anyák genotípusa e házasságokban?

(*12*) Milyen fenotípusú utódokat várunk egy zöld színtévesztő anya és normális színlátású apa házasságából? Adja meg az utódok nemét is.

(*13*) Egy házaspárnak zöld színtévesztő leánya és normális színlátású fia van. Melyek a szülői genotípusok?

(*14*) Ha egy férfi génjei maximumát szeretné továbbadni a jövő nemzedékeknek, akkor jár-e jobban, ha fiai, vagy ha leányai születnek? Miért?

(*15*) A négy nagyszülő egyikétől nem kaphattunk nemi kromoszómát. Melyik az a nagyszülő, aki szüleinken át nem juttathatott nekünk szex-kromoszómát? (A helyes felelet függ a válaszoló nemétől!)

(*16*) Sorolja fel módszeresen az öszes lehetséges genotípust a hemoglobin β lánc génje négy allélje (Hb^A, Hb^S, Hb^E *és* Hb^C) részvételével. Hány genotípus homozigóta? Hány heterozigóta?

(*17*) Tételezzük fel, hogy e_1 domináns az e_2 allél fölött, ami viszont domináns egy harmadik allél, az e_3 fölött. A három homozigóta fenotípusát nevezzük 1-es, 2-es és 3-as fenotípusnak. Milyen keresztezés eredményez

a) 3/4 1-es és 1/4 3-as fenotípust?

b) 3/4 2-es és 1/4 3-as fenotípust?

c) 1/2 1-es, 1/4 2-es és 1/4 3-as fenotípust?

(*18*) Két szülő heterozigóta az albinizmusra. Tegyük fel, öt gyerekük születik.

a) Mi a valószínűsége, hogy a gyerekek az alábbi fenotípusúak lesznek:

1. normálisan pigmentált, 2. albínó, 3. normális, 4. albínó, 5. normális?

b) Mi a valószínűsége, hogy mind az 5 normális legyen?

(*19*) Vázolja fel annak a normális fiúnak a családfáját, akinek normális szülei vannak és egy fiútestvére a recesszív Tay-Sachs betegségben halt meg. Mi a valószínűsége, hogy a fiú heterozigóta a betegségre (mielőtt biokémiai vizsgálatot végeznének)?

(*20*) Egy ***A*** és ***B*** géneket hordozó petesejt és egy ***a*** és ***b*** géneket hordozó spermium összeolvadásából keletkező zigótából kifejlődött felnőttnek milyen gamétái lehetnek és azok milyen arányban keletkeznek, ha a két lokusz különböző (nem-homológ) kromoszómán van?

(*21*) Egy nő heterozigóta az alábbi három, egymástól függetlenül öröklődő jellegre: brachydactylia (rövidujjúság); pituiter törpeség; és sarlósejtes vérszegénység. A genotípusa tehát: $Bb\ Dd\ Hb^A Hb^S$. Milyen gamétái lehetnek a nőnek és milyen azok aránya?

(*22*) A második feladatra adott válasz igaz-e akkor is, ha a másodrendű polocita (sarki test) genotípusára vagyunk kíváncsiak?

(*23*) Milyen képlet segítségével tudjuk kiszámolni egy *n* számú génre nézve heterozigóta egyén összes lehetséges gamétáinak a számát?

(*24*) Az Xg vércsoport antigének esetében az alábbi genotípus/fenotípus összefüggések találhatóak:

genotípus	fenotípus
Xg^a– *nő*	Xg(a+)
$Xg^a(Y)$ *férfi*	
$XgXg$ *nő*	Xg(a-)
$Xg(Y)$ *férfi*	

DUPress

Ha az AB0 vércsoportrendszert és az utódok nemét is figyelembe vesszük, akkor milyen fenotípusú utódok születhetnek, és mennyi ezeknek a valószínűsége egy családban, ahol az anya $I^A i\, Xg Xg$, az apa pedig $I^B i\, Xg^a Y$ genotípusú?

(*25*) Az alábbi három gén egymástól függetlenül öröklődik:

B: brachydactylia (rövidujjúság); ***b***: a normális fenotípussal járó recesszív allél

P: polydactylia (többujjúság); ***p***: a normális fenotípussal járó recesszív allél

S: syndactylia (összenőtt ujjak); ***s***: a normális fenotípussal járó recesszív allél

Egy családban a házastársak genotípusa:

Bb Pp Ss és **Bb Pp Ss**

(a) Melyik lehet a legvalószínűbb genotípus az utódokban és mennyi ennek a valószínűsége?

(b) Melyik lehet a legvalószínűbb fenotípus az utódokban és mennyi ennek a valószínűsége?

(c) Mekkora annak a valószínűsége, hogy a születendő gyermek ujjai egészségesek lesznek?

(*26*) Ha a férfias kopaszság tényleg autoszomálisan öröklődik, domináns a férfiakban (*B1–*) és recesszív a nőkben (*B1B1*), milyen a várható genotípusa és fenotípusa egy „kopasz" nő és egy nem kopasz férfi gyermekeinek?

(*27*) Összeegyeztethető-e a 2.12. ábra családfája az X-hez kötött recesszív öröklődés hipotézisével? Tegyük fel, hogy *b*(Y) = kopasz férfi, *B*(Y) = nem kopasz férfi, *bb* = kopasz nő, és *B–* = nem kopasz nő.

(*28*) A *B–* egér fekete, a *bb* pedig barna. Egy másik lokuszon *C–* színes és *cc* színtelen (albínó) fenotípussal jár. Az albínó genotípus episztatikus a *B* lokusz összes genotípusára. Milyen fenotípusú utódok, milyen arányban várhatók két kettős heterozigóta fekete egér keresztezésekor?

(*29*) Egérben a *d* (dilute) recesszív allél a *B* genotípusokkal az alábbi kölcsönhatásban áll:

B– D– = fekete *bb D–* = barna

B– dd = szürke *bb dd* = világos csokoládé színű

Milyen utódokat, milyen arányban várunk, egy (a *B, C* és *D* génre) hármas heterozigóta tesztelő keresztezéséből?

(*30*) Nyulakban három allél, a *C*, c^h és *c* az alábbi fenotípusokat adja:

CC vagy Cc^h vagy *Cc*	= teljes intenzitású szín
$c^h c^h$ vagy $c^h c$	= Himalája
cc	= albínó

Milyen a szülők genotípusa, ha egy alomban mindhárom fenotípus megtalálható?

(*31*) Emberben néhány családról, ahol mindkét szülő albínó volt leírták, hogy az összes gyerekük normális pigmentációjú lett. Olyan családok is ismertek, ahol mindkét

DUPress

szülő süketnéma, de minden gyerekük normális hallású. Milyen ésszerű magyarázatot adhatunk ezen esetekre? Tegyen javaslatot az albínó szülők és gyermekeik genotípusára!

(*32*) Milyen előfordulási mintázatot várunk egy családfán, ha egy ritka fenotípusú probandus jelentkezése (a) fenokópiának, (b) újonnan keletkező domináns letális mutációnak, (c) diagnosztikus hibának, (d) kromoszómális nondiszjunkciónak köszönhető?

Válaszok[12]

(*1*) Az ember nem lehet kísérletek alanya, mint a borsó vagy a gyümölcslégy, melyeket tetszés szerint lehet keresztezni genetikai vizsgálatok céljából, ezért emberen a genetikusok csak azokat az örökletes jellegeket vizsgálhatják, amelyek az érintetteken megjelentek. Ez az oka annak, hogy a könnyen felismerhető (pl. domináns és az X-hez kötött) jellegek közül többet, míg a ritkábban megnyilvánuló (pl. autoszomális recesszív) jellegek közül kevesebbet ismerünk. De ahogyan a humángenetika eszköztára fejlődött, a tudósok egyre több autoszomális jelleget írtak le, és ezáltal – az összes megismert lokuszok számához viszonyítva – csökkent az ismert X-hez kötött gének aránya. Génjeink térképéről hamarosan teljesen eltűnnek a fehér foltok.

(*2*) *Cc* ♀ x *cc* ♂, az utódok fele normálisan pigmentált (*Cc*) másik fele albínó (*cc*).

(*3*) Egy albínó gyermek megjelenése arra utal, hogy az anya heterozigóta (*Cc*). Másfajta genotípus nem lehetséges, hacsak egy *CC* genotípusú nőben a *C* gén mutációja *c*-vé nem következik be.

(*4*) Legvalószínűbb az, hogy az anya *CC* homozigóta, amikor is csak pigmentált gyermekek születnek. De lehet heterozigóta is (*Cc*), ilyenkor gyermekeinek várhatóan a fele albínó. Annak a valószínűsége, hogy egy heterozigóta 10 gyermeke közül egy se legyen albínó, kicsi, de korántsem nulla: $(3/4)^{10} = 0{,}056$. (Ez a helyzet pontosan analóg a Mendel által a magas F_2 nemzedék utódvizsgálatára alkalmazott módszerrel, amikor is 5% volt az esélye annak, hogy egy heterozigótát tévesen homozigótának tartsunk).

(*5*)

Bb x *BB*	az utódok 50%-a várhatóan *Bb*
Bb x *Bb*	az utódok 50%-a várhatóan *Bb*
Bb x *bb*	az utódok 50%-a várhatóan *Bb*
BB x *bb*	az utódok 100%-a várhatóan *Bb*

[12] A női nem jele: ♀, a hím nemé: ♂.

(*6*) (a) *BB* x *BB*, *BB* x *bb*, *bb* x *bb* (b) *Bb* x *BB*, *Bb* x *bb* (c) *Bb* x *Bb*

(*7*)

DD ♀ x *DD* ♂	mind *DD* (Rh^+)
DD ♀ x *Dd* ♂	1/2 *DD*, 1/2 *Dd* (mind Rh^+)
Dd ♀ x *DD* ♂	1/2 *DD*, 1/2 *Dd* (mind Rh^+)
Dd ♀ x *Dd* ♂	1/4 DD, 1/2 *Dd*, 1/4 *dd* (3/4 Rh^+, 1/4 Rh^-)

(*8*) 2/3 *Qq*, 1/3 *qq*

(*9*)

	Lányok	*Fiúk*
GG ♀ x *G*/Y♂	mind *GG*	mind *G*/Y
GG ♀ x g/Y♂	mind *Gg*	mind *G*/Y
Gg ♀ x *G*/Y♂	1/2 *GG*, 1/2 *Gg*	1/2 *G*/Y, 1/2 *g*/Y
Gg ♀ x g/Y♂	1/2 *Gg*, 1/2 *gg*	1/2 *G*/Y, 1/2 *g*/Y
gg ♀ x *G*/Y♂	mind *Gg*	mind *g*/Y
gg ♀ x g/Y♂	mind *gg*	mind *g*/Y

(*10*) Mindből, kivéve a 9. feladat megoldásában szereplő első és utolsó házasságtípust. Valamennyi lány akkor lesz hordozó, ha az anya homozigóta és az apa hemizigóta a másik allélre nézve (második és ötödik házasság-kombináció).

(*11*) Azokból, amelyekben az anya heterozigóta. A fiúk szempontjából az apa genotípusa érdektelen, ha X-hez kötött génekről van szó.

(*12*) *gg* ♀ x *G*/Y♂ Minden leány normális színlátású (de konduktor), valamennyi fiú zöld színtévesztő.

(*13*) *Gg* ♀ x *g*/Y♂

(*14*) Ha lányai születnek. A férfi a génekben gazdag X kromoszómáját a leányainak adja át, míg a génekben szegény Y kromoszómáját fiainak.

(*15*) Egy nő sohasem kaphat nemi kromoszómát apai nagyapjától, míg egy férfi nem kaphat X kromoszómát apai nagyanyjától.

PUPress

(*16*) Négy homozigóta és hat heterozigóta (csak az indexeket írva ki):

AA	AS	AE	AC
	SS	SE	SC
		EE	EC
			CC

(*17*) Csak az indexeket írva ki:
a) 1/3 · 1/3 b) 2/3 · 2/3 c) 1/3 · 2/3

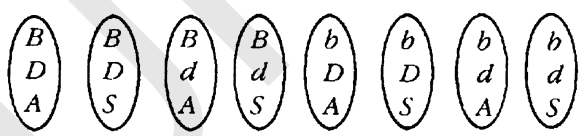
(*18*) a) $(3/4)^3 \cdot (1/4)^2 = 27/1024$
b) $(3/4)^5$

(*19*) 2/3

(*20*)

Gaméták (%)				Neokombináció
AB	ab	Ab	aB	százaléka
25	25	25	25	50

(*21*) Mivel a lokuszok független öröklődést mutatnak, minden alábbi gaméta azonos gyakoriságú (1/8). (A Hb gén esetében csak az indexben lévő jelet használjuk.) Az egymás alatti három-három gén található egy-egy gamétában.



(*22*) Igen. (De nem lenne igaz az elsőrendű polocita esetében.)

(*23*) 2^n. Minden további heterozigóta gén megduplázza a lehetséges gaméták számát.

(*24*) 1/8-1/8-nyi:

A,Xg(a+) nő	A,Xg(a-) férfi
AB,Xg(a+) nő	AB,Xg(a-) férfi
B,Xg(a+) nő	B,Xg(a-) férfi
0,Xg(a+) nő	0,Xg(a-) férfi

(*25*) (a) $P(B/b\ P/p\ S/s) = (1/2)^3 = 1/8$

DuPress

(b) P(mind a három domináns jelleg) = $(3/4)^3 = 27/64$

(c) P (b/b p/p s/s) = $(1/4)^3 = 1/64$

(*26*) Az összes fiú kopaszodni fog, de a lányok közül egy sem.

(*27*) Igen, kivéve a II-5 nőt. Neki az apjától *B* allélt kellett kapnia, és akkor nem lehetne kopasz. Ahogy azonban az ábra szövegéből kiderül, az illetőnek a kopaszságában környezeti tényezőknek is szerepe lehetett.

(*28*) Sakktábla vagy a gén × gén módszer alkalmazásával kijön, hogy

9/16 *B– C–*	= fekete
3/16 *bb C–*	= barna
3/16 *B– cc*	= albínó
1/16 *bbcc*	= albínó

Összesen tehát 9 fekete : 3 barna : 4 albínó.

(*29*) A gén × gén módszer alkalmazásával:

1/2 *– – cc – –*	= albínó
1/8 *Bb Cc Dd*	= fekete
1/8 *Bb Cc dd*	= szürke
1/8 *bb Cc Dd*	= barna
1/8 *bb Ccdd*	= világos csokoládé szín

(*30*) $Cc \times c^h c$

(*31*) A szülők az albinizmus ill. a süketnémaság különböző génjeire voltak homozigóta recesszívek. Pl. *CC ww* × *cc WW* szülők esetén az összes gyerek *Cc Ww* kettős heterozigóta, és így egészséges lesz.

(*32*) Mindegyik esetben sporadikus jellegű, mivel a rokonságban nem fordul elő.

DUPress

DUPress

3. FEJEZET

EXTRAKROMOSZOMÁLIS ÖRÖKLŐDÉS

A kloroplasztisz DNS által kódolt tulajdonságok öröklődése
A mitokondriális DNS által kódolt tulajdonságok öröklődése

Az eukarióta sejt jellemzője, hogy a sejtmagon kívül is találhatók fontos genetikai információk. Az extrakromoszomális DNS cirkuláris, sejtorganellumba zárt molekula. Két típusa különböztethető meg: az algák és zöld növények kloroplasztjának DNS-e, illetve a minden eukariótára jellemző mitokondriális DNS. Az extrakromoszomális öröklődés sajátossága, hogy meiózis során nem követi a Mendel törvényeket, az utód csak az egyik szülőtől örökli a mitkondriumot, illetve kloroplasztot és ezáltal az extrakromoszomális DNS-ük által meghatározott tulajdonságokat is.

A KLOROPLASZTISZ DNS ÁLTAL KÓDOLT TULAJDONSÁGOK ÖRÖKLŐDÉSE

A kloroplaszt DNS mérete 120 és 180 kbp között változik, teljes szekvenciája már nagyon sok fajban ismert. A növények számos tulajdonságának az öröklődését a kloroplaszt DNS-en lévő gének létezésével lehet értelmezni. Az uniparentális öröklődés menetét magasabbrendű növényekben a következő példán követhetjük nyomon.

A csodatölcsérnek (*Mirabilis jalapa*) van egy olyan változata, melyben ugyanazon a növényen három különböző ág- és levélszín különböztethető meg: egyes ágak és azon a levelek zöldek, mások pedig sárgák vagy variegálók. A variegáció ebben az esetben az jelenti, hogy a levelet és a szárat klorofillt tartalmazó zöld színű, illetve klorofillt nem termelő, a karotinoidtól sárga színű sejtek foltokban váltakozó kombinációban alkotják.

Mivel az utódsejtek az osztódást követően egymás közelében maradnak, a klorofillt tartalmazó és nem tartalmazó sejtek a szárnak, illetve a levélnek foltos megjelenést kölcsönöznek. Mindhárom ágtípus végén képződnek virágok, melyeket 9 lehetséges keresztezési kísérletben használva a Mendel szabályoknak ellentmondó eredményeket kapunk.

A levélszínt meghatározó gén a kloroplaszt DNS része, öröklődésének az az alapja, hogy növényekben az utódok minden kloroplasztja a női ivarsejtből származik, hiszen magasabbrendűekben a pollen nem tartalmaz ilyen sejtorganellumot. A variegáció a ***heteroplazmia*** jelenségén alapul. Ez azt jelenti, hogy a növény olyan embrióból fejlődik, melynek citoplazmájában az ép illetve mutáns gént hordozó kloroplasztok egyaránt jelen vannak. A sejtosztódás során a kloroplasztok szegregációja véletlenszerű: a zöld ágak klorofillt termelő sejtekből származnak, a sárga ágak a mutáns gént hordozó kloroplaszt tartalmú sejtekből, míg a variegálókban mindkét típusú kloroplaszt egyaránt jelen van. A zöld és sárga ágak esetén genetikailag azonos típusú kloroplasztok vannak jelen egy adott tulajdonságra nézve egy sejten belül, amit ***homoplazmiá***nak nevezünk a variegálókra jellemző heteroplazmia jelenségével szemben (3.1. táblázat).

3.1. táblázat. *A levélszín anyai öröklődése a csodatölcsérben*

A női virágot hordozó ág fenotípusa		A hím virágot hordozó ág fenotípusa	Az utódok fenotípusa
fehér	×	fehér	fehér
fehér	×	zöld	fehér
fehér	×	variegáló	fehér
zöld	×	fehér	zöld
zöld	×	zöld	zöld
zöld	×	variegáló	zöld
variegáló	×	fehér	variegáló, zöld vagy fehér
variegáló	×	zöld	variegáló, zöld vagy fehér
variegáló	×	variegáló	variegáló, zöld vagy fehér

DUPress

A MITOKONDRIÁLIS DNS ÁLTAL KÓDOLT TULAJDONSÁGOK ÖRÖKLŐDÉSE

A mitokondriális genom mérete a különböző fajokban rendkívül változatos, állatokban viszonylag kicsi, kevesebb, mint 20 kbp. A molekuláris genetikában mérföldkőnek számított a mitokondriumonként 1-10 példányban jelen lévő humán mtDNS 16596 bázispárból álló teljes szekvenciájának a meghatározása, mely 22 tRNS-t, 2 rRNS-t és 13 fehérjét ill. fehérje alegységet kódol. Az információ szerveződése a humán mitokondriális genomban figyelemreméltóan kompakt: a gének intronmentesek, az intergénikus szakaszok legtöbb esetben 3 bp-nál is rövidebbek, sőt van példa a gének átfedésére is, mikor is az egyik utolsó bázisa a következő első bázisa is egyben. Továbbá a DNS-en egyetlen promoter régió található, így a transzkripció eredményeként egyetlen óriás RNS molekula képződik. Ez a hatalmas transzkriptum speciális ribonukleázok meghatározott helyen történő hasításának eredményeképpen tRNS-ekre, rRNS-ekre és fehérjekódoló mRNS-ekre darabolódik.

A mitokondrium és a kloroplaszt mRNS-ei gyakran poszttranszkripciós módosításon mennek keresztül, ezt RNS editálásnak nevezzük. Például az afrikai álomkórt okozó protozoon (*Trypanosoma brucei*) mitokondriális mRNS-ébe a transzkripciót követően uridin épül be, ill. vágódik ki. A folyamatot ún. vezető RNS irányítja (l. 12. fejezet).

A mitokondriális DNS-el kapcsolatban említést érdemel még a prokarióta DNS-től és az eukarióta kromoszomális DNS-től eltérő kodonhasználata. (Az UGA kodon nem stop kodon, hanem triptofánt kódol; az AGA és AGG bázishármasok stop kodonok, nem pedig arginint kódolnak; az AUA pedig metionint jelent izoleucin helyett.) Bár a mitokondrium működéséhez szükséges fehérjék egy részét mitokondriális gének kódolják és a sejtorganellum saját riboszómáin szintetizálódnak, a legtöbb itt hasznosuló fehérjét kromoszomális gének kódolják és a citoplazmából kerülnek importra. Néhány mitokondriális enzim pedig ebből a szempontból hibridnek számít: kromoszomális és mitokondriális DNS eredetű alegységet egyaránt tartalmaznak, s a fehérjemolekulák a mitokondriumban kapcsolódnak össze.

A mtDNS sokkal gyorsabban replikálódik, mint a kromoszomális. Génjeiben a mutációk felhalmozódásának az aránya is jelentősen nagyobb. Mivel a mitokondriumban nincs javító rendszer, a mutációt hordozó mtDNS-ek hosszú távon felhalmozódnak a mitokondriumban. Ennek eredménye a fajon belüli nagymértékű polimorfizmus.

Sarjadzó élesztőben (*Saccharomyces cerevisiae*) a „petite" mutánsok glükóz tartalmú szilárd táptalajon nagyon kis átmérőjű telepeket képeznek. A fiziológiai vizsgálatok kimutatták, hogy a kolóniák növekedése zavartalan a glükóz erjedésével jellemezhető korai fázisban, aminek eredményeképpen etanol képződik. Az oxigén-igényes légzési lánc defektusa miatt azonban az etanol nem metabolizálódik tovább. A sejt ATP igényét így

csak az erjedés folyamatából tudja fedezni, ami nem elegendő a normális telepnövekedéshez. A „petite" mutációnak több típusa is van, ezek egy részében a mutáns fenotípust kromoszomális gén defektusa okozza, öröklődésük ebben az esetben a Mendel szabályokat követi. A többi esetben a mutáció mitokondriális géneket érint: „neutral petite" mutánst vad típusú haploid sejtekkel keresztezve minden diploid vad típusú aszkospórát (4:0 szegregációs arány a Mendeli 2:2 helyett) képez. Az utódokat „neutral petite" mutánsokkal visszakeresztezve ugyanezt az eredményt kapjuk. A hasadási arányok csak azzal magyarázhatóak, hogy az aszkospórába a vad típusú sejt mitokondriuma jut be.

Az alacsonyabbrendű eukariótáknál látható, hogy bár az utód mitokondriuma csak az egyik szülőtől származik, ez nem feltétlenül jelent anyai öröklődést. Magasabbrendű állatokban és így az emberben is, a mitokondrium anyai öröklődést mutat, hiszen a petesejtben igen sok mitokondrium van, míg a spermiumban nagyon kevés, de ezek sem kerülnek át megtermékenyüléskor a zigótába. A reciprok keresztezések eredménye tehát különböző anyai öröklődés esetén. Extrakromoszomális génben mutáns anya és normál apa minden utódjában megtalálható az adott mutáció, illetve az ez által okozott betegség, míg fordított esetben az utódok egészségesek lesznek.

A leszármazási kapcsolat az anyai nagyanyán keresztül elvileg visszavezethető a történelem előtti korokban élt ősanyáig. Mivel a mutációk felhalmozódása a mitkondriális génekben nagyobb arányú, mint a kromoszomális génekben, ezért a genetikusok a mitokondriális géneket fel tudják használni az ember evolúciójának kutatásában. Egy ilyen mitokondriális DNS vizsgálat szerint, melyet öt különböző népességből (afrikai, ázsiai, európai, ausztráliai és új-guineai) származó 147 emberrel végeztek el, azt a következtetést vonták le, hogy valamennyien egyetlen női egyedtől származnak, aki valószínűleg 200 000 évvel ezelőtt Afrikában élt. A tanulmányban vizsgált populációk – az afrikait kivéve – többes eredetűeknek bizonyultak.

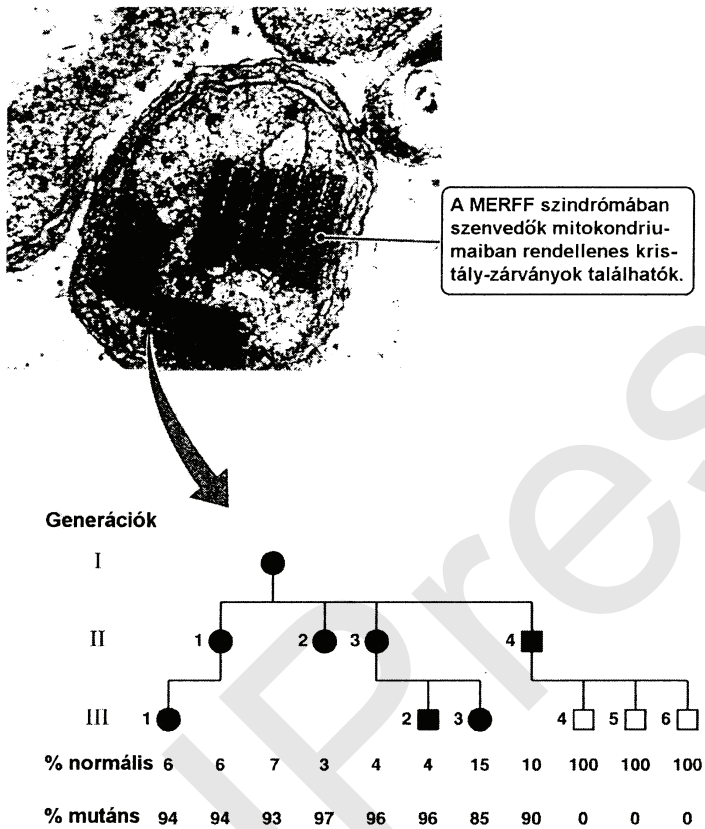
A mitokondriális DNS mutációi az oxidatív foszforiláció folyamatának zavarát okozzák, ami sokféle tünet, betegség kialakulásához vezethet. A defektusok elsősorban a nagy oxigénigényű szerveket, szöveteket (agy, gerincvelő, vázizom, szívizom, vese és máj) érintik. Mitokondriálisan öröklődő humán betegség például a központi idegrendszert és a vázizmot érintő MERRF (myoclonic epilepsy associated with ragged-red muscle fibers) szindróma (myoclonus epilepszia rongyos-vörös izomköteg szindrómával társulva). A betegség oka a mtDNS $tRNS^{Lys}$ génjében bekövetkezett nagyfokban pleiotróp mutáció, mely a mitokondriális DNS által kódolt valamennyi protein szintézisét befolyásolja. Az abnormális működésű és struktúrájú fehérje aggregátumokból kristály zárványok képződnek. Normál mitkondrium hiányában a szindróma letális. Az 3.1. ábra a MERRF szindróma öröklődését mutatja a családtagokban a mutáns és normál mitkondriumok arányát jelezve, ami változó expresszivitáshoz vezet. Genetikailag különböző típusú mitokondriumok együttes jelenlétét egy sejten belül, mint már említettük, ***heteroplazmiá***nak

nevezzük. A betegség jellemző tünetei, melyek természetesen nem együttesen jelentkeznek: süketség, agyvérzés, fáradtság, epilepszia, remegés, akaratlan mozgás.

A betegségcsoportok közül említést érdemel még az izomgyengeséggel vagy izomsorvadással, ill. mindkettő meglétével jellemezhető mitokondriális myopathia és a látást érintő Leber-féle örökletes opticus neuropathia. Az utóbbi betegségcsoport oka a mitokondrium membránjában lévő ATP-szintetáz mutációja. A defektust egy missense mutáció okozza, azaz egyetlen aminosav változik meg az enzimfehérjében egy nukleotid kicserélődése miatt. Tapasztalat szerint a mtDNS mutációival kapcsolatos betegségek az életkor előrehaladtával fokozatosan nyilvánulnak meg és lesznek egyre súlyosabbak.

Mindazon öröklődési formákat tehát, melyek nem követik a Mendel szabályokat és a sejtmagon kívüli sejtorganellumban elhelyezkedő génekre vezethetők vissza, ***extrakromoszomális*** vagy ***extranukleáris öröklődés***nek nevezzük, s ez az esetek túlnyomó többségében, magasabbrendűekben pedig kizárólag anyai átvitelt jelent.[1] Az ***anyai (maternális) öröklődés*** semmiképpen nem tévesztendő össze az anyai hatással (l. 8 fejezet) és az anyai „imprinting"-gel (l. 11. és 16. fejezet).

[1] Különböző fajokat tekintve az extrakromoszomális információ bármelyik szülőtől származhat, ezért nevezik általában az extrakromoszomális öröklődést ***uniparentális öröklődés***nek is.



3.1. ábra *MERRF szindróma öröklődése.* (A) Parakristály zárványokat tartalmazó abnormális mitokondrium elektronmikroszkópos felvétele. (B) A MERRF szindróma öröklődése egy családban, a normál és mutáns mitokondriumok százalékos megoszlásával minden, az ábrán feltüntetett személy esetében.

DUPress

Összefoglalás

(*1*) Az eukarióta növényi sejtekre jellemző kloroplaszt, illetve a növényi és állati sejtekben egyaránt megtalálható mitokondrium DNS-ének génjei nincsenek jelen a kromoszomális DNS-ben. Az általuk meghatározott tulajdonságok nem a Mendel törvények szerint öröklődnek, hanem ún. ***extrakromoszomális öröklődés***t mutatnak.

(*2*) Magasabbrendű növényekben a pollen nem tartalmaz kloroplasztot, így például a csodatölcsér esetében ismertetett levélszín fenotípusát a női ivarsejt citoplazmájában az ép és a mutáns gént hordozó kloroplasztok külön-külön (***homoplazmia***) való, illetve együttes (***heteroplazmia***) előfordulása határozza meg.

(*3*) Alacsonyabbrendű eukariótákban, pl. sarjadzó élesztőben, a mitokondrium öröklődése nem feltétlenül jelent anyai öröklődést. Magasabbrendűekben, így az emberben is, az utód mitokondriuma azonban kizárólag a petesejtből származik.

(*4*) A humán mitokondriális DNS típusokból hipotetikus filogenetikai fa készíthető. A mitkondriumban történt mutáció alapján levezethető közös ős, az ún. mitokondriális Éva, kb. 200 000 évvel ezelőtt Afrikában élt.

(*5*) A mitokondriális DNS mutációján alapuló betegségek az oxidatív foszforiláció zavarára vezethetőek vissza. Az expresszivitás mértéke a mutáns és normál mitokondriumok arányától függ.

Kérdések

(*1*) Feltételezve, hogy a kloroplaszt duplikációja és szegregációja random módon történik a sejtosztódás során, mi a valószínűsége annak, hogy egy egyszeres mutációt hordozó kloroplaszt mindkét kópiája a mitózis során ugyanabba az utódsejtbe fog kerülni? Két osztódást követően mi a valószínűsége annak, hogy legalább egy utódsejtből hiányozzon a mutáns kloroplaszt?

(*2*) Az evolúció során sok, eredetileg mitokondriális gén a sejtmag DNS állományába került át. Ha napjainkban humán mitokondriális DNS szekvencia helyeződne át a sejtmagba és sikeresen transzlálódna, mely kodonok használatának kiküszöbölése lenne szükséges?

(*3*) A csodatölcsér levélszíne anyai öröklődésű. Az alábbi keresztezés esetén: zöld levelű ♀ fehér levelű ♂, az F2 nemzedék miben különbözik attól az F2 nemzedéktől, amit abban az esetben kapnánk, ha a levélszín X-hez kötött öröklődést mutatna?

DUPress

(*4*) A mitokondriális gének mutációin alapuló betegségek miért mutatnak olyan nagy variabilitást az érintettek körében?

Válaszok

(*1*) Feltételezve, hogy a kloroplasztok osztódásukat követően random módon szegregálódnak, az esetek felében mindkét utód kloroplaszt a mitózis során a sejt azonos pólusára kerül. Két osztódást követően annak a valószínűsége, hogy 4 utódsejtből 3 tartalmazza a mutáns kloroplasztot $(1/2)^3 = 1/8$. Ezért annak a valószínűsége, hogy legalább egy utódsejtből hiányozzon 1-1/8 = 7/8.

(*2*) A sejtmagban UGA nem lenne használható triptofán kódolására, ugyanez vonatkozik a mitokondriumban metionint kódoló AUA bázishármasra is. Annak érdekében, hogy az eredeti hosszúságú polipeptidet kapjuk, sem AGA, sem AGG nem lenne használható terminációra, egyébként a citoplazmában argininként kerülnének transzlációra, így hosszabb polipeptidlánc szintetizálódna.

(*3*) X-hez kötött öröklődés esetén a hím ivarú növények fele (az összes utód ¼-e) fehér levelű lenne. Az anyai öröklődésnek megfelelően azonban minden utód levélszíne zöld.

(*4*) A betegség súlyossága függ a mutációt hordozó és normál mitokondriumok arányától, ami minden érintettben más és más.

DUPress

4. FEJEZET

NEM-ALLÉLIKUS GÉNEK REKOMBINÁCIÓJA, GENETIKAI TÉRKÉPEZÉS

Azonos kromoszómán található gének; crossing over

Gének távolsága meghatározható a közöttük előforduló rekombináció gyakorisága alapján

A gének genetikai távolsága nem mindig arányos a közöttük lévő fizikai távolsággal

Kapcsoltság, genetikai térképezés emberben

Kapcsoltsági vizsgálatok családfa analízis segítségével

Kapcsoltsági egyensúly

További gondolatok

A géntérképezés jelentősége

A gének genetikai távolságán és lokalizációján alapuló géntérkép és az evolúció

DUPress

Azonos kromoszómán található gének; crossing over

A hasadás és a független kombinálódás mendeli elmélete összhangban van a gének kromoszómán való elhelyezkedésével és a kromoszómáknak a meiózis folyamán mutatott viselkedésével. Megállapíthatjuk, hogy a függetlenül öröklődő gének különböző homológ kromoszómákon vannak. Az 1900-as évek elején végzett genetikai vizsgálatok egy része azonban érdekes eredményeket mutatott. Morgan felismerte, hogy a *Drosophila*nak több génje van, mint ahány kromoszómája. Ennek egyenes következménye, hogy a független öröklődés nem lehet érvényes az azonos kromoszómákon található gének esetében. Szintén a múlt század első évtizedében, éppen Mendel eredményeinek újra felfedezése után, egyes kutatók kísérleti eredményei eltéréseket mutattak a mendeli arányoktól.

W. Bateson és R. C. Punnett a szagos bükköny egyes fenotípusos jellegeinek öröklődésmenetét tanulmányozta. Két gén együttes öröklődését vizsgálták, az egyik a virágszínéért felelős gén (*P*- lila szín, *pp* piros szín), a másik pedig a pollen domináns hosszúkás (*L*-) és recesszív kerek (*ll*) alakjáért felelős gén volt. A *PPLL* és *ppll* genotípusú, homozigóta szülők keresztezéséből származó *PpLl* heterozigóta F_1 nemzedék egyedeit keresztezve önbeporzással, a következő F_2 nemzedéket kapták:

Hosszú, lila	4831 egyed
Kerek, lila	390 egyed
Hosszú, piros	393 egyed
Kerek, piros	1338 egyed

A várt 9:3:3:1 aránytól lényegesen eltért az F_2 (generáció) fenotípusos összetétele. Sokkal több a szülői fenotípusnak megfelelő egyedet tartalmazott ez a generáció, mint egyszeresen domináns, azaz nem szülői fenotípusúakat. A már ismert episztatikus arányoknak sem felelt meg ez az összetétel, ráadásul a két gén nagyon eltérő fenotípusokat kódolt, nem úgy, mint az episztatikus keresztezésekben.

Bateson és Punnett feltételezték, hogy az F_1 generáció egyedei sokkal több *PL* és *pl* genotípusú gamétát hoztak létre, mint amennyinek a szabad kombinálódás elvének megfelelően keletkeznie kellett volna. Mivel ezek a gaméták pontosan a homozigóta szülők gamétáinak feleltek meg, a kutatók feltételezték, hogy valamiféle fizikai kapcsolat, ***kapcsoltság*** van a *P* és *L* allélek, ill. a *p* és *l* allélek között, ami megakadályozza a független kombinálódásukat. (Azt a jelenséget pedig, hogy az egyik gén domináns és a másik gén recesszív alléljeinek kombinációja feltűnően kis számban fordul elő az F_2 nemzedékben, a domináns és recesszív allélek egyfajta veleszületett negatív kölcsönhatásának tulajdonították. Mára ez az elképzelésük idejétmúlttá vált.)

*Drosophilá*val végzett kísérletei során nagyon hasonló eredményeket kapott Morgan is. Ő is két gén öröklődését vizsgálta, az egyik a szemszínért felelős gén (domináns allélje a piros szemet létrehozó pr^+ allél; a recesszív *pr* allél bíbor szemet hoz létre), és a szárny fejlődéséért felelős gén (a vg^+ domináns allél a normál szárnyért, a recesszív *vg* allél rövid szárnyért felelős).[1] Kettős heterozigóta $pr^+ pr$, $vg^+ vg$ egyedeket tesztelő keresztezésnek vetett alá és a következő eredményt kapta:

FENOTÍPUS	GENOTÍPUS	EGYEDSZÁM
piros szem, normál szárny	pr^+, *pr*, vg^+, *vg*	1339 egyed
bíbor szem, rövid szárny	*pr*, *pr*, *vg*, *vg*	1195 egyed
piros szem, rövid szárny	pr^+, *pr*, *vg*, *vg*	151 egyed
bíbor szem, normál szárny	*pr*, *pr*, vg^+, *vg*	154 egyed

A tesztelő keresztezés használata rendkívül fontos az ilyen esetek vizsgálatakor. Figyeljük meg, hogy az egyik szülő csak recesszív alléleket örökít, ezért a következő generáció egyedeinek fenotípusa egyértelműen felismerhetővé teszi a másik – kettős heterozigóta – szülő hozzájárulását a generáció genotípusához. Nyilvánvaló, hogy a fenti megoszlás lényegesen eltér a független öröklődés esetén várható 1:1:1:1 fenotípus aránytól. A két szülői fenotípus – piros szem és normál szárny valamint bíbor szem és rövid szárny – közel azonos számban szerepeltek, míg a két nem szülői kombináció is egyenlő arányban jelent meg, csak sokkal kisebb számban, mint a szülői fenotípusok. A tesztelő keresztezés segít megérteni ezt a jelenséget, hiszen nyilvánvalóvá teszi azt, hogy az F_1 kettős heterozigóta egyedeinek gamétái milyen allélkombinációkat tartalmaztak.

Végül is maga Morgan adta meg a megfelelő magyarázatot. Véleménye szerint ezek az esetek az örökítő faktorok kromoszómákon való elhelyezkedésének egyszerű, mechanikus következményei. Más megfogalmazásban: fel kell tételezni, hogy a vizsgált tulaj-

[1] Vegyük észre, hogy a domináns és recesszív alléleket többféleképpen jelölik. Az általában szokásos nagy- és kis betűs szimbólumok mellett – pl. a *Drosophila* kísérletekben is – +-al jelölik a domináns allélt, ebben az esetben a recesszív allélnek nincs egyéb jelölése.

donságokat kódoló gének azonos kromoszómán vannak és ezek a gének együtt maradnak, amíg az őket hordozó kromoszóma fizikailag ép marad. Az azonos kromoszómán elhelyezkedő gének kapcsoltak, más szóval egy ***kapcsolódási csoport***ba (*linkage group*) tartoznak. Azonban a kromoszómák a meiózis során nem mindig maradnak változatlanok, néhány esetben rekombinációra kerülhet sor a homológ kromoszómák között. A fenti keresztezést elemezve megállapíthatjuk, hogy a kettős heterozigóta szülő genotípusa $pr^+,vg^+/pr,vg$ volt, ezért azt várjuk, hogy gamétái pr^+,vg^+ és pr,vg genotípusúak lesznek. A rekombináció következtében azonban vannak az ivarsejtek között pr^+, *vg és pr,* vg^+ alléleket hordozó, nem szülői típusok is. Ezeket a gamétákat ***rekombináns gaméták***nak nevezzük. Morgan még azt is igazolta, hogy a rekombináció a replikáció után, a meiózis folyamán történik.

Morgant a kísérletes megfigyelések vezették el a helyes magyarázathoz. Ebben az időben a meiózis I-ben kialakuló ***tetrádok***at (a két homológ 2-2 testvérkromatidjából álló képlet) mikroszkóppal tanulmányozva azok kromatidjai között viszonylag gyakran előforduló átkereszteződéseket, ún. ***kiazmák***at figyeltek meg (4.1. ábra), és ezek jelenlétét a citológusok a legkülönbözőbb fajok meiózis I-ben levő megfestett sejtjeiben kimutatták. Ember esetében a petesejt meiózisa természetesen nem hozzáférhető a tetrádok tanulmányozására. Az emberi spermiogenezis vizsgálata során viszont tetrádonként 1-4 (néha 5, még ritkábban 6) – átlagosan 2 – kiazma jelenlétét mutatták ki.

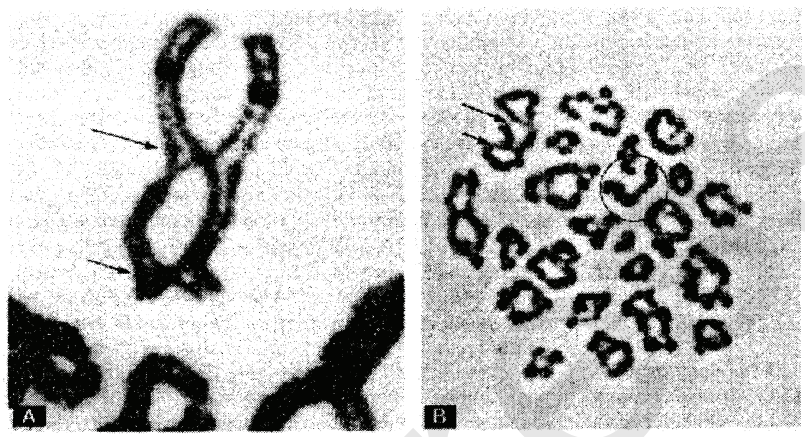
A kiazmák léte minden élőlény esetében azt jelenti, hogy a tetrádban két homológ kromatid „eltört" és átkereszteződve újra összekapcsolódott, amint ez a 4.1. ábrán is látható. A homológ kromoszómák fizikailag identikus, de nem teljesen azonos információtartalmú darabjainak kicserélődését ***crossing over***nek, átkereszteződésnek nevezik. Ez az átkereszteződés viszonylag gyakran előforduló természetes folyamat. A meiózis I. profázisának pachitén szakaszában játszódik le (1. fejezet). A modern genetika eredményei egyértelműen igazolták a genetikusok elképzeléseit, az átkereszteződés folyamatainak részleteit ma már molekuláris szinten ismerjük (13. fejezet).

GÉNEK TÁVOLSÁGA MEGHATÁROZHATÓ A KÖZÖTTÜK ELŐFORDULÓ REKOMBINÁCIÓ GYAKORISÁGA ALAPJÁN

Elvileg a genetikai térképezés – azaz a gének távolságának és sorrendjének meghatározása egy kromoszómán – ugyanúgy végezhető el bármely szexuálisan szaporodó élőlényben. A cél az, hogy meghatározzuk az azonos kromoszómán található két gén között előforduló rekombináció gyakoriságát. Vegyünk példának egy kettős heterozigóta *AB/ab* genotípusú egyedet. Tételezzük fel, hogy az *A* és *B* alléleket az egyik szülőtől, az *a*

DUPLICATE

és *b* alléleket pedig az ab/ab genotípusú másik szülőtől örökölte az illető. Azokat az utódokat, akik a szülői allélkombinációktól (*AB* és *ab*) eltérő kombinációt örököltek (*Ab* és *aB*) rekombinánsoknak nevezzük. A rekombináns utódok gyakorisága megegyezik a két lokusz között előforduló rekombináció gyakoriságával.



4.1. ábra. *Kiazmák mikrofotói.* Az első meiotikus osztódás profázisának késői szakaszában láthatóak ezek a képződmények (a nyilak mutatnak egyes kiazmákra), amikor a homológ párok tagjai kezdenek elválni egymástól. (A) Spermiogenezis szalamandrában. (B) Férfi spermiogenezise. A kör a végükkel összekapcsolódott X és Y kromoszómapárt emeli ki.

Ha a kettős heterozigótákban két gén különböző kromoszómán helyezkedik el, akkor a meiózis során független hasadás jellemző rájuk. Ebben az esetben egy kettős heterozigóta genotípusú egyed gamétáira az jellemző, hogy az A allél mellett ugyanúgy 50%-os valószínűséggel lehet jelen a *B* mint a *b* allél (neokombináció!). Azaz, általánosságban az utódok 50%-a lesz szülői típusú nem-rekombináns és 50%-a lesz a szülői típustól eltérő neokombináns (***rekombináns***) genotípusú. Az új kombináció gyakorisága tehát 0,5.

Ha két lokusz ***szintenikus***, azaz ugyanazon a kromoszómán található, akkor azt várjuk, hogy a meiózis során a két lokuszon lévő allélek együtt maradnak, nem hasadnak, nincs közöttük rekombináció. Ez a feltételezés azonban nem veszi figyelembe a meiotikus rekombinációt, az átkereszteződést. A meiózis I. profázisa korai szakaszában a homológ kromoszómák összekapcsolódnak (*szinapszis* képzés) és közöttük DNS kicserélődés történik. A crossing over következményeként, ha az pontosan a két lokusz között következett be, olyan rekombináns kromatidok keletkeznek, amelyek az *Ab* és *aB* allélkombinációkat hordozzák. Mint már fentebb említettük, a meiózis I profázisában, amikor a

kiazmák láthatóvá válnak, a két összekapcsolódott homológ kromoszóma (bivalens) összesen négy kromatidot tartalmaz (***tetrád***). Egy átkereszteződésben csak két homológ (nem-testvér) kromatid vesz részt, meghagyva két nem-rekombináns kromatidot, azaz a kromatidok (és majd a meiózis II végén keletkező haploid gaméták) 50%-a rekombináns.

A rekombináció ritkán választ el egymástól két allélt amelyeknek lokuszai nagyon közel vannak a kromoszómán, mert az átkereszteződés viszonylag ritka esemény és csak a két lokusz között bekövetkező átkereszteződés hoz létre rekombináns kromatidokat. Ezért a kromoszóma egy darabján, szorosan egymás mellett elhelyezkedő allélek együtt, egységes blokként öröklődnek. Ezt nevezzük ***haplotípusnak***. A haplotípusok tehát genotípusosan leírnak olyan kromoszóma részeket, amelyeknek nemzedékről nemzedékre történő átöröklődése jól követhető, pl. családfákon, sőt akár nagyobb populációkban is.

Minél messzebb van két lokusz egymástól a kromoszómán annál nagyobb a valószínűsége, hogy átkereszteződés következzen be közöttük. Ez azt jelenti, hogy a két lokusz távolságának függvényében változik a rekombináció bekövetkezésének a gyakorisága. Más szavakkal, a rekombináció gyakorisága a két lokusz közötti *genetikai távolságot* adja meg, ami nem azonos a gének fizikai távolságával. Ha két lokusz között a ***rekombináció gyakorisága 1%, akkor genetikai távolságuk 1 centimorgan (cM)*** a kromoszóma genetikai térképén. De már 5 cM-ra lévő lokuszok esetében sem lehet a genetikai távolságot pontosan meghatározni egyszerűen a két lokusz között fellépő rekombináció gyakoriságának meghatározásával (mert ezt torzíthatják a többszörös átkereszteződések is). Ilyen esetekben a több lokuszt érintő, ún. multilokuszos térképezéssel lehet a pontos távolságot megállapítani. Ebben az esetben párosával meghatározzák a lokuszok távolságát, majd összeadják a sorrendben egymást követő lokuszok távolságát és így kapják meg a teljes genetikai távolságot.

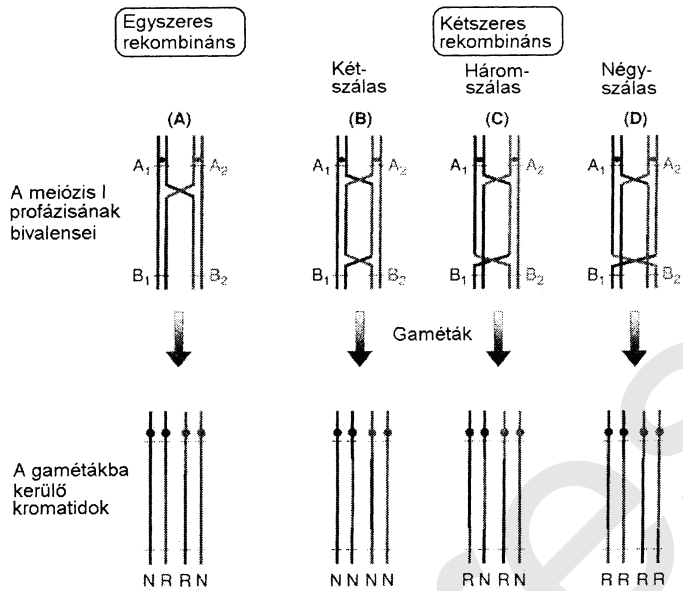
A bivalensekben egy átkereszteződés két rekombináns és két nem rekombináns kromatidot hoz létre. Azonban egymástól messze található lokuszok esetén akár egynél több átkereszteződés is kialakulhat közöttük. A kettős átkereszteződés kettő-, három- vagy négy kromatidot érinthet, de amint az a 4.2. ábrából következik, nagyszámú meiózis estén hatásuk kiegyenlítődik, azaz a rekombináns kromatidok gyakorisága ismét csak 50%. A kromatid két végén található lokuszok között akár három, négy vagy öt crossing over is kialakulhat, de ezek együttes hatására is csak 50% lesz a rekombináció gyakorisága. Összefoglalva: két lokusz között *elvileg 50 cM a legnagyobb térképezhető* genetikai távolság.[2]

---

[2] Pontosabb térképezést tesz lehetővé a több lokuszt egyszerre figyelembe vevő multilokuszos térképezés. Ebben az esetben a rekombinációs gyakoriság és a genetikai távolság közötti összefüggést az ún. ***térképezési funkció*** adja meg, ami a következőképpen számolható:

$$\omega = -1/2\, ln(1-2\theta)$$

ahol ω a térképtávolság és θ a rekombináció gyakorisága két lokusz között.



4.2. ábra. *Egyszeres és kétszeres rekombináció következménye.* Mindegyik átkereszteződés az összekapcsolódott homológ kromoszómák egy-egy kromatidját érinti. Az N a nem-rekombináns (szülői típusú) kromatidokat jelöli, az R pedig a rekombináns kromatidokat.

A) Egyszeres átkereszteződés két N és két R kromatidot eredményez.

B) A két kromatidot érintő kettős átkereszteződés következtében csak N kromatidok keletkeznek.

C) A három kromatidot érintő kettős átkereszteződés eredményeként két-két N és R kromatid keletkezik.

D) A négy kromatidot érintő kettős átkereszteződés csak R kromatidok keletkezéséhez vezet.

Mivel a három különböző típusú kettős átkereszteződés azonos valószínűséggel következik be, kiátlagolódik a hatásuk. Ezért végeredményben nagy számú meiózis estén két lokusz között bekövetkező kettős átkereszteződések 50% nem-rekombináns és 50% rekombináns gaméta kialakulásához vezetnek.

Az eddigi gondolatmenetünk azon az egyszerűsítésen alapult, hogy az átkereszteződés helye véletlenszerűen alakul ki és a kromoszóma bármely pontján azonos valószínűséggel jöhet létre átkereszteződés. Ma már tudjuk, hogy ez nem így van, egy kiazma kialakulása gátolja azt, hogy a közelében egy újabb létrejöjjön. Ez az ***interferencia*** jelensége, amelyet kísérletesen is igazoltak már *Drosophila*ban. Ha kiszámoljuk két gén közötti megfigyelt és a várt rekombinációs gyakoriságok hányadosát és ezt az értéket

kivonjuk 1-ből akkor kiszámolhatjuk az interferenciát és megtudjuk, hogy miként befolyásolja az egyik crossing over kialakulása a másikét. 0-hoz közeli érték azt jelenti, hogy nincs interferencia, vagyis a rekombinációs események függetlenek egymástól. Nagyon szorosan kapcsolt gének esetében az interferencia értéke megközelítheti az 1-et, vagyis a crossing over kialakulása erősen gátolja egy második, közeli crossing over kialakulását.

Genetikai kísérletekben a rekombináció gyakoriságát a tesztelő, vagy más keresztezésekben megjelenő rekombináns fenotípusú utódok arányával mérhetjük. A *Drosophila*ra vonatkozó fenti példánk esetében 2839 utódból 151 + 154 = 305 egyed volt rekombináns, így a rekombináció gyakorisága 305/2839 = 0,107, vagyis az utódok 10,7%-a rekombináns, ezért 10,7 cM a lokuszok közötti genetikai távolság. [3]

A GÉNEK GENETIKAI TÁVOLSÁGA NEM MINDIG ARÁNYOS A KÖZÖTTÜK LÉVŐ FIZIKAI TÁVOLSÁGGAL

A férfiak meiózisa során sejtenként átlagosan 49 kiazma figyelhető meg. Mint azt a korábbiakban láttuk, két gén között bekövetkező egyetlen átkereszteződés eredményeként az utódok között 50% lesz a rekombináció gyakorisága (az ebből számított távolság a gének között 50 cM), a férfiak ivarsejt képzése során látható **kiazmák számából számítva** a férfiak genetikai térképén a genom teljes genetikai hossza 2450 cM. Nők meiózisa során a kiazmák gyakoribbak, ezért a számukból számított genom hossz 4481 cM. Ezekből az adatokból úgy tűnik, hogy a ~3000 megabázis (Mbp) méretű humán genom esetén férfiakban 1 cM genetikai távolság átlagosan 1,13 Mbp-nak - míg nőkben 1 cM 0,67 Mbp-nak felel meg, átlagosan tehát 1 cM 0,9 Mbp genom méretnek felel meg. Ezek azonban csak nagyon közelítő értékek, a valóságban 1 cM-nyi genetikai távolság kromoszóma részletenként más és más fizikai távolságnak felel meg. A legextrémebb eltérések az X és Y ivari kromoszómák rövid karjának végén található pszeudoautoszomális régiójában látszanak.[4] Férfiakban a meiózis során kötelezően kialakul egy átkereszteződés ezen a 2,6 Mbp-nyi szakaszon, ezért ez 50 cM hosszúnak mutatkozik. Ez azt jelenti, férfiakban ezen a szakaszon 1 Mbp = 19 cM, a nők pszeudoautoszomális régiójában viszont 1 Mbp = 2,7 cM.

---

[3] A. Sturtevant, Morgan egyik tanítványa volt az első aki feltételezte, hogy a rekombinációs adatok felhasználhatóak a gének fizikai kapcsolatának, lineáris sorrendjének és távolságuknak a leírására, azaz elkészíthető a gének kapcsoltsági vagy ***genetikai térképe***.

[4] Pszeudoautoszomális régió = az a rövid szakasz az X és Y kromoszómában, mely területen ezek homológjai egymásnak, míg hosszuk nagyobb hányadában az ivari kromoszómák nem homológok (l. 8. fejezet). A pszeudoautoszomális régióban lejátszódó crossing overt az X és Y vég a véghez párosodása teszi lehetővé (4.1. ábra).

Általában megállapítható, hogy a kromoszómák telomerje közelében gyakoribbak az átkereszteződések, mint a centromer környékén, főleg férfiakban. Vannak olyan extrém esetek is, például a *Drosophila* hímekben, hogy a meiózis során egyáltalán nincs rekombináció.

Kapcsoltság, genetikai térképezés emberben

Mivel a kutatókat és orvosokat inkább a gének mint az intergénikus, nem-kódoló DNS szakaszok érdeklik, a genetikai térképezés célja a gének helyzetének és sorrendjének meghatározása. Genetikai térképek készítése viszonylag könnyen lehetséges pl. *Drosophila*, élesztő vagy akár az egér esetében is. Az ember esetében természetesen nem lehetségesek előre eltervezett kísérletek, a családfa analízis volt az egyetlen használható módszer genetikai vizsgálatokra. Azonban nagyon ritkák azok az informatív családok, ahol akárcsak két betegség öröklődése követhető, és ha még vannak is ilyenek, többnyire nagyon kevés utód születik a családban. Emiatt a modern molekuláris módszerek bevezetéséig nagyon nehéz volt a humán genomban a kapcsoltsági viszonyokat és a gének közötti távolságot kideríteni. Kivételnek az X kromoszómán lévő gének számítottak (de az X kromoszómára is csak kevés gént sikerült a hagyományos rekombinációs analízissel rátérképezni). Ennek az volt az oka, hogy az X kromoszómán öröklődő géneket könnyebb analizálni, mint az autoszómán lévőket. Miután a Y kromoszómáról hiányoznak a homológ lokuszok, a férfiak egyetlen X kromoszómáján lévő minden gén – a recesszív allélek is – mindenképpen kifejeződnek a fenotípusban. Ezen kívül pedig a nők két X kromoszómájának pontos genetikai összetétele általában megállapítható apjának és fiainak fenotípusából.

Csak összehasonlításképpen, az 1970-es évektől – amikor már molekuláris genetikai módszereket kezdtek a térképezéshez használni – 1988-ig 771 gén helyét lokalizálták a különböző autoszómákon, míg ugyanezen idő alatt a hagyományos családfa-analízissel csak 329 gén helyét sikerült megállapítani. Ma, a ***Humán Genom Projekt***nek (továbbiakban HGP) köszönhetően csupán az X kromszómán 1343 gén helye ismert, és 12 gén még nincs pontosan betérképezve (a pontos adatok megtalálhatóak a http://*www.ncbi.nlm.nih.gov* internetes honlapon).

A 80-as évektől kezdődően a kutatók molekuláris módszereket kezdtek használni a genetikai térképezéshez, a kapcsoltság vizsgálatakor a betegséget okozó géneket ún. genetikai ***markerek***hez kezdték hozzá térképezni. A genetikai markerek könnyen vizsgál-

ható, mendeli módon öröklődő és a populációban nagy polimorfizmust – változatosságot – mutató szakaszai a genomnak. A nagyfokú polimorfizmus valószínűsíti, hogy az adott marker genotípusa a vizsgálathoz kiválasztott család tagjaiban nem lesz mindig homozigóta, eléggé jó eséllyel találunk majd heterozigótákat.

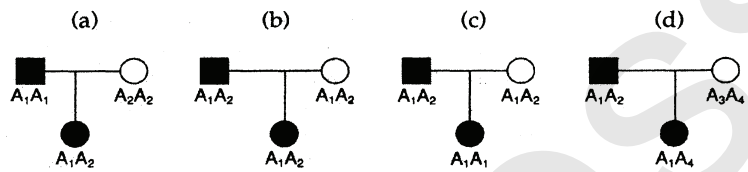
A humán genom egyes részeinek genetikai térképét az 1970-es években kezdték elkészíteni. Ezek a korai térképek a könnyen felismerhető markerek közötti kapcsoltságon alapultak. Eleinte a vércsoport antigéneket használták jól felismerhető markerként, majd vérszérum fehérjéket, enzim polimorfizmusokat, betegségek génejeit és az MHC antigéneket is bevonták a térképezésbe. A humán genomban azonban nagyon ritkák az igazán nagyfokú polimorfizmust mutató, fehérjéket kódoló gének, ezért ezeknek a térképeknek a felbontása nagyon kicsi volt, a genom nagy része nem volt reprezentálva bennük. Szerencsére az utóbbi évtizedben előtérbe került a polimorf ***DNS markerek*** használata. Nagyon megkönnyíti ennek a technikának az alkalmazását az, hogy a különböző markerek ugyanazokkal a módszerekkel vizsgálhatók (l. 18. fejezet) és a markerek lokusza könnyen azonosítható a DNS ***fizikai térképé***n, így a két különböző térképezési módszerrel kapott eredmények összevethetőkké váltak.

Az első DNS markerek a restrikciós enzimek hasítóhelyének polimorfizmusa következtében létező ***RFLP*** (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) szakaszok voltak (l. 18. fejezet). Ezeket eredetileg a restrikciós enzimmel emésztett DNS minták Southern blotjához hibridizált radioaktív próbákkal mutatták ki (l. 18. fejezet), de ma már PCR analízissel könnyebben detektálhatók. Az RFLP fragmentek azonban csak korlátozottan használhatóak térképezéshez és kapcsoltsági vizsgálatokhoz, ugyanis ezeknek csak két allélje létezik: vagy megvan a restrikciós hasítóhely a DNS-ben, vagy hiányzik. A könnyű kimutathatóság miatt azonban még ma is használják ezt a módszert, különösen akkor lehet ez hasznos, ha egy betegséget okozó gén közelében vagy magában a génben található egy polimorf hasító hely.

Manapság a kapcsolódási vizsgálatokhoz a **VNTR** (*Variable Number Tandem Repeat*) markereket használják. A VNTR-ekre nagyfokú polimorfizmus jellemző, egy-egy lokusznak nagyszámú allélje van és PCR technikával könnyen analizálhatók. Különösen a ***mikroszatellita*** szekvenciák közé tartozó di-, tri- és tetranukleotid ismétlődések használhatóak kapcsoltsági analízishez.

A sikeres térképezés egyik (sokáig be nem teljesült) feltétele az, hogy a markerek kb. 10 cM távolságban, egyenletes eloszlásban legyenek megtalálhatóak a genom teljes hosszán. A humán genom méretét figyelembe véve ez azt jelenti, hogy minimum 300 markerre van szükség. A VNTR szekvenciák megfelelnek ennek a feltételnek is. A valóságban azonban egy sikeres térképezés elkezdéséhez eleinte sokkal sűrűbb eloszlású – kb. 1 cM távolságra található – markerek szükségesek.

A sikeres térképezés fontos feltétele az is, hogy a vizsgált meiózisok **informatívak** legyenek, azaz meg tudjuk különböztetni a rekombináns és szülői kromoszómákat. Ez azt jelenti, hogy megállapítható a vizsgált allélek **fázisa.** A fázis kifejezés arra utal, hogy a két közeli lokuszon lévő gének vizsgálandó alléljei azonos kromoszómán (cisz fázis), vagy a homológ pár különböző tagjain vannak (transz fázis). Esetünkben a fázison azt értjük, hogy a betegséget okozó allél a térképezéshez használt marker melyik alléljével található azonos kromoszómán. A 4.3. ábrán informatív és nem-informatív meiózisokra láthatunk példákat.



4.3. ábra. *Informatív és nem-informatív meiózisok.* A meiózist akkor tekintjük informatívnak a kapcsoltság megállapítása szempontjából, ha az utódok és a szülők fenotípus analízise után képesek vagyunk felismerni a gaméta képzés során végbement rekombinációt. Vizsgáljuk meg a fenti négy családfán a marker allélek és a betegséget okozó allél öröklődését: (a.) a meiózis nem-informatív: a homozigóta apa estében nem lehet megállapítani a marker allélek kromoszomális lokalizációját; (b.) a meiózis nem-informatív: nem lehet megállapítani, hogy az utód melyik szülőtől örökölte az A_1 és A_2 allélekat; (c.) a meiózis informatív: az utód apjától örökölte a betegséget okozó allélhez kapcsolt az A_1 allélt; (d.) a meiózis informatív: az utód apjától örökölte az A_1 allélt, és anyjától az A_4 allélt.

KAPCSOLTSÁGI VIZSGÁLATOK CSALÁDFA ANALÍZIS SEGÍTSÉGÉVEL

Ha vizsgálatainkhoz sok generációs nagy családokat találunk ahol kiszámolható a rekombinánsok gyakorisága, akkor a kapcsoltság megállapítása könnyű. Az ilyen esetek azonban nagyon ritkák, a családok többnyire kicsik, kevés utóddal. Ezért általában több család vizsgálatából nyert adatokat kell összegeznünk a genetikai kapcsoltság mértékének megállapításához. Különösen igaz ez a ritka genetikai betegségek esetében. Az így kapott eredményekből egy speciális statisztikai módszerrel – a ***LOD érték*** analízissel – állapíthatjuk meg a kapcsoltságot és annak fokát (*LOD = logarithm of odds,* azaz az esély logaritmusa).

DUPLEX

Mint látni fogjuk, a LOD érték analízis eredménye egy olyan számérték, ami annak a hányadosnak a tízes alapú logaritmusa, amit a következőképpen számolunk ki: kiszámítjuk mekkora a családfán megfigyelt fenotípusos megoszlás esélye Θ rekombinációs gyakoriságot feltételezve és elosztjuk annak az esélyével, hogy a családfán megfigyelt fenotípusos megoszlás független öröklődés esetében létrejöhet.

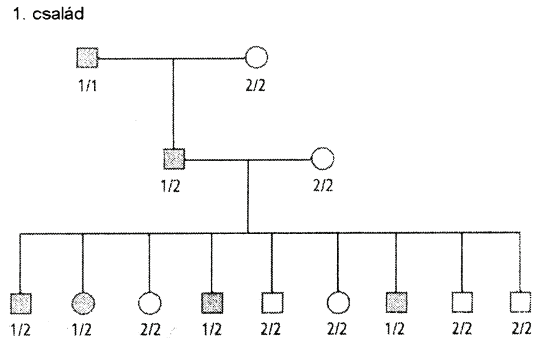
Képlettel kifejezve:

$$Z_x = \frac{\text{a megfigyelt eredmény esélye ha } \Theta = X}{\text{a megfigyelt eredmény esélye ha } \Theta = 0{,}5}$$

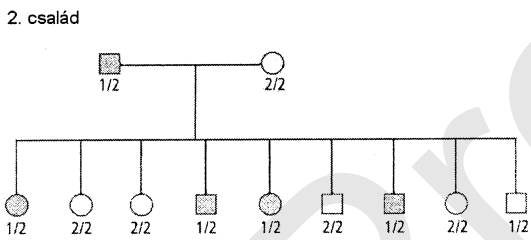
$$LOD_{\Theta=X} = \log Z_x$$

(Θ a feltételezett rekombinációs gyakoriságot jelenti)

Vizsgáljunk meg újabb két családfát a kapcsoltság fokának megállapításához. A 4.4. ábrán egy autoszomális domináns rendellenesség öröklődését látjuk két család adatainak felhasználásával. (Itt a megszokott betűk helyett számok jelentik a genetikai marker két alléljét.) Az első családfán a második generációban található érintett egyén a betegséget okozó gént az 1-es jelű marker allélával együtt örökölte az apjától, az anyjától természetesen a 2-es markert és a normál allélt örökölte. Ha ez a két lokusz azonos kromoszómán van, akkor a II-1 apának van egy kromoszómája ami a betegséget okozó allélt és az 1-es marker allélt tartalmazza, míg a másik homológ kromoszóma a normál allélt és a 2-es marker allélt hordozza. Ebben az esetben tehát pontosan megállapítható az allélek elhelyezkedése, a lokuszok fázisa. Ha a két lokusz kapcsolt, akkor abból az adódik, hogy ebben a családban a következő generációban a betegséget okozó allél együtt öröklődik az 1-es marker allélllel, és ez is látható a családfán. Mind a négy érintett utód genotípusa a marker allélekre *1/2*, az egészséges utódoké pedig *2/2*. Ha a két lokusz nem kapcsoltan helyezkedne el, akkor a független öröklődés esetén várható arányoktól (50% rekombináció) való ilyen nagyfokú eltérés valószínűsége $(0,5)^9$ lenne (ennek az értéke 0,002). Ha viszont a két lokusz kapcsolt és távolságuk mondjuk 10 cM (Θ=10% a rekombináció gyakorisága a két lokusz között), akkor annak a valószínűsége, hogy a betegséget okozó domináns allél az 1-es markerrel együtt öröklődik (vagy a normál allél a 2-es markerrel) minden egyén esetében 0,9. Annak a valószínűsége, hogy a kilenc utód egyike se legyen rekombináns genotípusú $(0,9)^9$-el egyenlő (0,4). Ebből következik, hogy a vizsgált család esetében a 10%-os rekombinációs gyakoriság, azaz a 10 cM távolság a két lokusz között 200-szor valószínűbb (0,4/0,002 = 200) mint a független öröklődés. Ha viszont a két lokusz szorosan kapcsolt lenne (Θ=0% rekombinációs gyakoriság) akkor nem várunk rekombináns utódokat és annak a valószínűsége, hogy a vizsgált családban kapott adatokkal azonos eredményt kapjunk 1, a független öröklődést feltételezve a kapott eltérés valószínűsége természetesen ekkor is 0,002. 1/0,002 = 500, azaz a teljes kapcsoltság 500-szor valószínűbb, mint a független öröklődés.



4.4. ábra. A két családfa egy autoszomális domináns jelleg és a térképezéshez használható DNS marker allélek (1 és 2) öröklődését ábrázolja együttesen a két családban. (A megszokott betűk helyett itt számokkal jelöljük a marker alléleket!)



A LOD érték analízis használatakor több feltételezett rekombinációs gyakoriságra is kiszámoljuk ezeket a hányadosokat és kiszámoljuk a hányados értékének 10-es alapú logaritmusát. Az 1-es család esetében tehát 10%-os rekombinációs gyakoriságot feltételezve log200 = 2,3; 0%-os rekombinációs gyakoriságot feltételezve log500 = 2,7. A kapcsoltság valódi megítéléséhez természetesen több család esetében is el kell végezni a számításokat, és azokat összegezni kell.

Vizsgáljuk meg ezért a 2-es családot is. Itt a második generáció mind a négy érintett egyéne *1/2* genotípusú és *egy kivétellel* az öt egészséges testvér genotípusa pedig *2/2*. Akárcsak az 1-es család esetében itt is nagy eltérést tapasztalunk a független öröklődés esetén várható allél megoszlástól, ez esetben is valószínűsíthető a kapcsolt öröklődés. Feltételezhető, hogy az 1-es marker allél kapcsolt a betegséget okozó alléllel. Ha ez igaz, akkor a legfiatalabb gyermek rekombináns genotípusú, hiszen az apától az 1-es markert örökölte, de nem örökölte a betegséget okozó allélt. Természetesen feltételezhetnénk azt is, hogy a fordított helyzet az igaz, a betegséget okozó allél a 2-es markerrel kapcsolt. Ebben az esetben a legfiatalabb utód nem-rekombináns és összes testvére rekombináns genotípusú. Ez a családfa alapján kevésbé látszik valószínűnek, de nem lehet kizárni ezt a lehetőséget, mert nincs információnk a nagyszülőkről és ennek hiányában nem tudunk semmi biztosat megállapítani a betegséget okozó allél és a marker allél viszonyáról. Más szóval, nem tudjuk megállapítani a két lokusz fázisát. Ilyen család esetében nehezebb a LOD érték analízis, hiszen két lehetőséget kell figyelembe venni. Az 1. táblázatban láthatóak a két családra különböző rekombinációs gyakoriságok (0-40%) feltételezésével kiszámolt LOD értékek. Bármelyik fázist is vesszük alapul a második családfa elemzésekor, feltételeznünk kell, hogy legalább egy rekombinációs esemény bekövetkezett a betegséget okozó - és a marker lokusz között ezért a 0 %-os rekombinációs gyakoriság kizárható ebben a családban.

Budapress

4.1. táblázat. *A 0-tól 40%-ig terjedő feltételezett rekombinációs gyakoriságok figyelembevételével kiszámolt LOD értékek.*

	REKOMBINÁCIÓS GYAKORISÁG				
CSALÁD	0%	10%	20%	30%	40%
1-es család	2,7	2,3	1,8	1,3	0,7
2-es család	$-\infty$	1,0	0,9	0,6	0,3
A kettő együtt	$-\infty$	3,3	2,7	1,9	1,0

Az egyes családok esetében kiszámolt LOD értékeket egyszerűen csak össze kell adnunk a helyes érték kiszámolásához (lásd az 1. táblázat). Az így kiszámolt legnagyobb értékhez tartozó rekombinációs gyakoriság felel meg a két lokusz közötti legvalószínűbb rekombinációs gyakoriságnak. Esetünkben a 10%-os rekombinációs gyakoriság esetén kapott 3,3 a legmagasabb LOD érték. A pozitív LOD értékek valószínűsítik a kapcsoltságot, negatív értékek esetén nem valószínű a kapcsoltság. Általában a 3-nál magasabb LOD értékek a kapcsoltság biztos bizonyítékának tekinthetőek, hiszen a LOD érték tízes alapú logaritmus számításon alapuló értékek, azaz a 3-as érték azt jelenti, hogy ezer az egyhez az esélye annak, hogy az általunk megfigyelt esemény nem véletlenül következett be úgy, ahogyan mi megfigyeltük.

A fenti táblázatban az is látható, hogy a második családban 0%-os rekombinációt feltételezve a LOD érték $-\infty$, ez azért van, mert mint azt fent említettük itt kizárható a teljes kapcsoltság, annak valószínűsége 0 és $\log 0 = -\infty$. Ez tulajdonképpen azt jelenti, hogy a marker nem lehet azonos a betegséget okozó alléllel!

Láthattuk, hogy ezzel a számítással könnyedén egyesíthetők az ismert és ismeretlen fázisú családfákból nyert adatok, ami nagyon megkönnyíti a genetikai analízist. Manapság már computer programok segítik a LOD értékek számítását, így egyszerűen és pontosan megállapíthatjuk egyes lokuszok kapcsoltságát vagy független öröklődését.

Mondhatná valaki, hogy a HGP eredményei nyomán, és a modern szekvenálási és egyéb technikák nyújtotta lehetőségekkel élve, a kapcsoltsági vizsgálatok érdektelenné avagy immár feleslegessé váltak. Ez legkevésbé sincs így. Például az RFLP (l. 18. fejezet) segítségével végzett analízis, ide értve a prenatalis diagnosztikát is, megbízhatósága (ha a megfelelő hasítóhely nem a vizsgált génben van) éppen a kapcsoltsági viszonyok pontos ismeretén alapszik.

KAPCSOLTSÁGI EGYENSÚLY

Egyes betegségek (jellegek) vizsgálatából kiderült, hogy a különböző – akár egészen távoli humán populációkban talált –, ugyanabban a betegségben szenvedő egyénekben ugyanaz a mutáns allél okozza a betegséget (jelleget) és ez az allél mindig együtt található egy közeli marker allélel. Ezt a jelenséget ***kapcsoltsági kiegyensúlyozatlanság***nak (*„linkage disequilibrium"*) nevezzük, mert egy genetikailag egyensúlyban lévő populációban a két eltérő fázisban (cisz és transz helyzetben) lévő allélpárok száma egyenlő kell legyen (***kapcsoltsági egyensúly***). A kiegyensúlyozatlanság arra utal, hogy a marker allél a mutáció kialakulásakor nagyon közel helyezkedett el a mutációt szenvedett allélhez, nincs közöttük rekombináció, ezért a betegséget okozó mutáns allél mindig együtt található a markerrel az érintett egyénekben.

Különösen sok vizsgáló figyelmét vonta magára a HLA rendszerre jellemző *„linkage disequilibrium"* néhány jól ismert esete, tekintettel ezen lokuszok bizonyos alléljeinek egyes betegségek kialakulásában játszott rizikófaktor – relatív kockázatot növelő – szerepére (l. 7. fejezet).

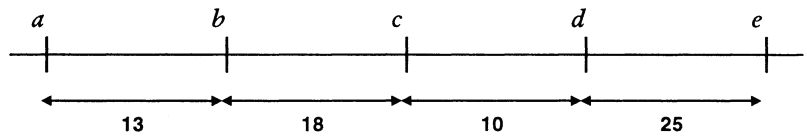
Fontos megjegyeznünk, hogy *a kapcsoltság mindig az érintett lokuszok helyzetére utal.* Létezik azonban ***allélikus asszociáció*** is. Ez azt jelenti, hogy populációban azok az egyének, akiknek egy adott lokuszán ugyanaz az allél található, azok a véletlen esélynél nagyobb valószínűséggel hordoznak egy meghatározott allélt egy másik lokuszon. Ezekben az esetekben a két lokusz kapcsoltsága szükséges, de nem elégséges feltétele az allélikus asszociációnak. Sohasem figyelhető meg például allélikus asszociáció a Duchenne muszkuláris disztrófiát (l. 5. fejezet) okozó allél és bármely marker allél között, akármilyen kicsi is legyen a távolság a két lokusz között. Ugyanis az erős szelekció miatt (a betegek fiatalon meghalnak) a mutációk fél életideje általában két generáció, ami azt is jelenti, hogy a nem-rokon beteg férfiak más-más mutáns allélel rendelkeznek. Azoknál a betegségeknél – ilyenek lehetnek például az autoszomális recesszív, és a későn manifesztálódó domináns betegségek – ahol a mutáció gyakorisága nagyon alacsony, a populáció érintett egyéneinek nagy része ugyanazt a mutációt hordozza. Ezekben az esetekben megfigyelhető allélikus asszociáció a betegséget okozó gén v. akár allél, és egyes marker allélek között.

TOVÁBBI GONDOLATOK

Rövid távolságok összeadása. A fentiekben már láttuk, hogy a kromoszóma mentén nagy távolságok nem térképezhetők a többszörös átkereszteződések okozta pontatlanságok miatt. Természetesen két gén közötti nagyobb távolságokat is kiszámít-

Dunpress

hatunk, ha a közbeeső közeli gének közötti térképtávolságokat meghatározzuk és a kapott értékeket összeadjuk. Vizsgáljuk meg pl. a következő feltételezett esetet:



A szomszédos génekre nézve heterozigóta egyedek vizsgálatával meglehetősen pontosan tudnánk meghatározni a térképtávolságokat. De például az ***a-d*** kettős heterozigóta vizsgálata során az észrevehetetlen többszörös átkereszteződések miatt csak pontatlanul tudnánk megmérni a távolságukat, valószínűleg a közöttük lévő 41 térképegységnél (13+18+10 = 41) kevesebb rekombinációs gyakoriságot határoznánk meg. A fenti géntérkép két végén elhelyezkedő ***a*** és ***e*** gének 66 térképegységre vannak egymástól, de kettős heterozigótáik közvetlen rekombinációs analízisével arra az eredményre jutnánk, hogy egymástól függetlenül öröklődnek, hiszen a megfigyelhető maximális 50%-os rekombinációs gyakoriságot mutatnák.

A géntérképezés jelentősége

A gének genetikai távolságán alapuló humán géntérkép elkészítése több szempontból is fontos feladat. Először is a genetikai mechanizmusok működése és evolúciója csak úgy ismerhető meg, ha ismerjük az azokat felépítő részek funkcióit külön-külön és kölcsönhatásaikban is. A genetikai rendszerek működésének ismerete pedig nagyon sok fontos információt szolgáltat számunkra, amelyeket fel kell használnunk a genetikai tanácsadás és a gyógyító munka során.

Ahhoz, hogy a genetikai térképezés valóban hasznos legyen, az elkészült térképnek ki kell terjednie a teljes genomra, nem maradhatnak térképezetlen területek. Ugyanakkor a térképnek részletesnek is kell lennie ahhoz, hogy könnyen megtalálható legyen egy-egy új gén helye a kromoszómákon.

Az emberi genom részletes és átfogó térképét a HGP keretén belül a párizsi Genethon Intézetben készítették el. A térkép elkészítéséhez először a megfelelő referencia családokat keresték meg. Mormon és francia-venezuelai családok tagjaitól vettek mintákat és azokból sejttenyészeteket készítve tartották fenn a referencia mintákat. (A mormon családok különösen hasznosnak bizonyultak, hiszen ezek általában nagy családok és az adatok pontos nyilvántartása része a mormon kultúrának.) A térképezés

során először a használható mikroszatellita markerek helyzetét határozták meg a genomban. Ez tulajdonképpen 5264 CA ismétlődés pontos genotípusának és helyzetének megadását jelentette. Először tehát a markerek genotípusát határozták meg a referencia családok tagjainak DNS-ében. Az autoszómák térképezéséhez nyolc család 134 tagjától vett DNS mintákat használták fel, összesen 186 meiózist analizálva. Az X kromoszóma térképezéséhez 20 család 304 tagjától vett mintáit használták, összesen 291 meiózist értékelve. A következő lépésben a markerek sorrendjét és a közöttük lévő távolságot határozták meg a kutatók. A térkép végső formája 2335 genetikai marker pontos helyzetét tartalmazza. A térkép ilyen módon kiszámított teljes genetikai hossza nőkben 4396 cM, férfiakban viszont csak 2796 cM (ennek oka a már korábban említett eltérő rekombinációs gyakoriság). Az átlagos genetikai hossz tehát 3699 cM. Az 1. kromoszóma a leghosszabb, ez 292 cM, a legrövidebb pedig a 21., 58 cM hosszal. A markerek átlagos távolsága 1,6 cM, az eloszlásuk pedig majdnem egyenletes a genom teljes hosszán.

Ma már megállapíthatjuk, hogy a hagyományos módszerekkel elkészített rekombinációs térkép tökéletesen megfelel a molekuláris genetikai módszerekkel meghatározott lokalizációknak. Azt mondhatjuk tehát, hogy a genetikai térkép azonos génsorrendet mutat (***kolineáris***) a citológiai térképpel. A HGP eddig közzétett eredményei egyrészt tehát megerősítették, másrészt rendkívül kiterjesztették ismereteinket (l. 22. fejezet).

A humán genom szerveződésének pontos ismerete egyre fontosabb szerepet tölt be a gyógyászatban. Különösen fontos a kapcsoltság ismerete genetikai tanácsadás során; azzal a megjegyzéssel, természetesen, hogy a HGP eredményeinek függvényében és az analitikai módszerek egyre szélesebb körben való elérhetősége nyomán a direkt módszerek folyamatosan kerülnek előtérbe.

A gének genetikai távolságán és lokalizációján alapuló géntérkép és az evolúció

Nagyon sok hasznos információt nyerhetünk, ha összehasonlítjuk közeli rokon fajok kromoszómáit, és ahol lehetséges, azok fizikai géntérképeit is. Minél közelebbi rokon két faj, annál jobban hasonlítanak kromoszómáik, géntérképeik. Ezeknek az elveknek a felhasználásával számos kisebb vagy nagyobb skálájú törzsfát elkészítettek már a kutatók.

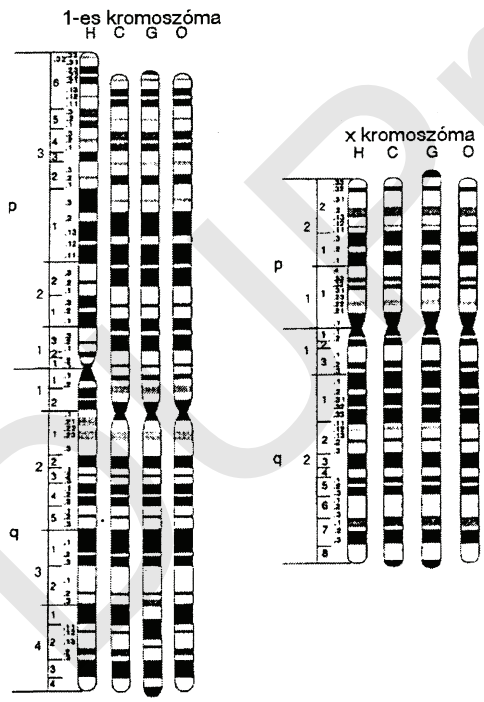
Különösen a főemlősök kromoszómáinak vizsgálatát kíséri nagy érdeklődés. A humán kariotípushoz legjobban a csimpánzoké, a gorilláké és az orangutánoké hasonlít, mindhárom fajnak 48 a kromoszómaszáma. A sávmintázatok (l. a 10. fejezet) összehasonlítása az X kromoszóma esetében a kromoszóma szerveződésének teljes azonosságát mutatja és az autoszómáik is nagyon hasonlóak, egyedül az Y kromoszóma mutat

DUPress

lényeges eltéréseket ezen fajok között. Úgy tűnik például, hogy az emberi 2-es kromoszóma két ősibb akrocentrikus kromoszóma Robertson-féle transzlokációjával jött létre (l. a 11. fejezetben), ami megmagyarázza, miért huszonhárom a haploid kromoszómaszám az emberben (és 24 az említett emberszabásúakban).

A négy faj kromoszómái közötti egyéb különbségek is megmagyarázhatóak a kromoszómákon belüli inverziókkal (l. a 11. fejezet) és a heterokromatikus részek átrendeződésével. Az összehasonlító vizsgálatok azt mutatják, hogy az ember a csimpánzokkal áll legközelebbi rokonságban (13 azonos kromoszóma), a gorillákkal (9 azonos kromoszóma) és az orangutánokkal (8 azonos kromoszóma) már távolibb a rokonság. A gibbonokkal még távolabbi a rokonság, az X kromoszómát kivéve már elenyészőek a kromoszómák közötti hasonlóságok. Ugyanerre az eredményre vezettek a DNS szekvenciák molekuláris hibridizációs technikákkal való összehasonlítása (4.5. ábra).

Az utóbbi években gyors haladást értek el a kutatók a főemlősök géntérképének elkészítésében, különösen a csimpánzok kromoszómáinak vizsgálatában. Az emberrel történő összehasonlítások során néhány struktúrgén esetében kimutatták például, hogy csimpánzokban az ezekkel megegyező gének a humán kromoszómáknak megfelelő csimpánz kromoszómákon helyezkednek el. Az emberben és a csimpánzban található hemoglobin és egyéb fehérjemolekulák elsődleges szerkezetének az azonossága valószínűsíti, hogy génjeik is azonosak lehetnek. Olyan nagy a hasonlóság az ember és a csimpánz kariotípusában, géntérképében és egyes fehérjék aminosav szekvenciájában, hogy egyes kutatók úgy vélik, a két faj között meglévő nyilvánvaló fenotípusos különbségek oka inkább a regulációs gének, mint a struktúrgének közötti különbségekre vezethető vissza. Csak egy példa a fentiek alátámasztására: a kutatók a ***Down szindróma*** tüneteit (l. a 11. fejezet) mutató beteg csimpánzokat is találtak már és ezekben az állatokban a betegség kiváltó oka egy, az emberi 21-es kromoszómának megfelelő kis akrocentrikus kromoszóma triszómiája volt.



4.5. ábra. *A négy főemlős faj – az ember (H), a csimpánz (C), a gorilla (G) és az orangután (O) – azonos kromoszómáinak összehasonlítása.* Az ábrán az 1-es és az X kromoszómáknak, a meiózis I. késői profázisában megfigyelhető G sávos mintázata (l. a 10. fejezet) alapján készített ***idiogram***jai láthatók (ebben a fázisban kb. 1000 sávot lehet megkülönböztetni egy haploid genomban). A sávozott mintázatok, különösen az X kromoszómáké, megdöbbentően hasonlóak.

Különösen érdekes eredményekre vezetett az X kromoszóma vizsgálata. Megdöbbentő módon ez a kromoszóma nemcsak a főemlősök, de még az emlős fajok között is nagyon nagy fokú hasonlóságot mutat méretében, sávmintázatában és génösszetételében is. A *G6PD* enzim génje például X-hez kötöttnek bizonyult emberben, egérben, hörcsögben, nyúlban, kenguruban, szamárban és lóban is, csakúgy, mint minden eddig megvizsgált emlős fajban. Miért őrződött meg az emlősök hosszú evolúciója folyamán az X kromoszóma? Ez rendkívül érdekes probléma. Emlékeztetünk arra, hogy az összes emlős faj nőstényében az embrionális élet korai szakaszában inaktiválódik az egyik X kromoszóma (l. 10 fejezet). Ez a mechanizmus kompenzálja nőstényekben a hímekkel szembeni géndózis különbséget. Ohno hipotézise szerint, ahogyan az emlősök evolúciójának korai szakaszában kialakult és stabilizálódott az X kromoszóma inaktiválódása, a gének, amelyek az X kromoszómán voltak, véglegesen rögzültek is erre a kromoszómára. Az X kromoszóma bármely részének egy autoszómára történő transzlokációja ugyanis felszabadítja az adott szakasz génjeit az inaktiválódás alól és az emiatt kialakuló géndózis változásnak súlyos genetikai következményei lehettek, ami hátrányosan érintette az egyedet és annak kiszelektálódásához vezetett.

Összefoglalás

(*1*) Genetikai kapcsoltságról akkor beszélünk, ha két gén lokusza azonos kromoszómán található. Azonos kromoszómán lévő lokuszok esetében:

a. a gének független szétválása csak akkor valósul meg, ha a gének lokuszai távol vannak egymástól;

b. minél közelebb vannak a gének lokuszi egymáshoz, annál kisebb a rekombináció gyakorisága közöttük;

c. a nem-testvér kromatidok között látható kiazmák a génkicserélődés (átkereszteződés, crossing over) helyét jelzik;

d. csak kettős heterozigóták esetében lehet megfigyelni a genetikai rekombináció bekövetkezését;

(*2*) Az átkereszteződések kialakulása lehetővé teszi a gének közötti genetikai távolság és a génsorrend meghatározását a kromoszómán. Az ilyen meghatározások csak akkor pontosak, ha a gének közötti rekombinációs gyakoriság kevesebb, mint 10%. Ilyen esetekben x rekombinációs gyakoriság egyenlő x térképegységgel (x cM).

(*3*) Humán kromoszómák géntérképe családi kapcsoltsági vizsgálatokkal és molekuláris biológiai módszerekkel készíthető el;

a. az emberi genom genetikai térképe polimorf DNS markerek (RFLP fragmentek, mikroszatellita markerek) helyzetének meghatározásán alapszik, a közöttük lévő távol-

ságokat a rekombinációs gyakoriságok segítségével határozták meg. A lokuszok közötti fizikai távolság nem egyenesen arányos a közöttük lévő genetikai távolsággal, de az átlagosan 1 cM genetikai távolság 0,7-1 MBp hosszúságú DNS szakasznak felel meg.

b. A rekombinációs gyakoriság megállapításához informatív meiózisokra van szükség. Egy meiózis informatív, ha meg tudjuk különböztetni a változatlan szülői és rekombináns kromoszómákat, azaz meg tudjuk állapítani az allélek fázisát. Allélek fázisán azt értjük, hogy a vizsgált allélek azonos kromoszómán (cisz) vagy különböző (transz) kromoszómán vannak.

c. Mivel az emberi családok általában kicsik és a vizsgált családfán nem minden meiózis informatív, a gének közötti távolság meghatározására kidolgoztak egy statisztikai módszert, a LOD érték meghatározást.

(*4*) A géntérképek alapvető információkat szolgáltatnak a genom szerveződéséről és döntő fontosságúak a genetikai tanácsadás során.

(*5*) A gének lokalizációjának és a kromoszómák sávmintázatának összehasonlítása emlős fajok esetében fontos információkat szolgáltat az evolúció folyamatáról.

Kérdések

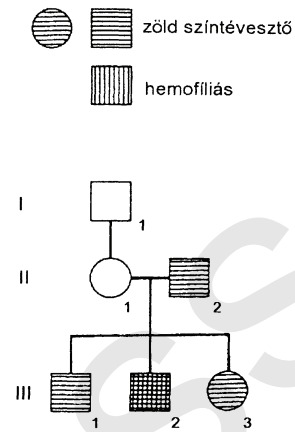
(*1*) Egy ***A*** és ***B*** géneket hordozó petesejt és egy ***a*** és ***b*** géneket hordozó spermium összeolvadásából keletkező zigótából kifejlődött felnőttnek milyen gamétái lehetnek és azok milyen arányban keletkeznek, ha a két lokusz:

(a) különböző (nem-homológ) kromoszómán van; (b) ugyanazon a kromoszómán egymáshoz közel helyezkedik el; (c) ugyanazon a kromoszómán egymástól 8 térképegységre van; (d) ugyanazon a kromoszómán de egymástól 80 térképegységre van.

(*2*) Úgy tűnik, hogy a *crossing over* gyakoribb nőkben, mint férfiakban. Ha meg akarná állapítani azt, hogy két autoszomális gén kapcsoltan helyezkedik-e el, akkor kettős heterozigóta nőket vagy férfiakat vizsgálna az öröklődés típusának eldöntéséhez szükséges adatok összegyűjtéséhez?

(*3*) Két X kromoszómán öröklődő gént vizsgálunk, ***A***-t és ***B***-t. Sándor mindkét jellegre nézve recesszív fenotípusú. Több lánya is születik a házasságából, akik mindannyian domináns fenotípusúak. Sándor lányainak összesen 40 fia született (Sándor unokái) akik közül 15 fiú mindkét jellegre recesszív fenotípusú, 17 kettős domináns fenotípusú és összesen 8 fiúnak a fenotípusa domináns az A jellegre és recesszív a B jellegre, vagy fordítva. Mi a genotípusa Sándor lányainak? Milyen távol van a két gén egymástól a kromoszómán?

(4) a/ Az ábrázolt családfa tagjainak milyen a genotípusa? A lehető legpontosabban adja meg a genotípusokat, sorolja fel mindegyik lehetőséget azoknál az eseteknél, ahol több is elképzelhető! b/ Mekkora annak a valószínűsége, hogy a III-3-as egyén genotípusa *H/H*; *H/h*; *h/h?* Feltételezzük, hogy a zöld színtévesztés és a hemofilia A gének lokuszai 3 térképegység távolságra vannak egymástól.



Válaszok

(1)

	Gaméták (%)				Rekombináció
	AB	**ab**	**Ab**	**aB**	**százaléka**
(a)	25	25	25	25	50
(b)	50	50	0	0	0
(c)	46	46	4	4	8

(2) A férfiak vizsgálatával könnyebb volna eldönteni a kapcsoltságot. A nagyobb rekombinációs gyakoriság (nőkben gyakoribb) megnehezíti a kapcsoltság megkülönböztetését a független öröklődéstől.

(3) A lányainak a genotípusa: *AB/ab*. A fiaik között 8 rekombináns genotípusú, ezért a rekombináció gyakorisága = 8/40 = 20% = 20 térképegység.

(4)

(a) I-1 = GH/Y
II-1 = GH/gh
II-2 = gH/Y
III-1 = gH/Y

DUPress

II-2 = gh/Y

III-3 = gH/gH vagy gH/gh

(b) P(H/H) = 0.06; P(H/h) = 0.94; P(h/h) = 0. A III-3-as személy egy gH kromoszómát az apjától örökölt.

DUPress

5. FEJEZET

CSALÁDFÁK

Adatgyűjtés

A családfa megszerkesztése

Családfa és biokémiai analízis
Mitől óvakodjunk?

Autoszomális domináns öröklődés: Brachydactylia

Autoszomális recesszív öröklődés: Fibrosis cystica

Klinikai tünetek és kezelés
Családfák
Molekuláris genetika
A homozigóták és hordozók felismerése

X-hez kötött recesszív öröklődés: Duchenne és Becker féle izomsorvadás

Klinikai tünetek
Családfák
Molekuláris genetika
Disztrofin
A hemizigóták és a hordozók felismerése

DUPress

Adatgyűjtés

Semmiféle statisztikai bűvészkedés sem szünteti meg azokat a bizonytalanságokat, melyeket a gondatlan adatgyűjtés okoz. Ahelyett, hogy néhány családtag szóbeszédére hagyatkozna, a gondos adatgyűjtő személyesen kérdezi ki és vizsgálja meg a család elérhető élő tagjait. Esetenként arról is meg kell győznie egyik-másik – személyében közvetlenül nem érintett – családtagot, hogy vér-, vizelet-, vagy a bőrből vett mintával segítse elő a vizsgálat sikerét. Az egész folyamat gyakran sok utazással jár, pénz- és időigényes. Nehézségeket okoz megbízható információhoz jutni az elhunyt családtagokról (mivel kevés család vezet részletes feljegyzéseket róluk, továbbá a visszaemlékezések bizonytalanok vagy túlzóak lehetnek, különösen a betegségek lefolyását illetően). Gyakran tévesek az adatok a házasságon kívül született gyermekekről („elfelejtik" őket megemlíteni, vagy nem is tudnak róluk), a vetélésekről és halvaszületésekről és a valamilyen módon a normálistól eltérő családtagokról. Róluk gyakran még közeli rokonok sem tudnak, ha korán meghaltak vagy intézetbe kerültek. Az ilyen rokonokról nem szívesen beszélnek, a hallgatással a megbélyegzést óhajtják elkerülni. Az emberek néha azért is elhallgathatnak tényeket, hogy lássák, vajon a kérdezők maguktól rájönnek-e azokra. Mindezen okok miatt a vizsgálatot végzőknek együttérzőknek, türelmeseknek és tapintatosaknak kell lenniük.

Minden adatot világosan és teljesen kell rögzíteni. Különösen fontos a különböző fenotípusok *egzakt leírása*, hogy később, ha szükséges, különböző források adatait össze lehessen vetni. Még az adatok begyűjtésének *sorrendje* is fontos lehet a későbbi statisztikai elemzés számára (l. 2. fejezet). A humángenetikus jobban szeret nagylétszámú családokat tanulmányozni, melyekben a minta kis méretének hatásai kevésbé jutnak érvényre. Kívánatos, hogy az adatok legalább három nemzedékre kiterjedjenek. A környezet (relatív) állandóságát biztosítja és a könnyű fellelhetőséget segíti, ha a család nem szóródott túlságosan szét. A genetikusokat a rokonházasságok következményei is érdeklik, ezek is gyakrabban fordulnak elő a korlátozott területen élő családokban.

Bár ideális kutatási körülményeket ritkán találnak, a humángenetikusok a maximumot hozzák ki abból, ami rendelkezésükre áll. Az olyan családok, ahol a feljegyzések minden születési és halálozási dátumot, rokonsági viszonyt és teljes kórtörténetet tartalmaznak, valóságos kincsnek számítanak.[1] Különleges genetikai vizsgálatokra nyújtott alkalmat az az USA-ban élő néhány populáció (az ámisok és a hütteriták), ahol magas a gyermekszám, jól körülhatárolt területen élnek, csaknem kizárólag maguk között há-

[1] Régebben a családi bibliába jegyezték fel az ilyen adatokat.

zasodnak, nemzedékeken keresztül azonos életstílust tartanak fenn, s gondosan vezetik feljegyzéseiket (l. 20. fejezet).

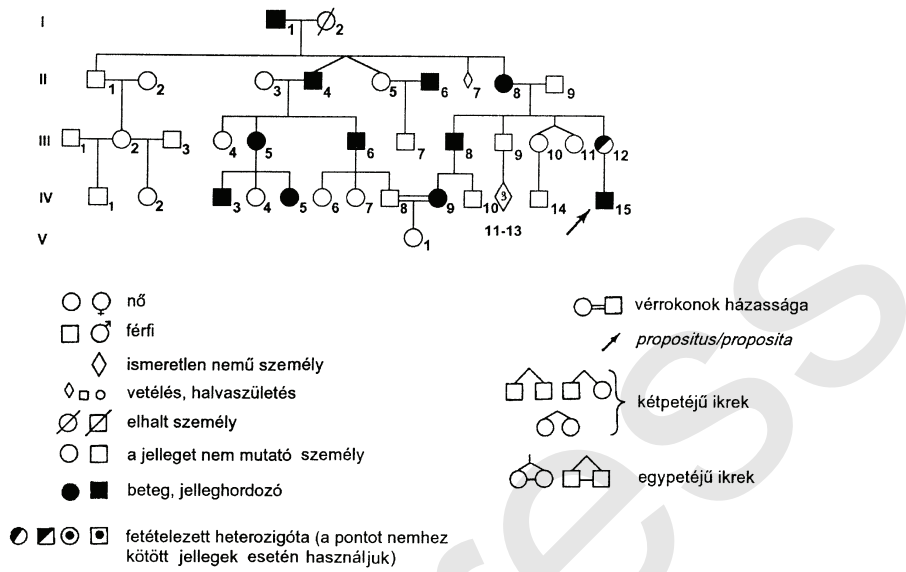
A családfa megszerkesztése

Azt gondolhatnánk, hogy a molekuláris biológiai módszerek napjainkban bekövetkezett robbanásszerű fejlődése szükségtelenné teszi a hagyományos családfa-elemzést. Ez nem így van. A legmodernebb genetikai módszerek használóinak is gyakran szükségük van arra, hogy pontosan ismerjék az általuk analizált DNS molekulák forrása közötti családi viszonyokat, másrészt a klinikusoknak és a genetikai tanácsadóknak minden rendelkezésre álló eszközt fel kell használniuk – régit és újat egyaránt. Ezért ma is kényelmesnek és hasznosnak találják, hogy diagramban összegezzék a családok vizsgálatából nyert információt. Ezek a ***családfák*** lazán megfogalmazott szabályok felhasználásával készülnek, így az alkalmazott szimbólumok magyarázatára rendszerint a kísérő ábraszöveg szolgál; ez lehetővé teszi, hogy bárki egyformán értelmezze azokat. A 5.1. ábra például egy feltételezett ritka autoszomális domináns gén öröklődését mutatja be egy képzelt családban.

A nemzedékeket római számokkal jelöljük, a családfa legfelső sorában a legősibb (I.), alján az utolsó generáció található. Az egyes nemzedékekben az egyéneket arab számok azonosítják (a számok balról jobbra növekednek, egy-egy szülőpár utódai között ez egyúttal születési sorrendet is jelöl; figyeljük meg azonban, hogy az egymás mellé kerülő személyek nincsenek szükségszerűen genetikai kapcsolatban, pl. II-2 és II-3). Így a családfán szereplő minden egyén azonosítható egy számmal, pl. IV-5.

A férfiakat négyzet, a nőket kör jelzi (régebben használták a hím- és nőnem jelét). Ismeretlen nemű személyt csúcsára állított négyzettel (◇) szimbolizálunk. Ugyanezt a jelet használjuk több, a jelleget nem mutató személy összevont ábrázolására, ha nemüknek nincs jelentősége; ilyenkor az összevontan ábrázolt személyek számát a négyzetbe írjuk. A halvaszületést és vetélést kisméretű szimbólum jelzi, l. II-7; az elhunytak jelét áthúzzuk. Ha ezen halálesetek a vizsgált betegséggel összefüggnek, ezt a családfa leírásában részletesen meg kell magyarázni.

A betegeket (jelleghordozókat) a szimbólum satírozásával jelöljük. A probandusra vagy propositusra (ha nő, probanda vagy proposita) nyíl mutat. (A probandus az a személy, aki miatt a családot feltérképezték és a családfát elkészítették. A további jeleket l. Biológiai Gyakorlatok III.)



5.1. ábra: *A családfákon használt jelölések egy feltételezett ritka autoszomális domináns gén öröklődésének példáján bemutatva.* A gén penetranciája nem teljes, III-12 nem mutatja a jelleget.

CSALÁDFA ÉS BIOKÉMIAI ANALÍZIS

Néhány évtized alatt családfák és orvosi adatok tanulmányozásával a genetikusoknak sikerült meghatározniuk sok fenotípusos jegy öröklésmenetét. Az emberi tulajdonságok mendeli öröklődésének McKusick-féle katalógusa (amely elérhető az Interneten a http://www3.ncbi.nlm.nih.gov/omim/ címen) 2002-ben több mint 13000 lokusz adatait tartalmazta. Bár az ebben a gyűjteményben felsorolt rendellenességek többségében a hibás géntermék még nem ismert, az eddigi vizsgálatokból egy érdekes szabályszerűség tűnik ki: *csaknem minden enzimhiányra visszavezethető betegség recesszív, míg a nem enzimatikus (azaz struktúr)fehérjék hibájából eredő rendellenességek gyakran (bár nem mindig) dominánsan öröklődnek.* Ennek magyarázata a következő lehet: bár a heterozigóták csak feleannyi ép géntermeket produkálnak, mint a normális homozigóták, ez általában elegendő a feladat ellátására enzimreakciók esetén, melyekben a katalizátorból csak kis mennyiségre van szükség. Ezzel szemben szerkezeti fehérjék (mint pl. a kollagén) hibás változata akadályozhatja a szervezet normális működését. A gének szer-

PUPress

kezete és a géntermék funkciója az evolúció folyamán megdöbbentő mértékben konzerválódhat nem csupán közeli rokon fajokban, hanem egymással csak nagyon távoli kapcsolatban lévőkben is. A kutatók ezért gyakran összehasonlítják a különböző fajok és osztályok egyes fenotípusos jegyeit, genotípusát és génjeit.[2] Az állati modellek különösen hasznosak és alkalmasak az örökletes emberi betegségek tanulmányozására – sok olyan kísérletet és keresztezést tesznek lehetővé, amit embereken nem lehetne elvégezni. Most, hogy a hagyományos családfa-vizsgálatokat magának a DNS szerkezetének a különbségeit vizsgáló hatékony eljárásokkal lehet kombinálni, a genetikának új ága van megszületőben. Mendel korától az 1970-es évek közepéig a különböző allélek csak akkor voltak felismerhetők és vizsgálhatók, ha fenotípusos variabilitást eredményeztek – magas és alacsony növény, vagy egészséges és hemofíliás ember – és az öröklésmenetet csak a különböző keresztezések eredményének, ill. a családfavizsgálatoknak az elemzésével lehetett megállapítani. Ezt a hagyományos megközelítést, ami a fenotípustól a géntermékén át visz el a lokuszhoz, ***forward genetics***-nek hívják. Amióta képesek vagyunk a DNS egyes darabjait izolálni, bázissorrendjüket meghatározni, sőt célzott mutációkat létrehozni ezekben (l. 18. fejezet), lehetővé vált azon lokuszok tanulmányozása is, melyeknek alléljei semmiféle megfigyelhető fenotípusos változást nem okoznak, sőt a hozzájuk tartozó géntermék és fenotípus teljesen ismeretlen. Ezt az új megközelítést, amelynek a lokusz azonosítása nem célja, hanem kiindulópontja, ***fordított genetiká***nak (*reverse genetics*) nevezték el. (Tulajdonképpen ez utóbbi jelenti a logikai úton egyenesen való végighaladást. A két fogalom értelmét mégsem cserélhetjük át, hiszen a történelmileg kialakult terminológia folytonos átigazítása fogalmaink megbízhatóságát veszélyeztetné.)

MITŐL ÓVAKODJUNK?

Amikor meg akarjuk határozni, hogy egy adott rendellenesség hogyan öröklődik, néhány dolgot nem szabad szem elől téveszteni.

(*1*) *Egyetlen családfa nem szolgálhat egy genetikai hipotézis meggyőző bizonyítékául*, jóllehet alkalmas lehet bizonyos lehetőségek kizárására. Vannak olyan, X-hez kötött recesszív öröklésmenetű jelleget bemutató családfák, amelyek egy, férfiakban dominánsként, nőkben recesszívként viselkedő autoszomális génnel is megmagyarázhatók. (A férfiak korai kopaszodásáért felelős gén feltehetőleg ilyen, l. 2. fejezet). Ezért szükséges

---

[2] Weinberg írta: „Engem legjobban az élet komplexitása döbbent meg, a bonyolultság, a kétmilliárd éve fejlődő mintázatok, az élő dolgok rendkívüli ötletessége. Még most is elképesztő számomra az a felismerés, hogy mennyire hasonlóak vagyunk a légyhez, a földigilisztához, és a beleinkben élő baktériumokhoz".

lehet több vizsgálat anyagának összegyűjtése és az adatok kifinomult matematikai módszerekkel való elemzése.

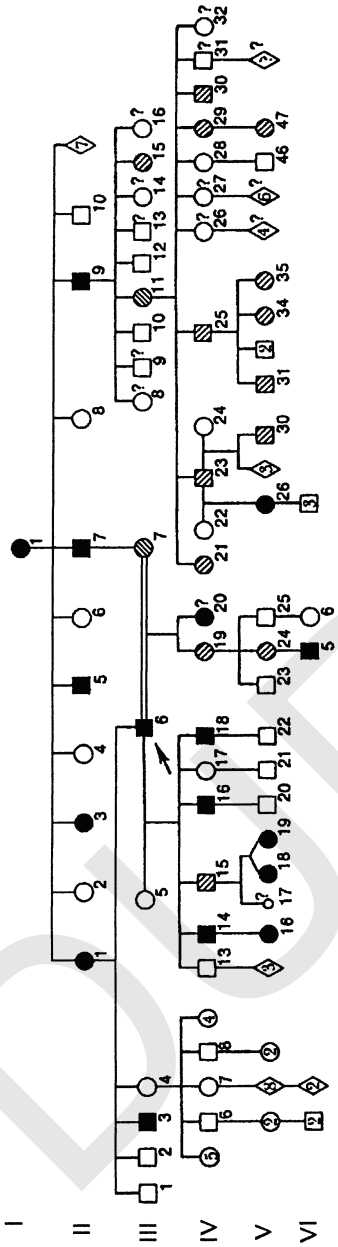
(*2*) Mivel különböző lokuszok mutációja esetenként nagyon hasonló fenotípusos változáshoz vezet, *egyes örökletes betegségeknek többféle öröklésmenete is lehetséges* (l. genetikai heterogenitás). A monogénesen öröklődő emberi fenotípusok McKusick-féle katalógusa számos olyan rendellenességet sorol fel, melyekről biztosan tudjuk (s továbbiakat, melyekről gyanítjuk), hogy legalább egy autoszomális és egy X-hez kötött változatuk is van. Ezen túlmenően *sok autoszomális rendellenességnek van domináns és recesszív öröklődésű formája.* Ilyen esetekben a betegség első diagnózisa nem mindig alkalmas az öröklés módjának megállapítására, és nagyon gondos klinikai és genealógiai utánvizsgálatokra van szükség ahhoz, hogy pontos diagnózishoz jussunk és korrekt genetikai információval szolgálhassunk az érintett családnak.

Mindezen okok miatt azon genetikusok, akik könyvekből ismerik a medicinát, s azon orvosok, akik csak könyvekből ismerik a genetikát csak nagyon óvatosan adjanak tanácsot feltehetőleg genetikai rendellenességektől sújtott családoknak. Jobban teszik, ha az ilyen pácienseket olyan szakemberekhez küldik tovább, akik mind az orvostudományban, mind a genetikában járatosak. Ezek a szakemberek valószínűleg jobban ismerik az ilyen családok különböző (pszichoszociális, orvosi és genetikai) problémáit, valamint a diagnózis és kezelés legújabb vívmányait.

Az alábbiakban összefoglaljuk a *monogénes (monolokuszos) öröklődés három leggyakoribb formájának* (autoszomális domináns, autoszomális recesszív és X-hez kötött recesszív) *a családfákon ill. családfavizsgálat során felismerhető legfontosabb jellemzőit.* Előfordul X-hez kötött domináns öröklődés is, de biztos példát nagyon keveset ismerünk, legalább részben azért, mert nehéz megkülönböztetni az autoszomális domináns öröklődéstől. (A két vagy több gén *kölcsönhatása* által meghatározott jellegek dacolnak az egyszerű analízissel; ezeket itt nem tárgyaljuk.)

Autoszomális domináns öröklődés: Brachydactylia

A 5.2. ábrán bemutatott családfán a ***brachydactylia*** egyik formájának öröklődését láthatjuk egy norvég családban, melynek őse (I-1) 1764-ben született. Az érintett személyek mutatóujja és nagylábujja rövidebb, mivel ezen ujjaik középső perce megrövidült vagy csaknem hiányzik (a görög ***brachys*** [*βραχυσ*], „rövid", és ***daktylos*** [*δακτυλοσ*], „ujj" szavakból). Egyes esetekben (vonalkázott szimbólumok a családfán) a páciens érintettsége oly csekély fokú, hogy gondos vizsgálat (beleértve a röntgen-felvétel készítését is) nélkül őt tünetmentesnek minősítették volna. Mint az az 5.3. ábrán meg-



figyelhető, súlyosabb esetekben (kitöltött szimbólumok a családfán) ezzel szemben a mutatóujjak feltűnő rövidségét, esetenként görbültségét láthatjuk, bár ez sohasem terjed odáig, hogy valóban mozgássérültséget okozna. (A rövidujjúság más típusaiban más ujjpercek, ill. az összes ujjperc érintettsége is előfordulhat.)

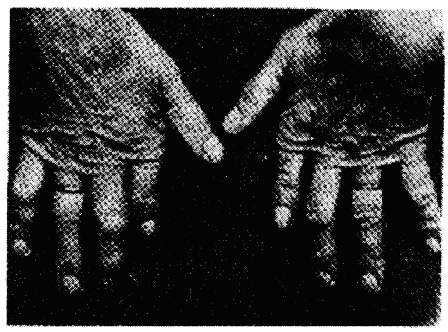
5.2. ábra. *Brachydactylia.* A rövidujjúság hat egymást követő nemzedékben jelent meg. Megemlítendő, hogy III-6 kétszer nősült, III-7 az első, III-5 pedig a második felesége volt. IV-20 feltehetőleg homozigóta volt.

A brachydactylia gyakorisága a teljes (európai) populációban kb. egy a millióhoz. ***Az ilyen ritka domináns tulajdonságok esetén minden érintett személyt heterozigótának tekintünk, hacsak szülei nem vérrokonok.*** Azért élünk ezzel a feltételezéssel, mert teljesen valószínűtlen, hogy pusztán a véletlen folytán egy második mutáns allél kerülne be a családba. A bemutatott családfán azonban IV-20 feltehetőleg homozigóta volt, mert szülei (III-6 és III-7) első unokatestvérek voltak. Mohr és Wriedt ezt a következőképpen írják le:

> Ezen második leány, aki egyéves korában meghalt, különös figyelmet érdemel. Minden jel arra mutat, hogy nyomorék, fejlődésre képtelen volt; de ezideig lehetetlen volt a rendellenesség pontos mibenlétét kideríteni ... mert a család tagjai szándékosan nem beszéltek róla, úgy gondolván, hogy a családban született nyomorékról nem kell beszélni. Ezt a gyakorlatot oly következetesen be-

DuPress

tartották, hogy még nővérének leánya sem tudott létezéséről. Az a kevés információ, ami igen alapos érdeklődésünk után rendelkezésünkre áll, mindössze ennyi: Fiú féltestvére... azt állítja, hogy ‚teljes csontrendszere rendellenes volt.' Leány féltestvére biztosan tudja, hogy ‚kezei és lábai, de legalábbis kéz- és lábujjai teljesen hiányoztak.'



5.3. ábra: *A 5.2. ábrán szereplő III-6 kezei, jelentősen megrövidült mutatóujjakkal.*

A családfa készítőinek munkáját megnehezítette a normálistól különböző családtagokról fellelhető korlátozott információ. Jellemző, hogy a családi feljegyzések készítője (II-7) nem tekintette fontosnak, hogy megemlítse a családfa kritikus tagját, saját unokáját (IV-20), akit pedig 14 évvel túlélt. Sajnálatos, de kevésbé különös, hogy egyszülött gyermekéről (III-7) sincsen információnk. Valószínűleg ez a leány volt az első heterozigóta a családban, akin a domináns allél hatása nem mutatkozott meg szembetűnően.

Ezen a családfán az autoszomális domináns öröklődés minden jellegzetessége látható – feltéve, hogy a domináns gén teljes, vagy csaknem teljes penetranciájú, azaz mindig kifejeződik, ha jelen van a genotípusban (l. 4. fejezet). Figyeljük meg, hogy:

(*1*) *Minden jelleghordozónak legalább egyik szüleje szintén érintett.* Ez így van ezen a családfán is, kivéve két esetet (III-7, III-11). Ez a két személy gyaníthatóan, de nem bizonyíthatóan rövidujjú volt.

Ennek a szabálynak a kiegészítéseként elmondhatjuk, hogy *egy megfelelő kiterjedésű családfán rendszerint minden nemzedékben találunk érintett személyeket.* Családfánkon a bemutatott hat nemzedékben 29 jelleghordozó heterozigótát találunk (az egypetéjű ikreket, akik egyetlen megtermékenyített petesejtből származtak, egynek számoltuk). Ezen túlmenően heterozigótaként számolhatunk a fentebb említett két személlyel, akiknek ujjhossza ugyan normálisnak volt tekinthető, de rövidujjú gyermekeik születtek.

(*2*) *Férfiak és nők körülbelül azonos számban érintettek*, ami az X-hez kötöttséget valószínűtlenné teszi, az Y-hoz kötődést pedig kizárja. Ez a szabály mind az egyértelműen, mind az enyhén érintettekre igaz.

(*3*) *Mind férfiak, mind nők átörökítik a jelleget.* Figyeljük meg, hogy mind I-1-nek, mind III-6-nak volt mindkét nembeli érintett utóda. A férfiról férfira való átörökítés az X-hez, a nő általi átörökítés az Y-hoz kötöttséget zárja ki.

(*4*) *Az érintett heterozigóták és fenotípusosan normális személyek házasságából körülbelül 1:1 arányban születnek jelleghordozó és normális fenotípusú utódok.* Ha a családfán szereplő összes ilyen házasságból származó utódot összeszámoljuk, 29 érintett és 25 normál személyt találunk. A fennmaradó 17 utód fenotípusa nem ismert.

(*5*) *Két egészséges szülő utódai között nem jelenik meg újra a jelleg,* hacsak a domináns allélt a rokonsághoz nem tartozó házastársak újra be nem viszik a családba. Figyeljük meg, hogy a jelleg eltűnt III-4 leszármazottai között.

(*6*) *A jelleg sokkal súlyosabb formában jelentkezhet a homozigótákban, sőt akár letális hatású is lehet bennük.* Vegyük figyelembe, hogy IV-20, az egyetlen lehetséges homozigóta a bemutatott családfán, súlyosan deformált volt és mindössze egyetlen évig élt.

A legtöbb családfa elemzését bonyolítja az a tény, hogy egy jelleg fenotípusos kifejeződése gyakran különböző mértékű egy-egy egyedben (l. 4. fejezet). Ezt mind a teljes genotípus különbözősége (beleértve a különböző módosító géneket is), mind pedig a különböző környezeti hatások okozhatják. Példánkban a csupán enyhén érintett személyek többségéről nem lett volna tudomásunk, ha Mohr és Wriedt beérte volna a családtagok visszaemlékezésével minden élő családtag személyes vizsgálata helyett. Ha a kérdés úgy vetődik fel, hogy hagyatkozhatunk-e „a még életben levő személyek több mint megkérdőjelezhető" emlékezőképességére, *néhány* generáció még élő *összes* tagjának vizsgálata rendszerint hasznosabb, mint a távolabbi nemzedékekre is kiterjedő, de hiányos vagy hibás információra támaszkodni.

Autoszomális recesszív öröklődés: Fibrosis cystica

A tizennyolcadik század óta vannak írásos feljegyzések arról a betegségről, amit ma ***cisztikus fibrózis***nak (*fibrosis cystica;* CF[3], angolul: *cystic fibrosis*) nevezünk, de csak az 1930-as évek vége felé sikerült önálló kórképként meghatározni. Ez a leggyakoribb letális autoszomális recesszív rendellenesség az európai népességben, így a gyermekkori halálokok között is vezető szerepet játszik. Korábban kevés érintett élte túl a kisgyermekkort; manapság a medián túlélés kb. 24 év, de a páciensek több mint 25 %-a megéri a 30 éves kort.

---

[3] Régebbi elnevezése: *mucoviscidosis*

Az 1930-as években tisztázták, hogy a CF örökletes betegség, autoszomális recesszív módon öröklődik, és főként európai származású fehéreket sújt. Gyakoriságát 1:500 és 1:3800 között becsülik a különböző fehér populációkban (hazánkban 1:2500); az USA-ban 2000 újszülöttből egy beteg, s a heterozigóták arányát 4-5%-ra teszik. A CF incidenciája[4] az afrikai eredetű amerikai népességben kb. 1:17 000, míg a Hawaii-n élő távolkeletiek között mindössze 1:90 000.

Komoly fejtörést okoz, hogy egy letális gén hogyan lehet ennyire gyakori, különösen azt figyelembe véve, hogy az érintettek közül csak kevesen hoznak létre utódot. Talán a CF mutáció azért maradt fenn, mert az egészséges hordozókra van valamilyen jótékony hatása – lehetséges, hogy valamely kórokozóval (pl. *Vibrio cholerae*-vel) szemben bizonyos fokú védelmet jelenthet (bár ezt nem sikerült minden kétséget kizáróan igazolni). Egy másik lehetőség az alapító hatás (*founder effect*) érvényesülése, amikoris néhány személy egy nem tipikus allélt visz be egy újonnan kialakuló kis populációba, s a ritka allél leszármazottaik között fennmarad (l. 19. és 21. fejezet).

KLINIKAI TÜNETEK ÉS KEZELÉS

A három vezető tünet az emésztő- és légzőrendszer súlyos működészavara, valamint az extrém sótartalmú izzadság. Ezek (s az egyéb tünetek) az exokrin mirigyek csökkent klorid- és nátriumion visszaszívására vezethetők vissza. Ennek eredményeként a mirigyek kivezető csöveit sűrű, ragacsos váladék tömeszeli el, visszafordíthatatlan károsodást, s ezáltal a különböző szervrendszerek hibás működését okozva.

A CF betegek mintegy 10%-át születésükkor fedezik fel, annak alapján, hogy belüket a túlságosan sűrű magzatszurok – egy gittszerű, emésztetlen fehérjét tartalmazó dugasz – zárja el (*meconium ileus*). A hasnyálmirigy csatornáinak elzáródásával az emésztőenzimei nem jutnak a vékonybélbe, a fehérje- és zsíremésztés tökéletlen lesz. A CF-ben szenvedő gyermekek falánkak lehetnek, mégis alultápláltak, s gyakran ürített, nagytömegű, bűzös székletük sok emésztetlen zsírt tartalmaz. A növekedésük gyakran visszamaradott. Az epe kivezetőcsövek elzáródása *cirrhosist* (májzsugor) okozhat.

A sűrű váladék felhalmozódása az alsó légutakban krónikus köhögéssel, elégtelen légzéssel jár, és fogékonnyá tesz (gyakran végzetes) bakteriális fertőzésekre. A verejték- és nyálmirigyek kivezető csöveit bélelő hámsejtek nátrium- és klorid-reabszorpcióra való alkalmatlansága a verejték extrém sótartalmát idézi elő (a sókoncentráció kb. a normális ötszöröse); ez a CF legmegbízhatóbb klinikai jele. Az utóbbi évtizedekben a diagnózisban és kezelésben bekövetkezett hatalmas fejlődés ellenére sok CF beteg még mindig élete első éveiben áldozatul esik ennek a betegségnek. Még mindig nincs remény arra, hogy meg tudjuk gyógyítani ezt a *„krónikus, engedetlen kórt. A betegek és szüleik*

[4] Incidencia: az egy adott időperiódusban újonnan kezdődő betegségi esetek vagy megbetegedő személyek gyakorisága egy meghatározott lakosságcsoport körében.

számára a cisztikus fibrózis diagnózisa még mindig olyan ítélet marad, ami boldogtalan serdülőkoron át vezet a szomorú, elkerülhetetlen véghez." A tünetek kezelésével mégis javítható és meghosszabbítható valamelyest a betegek élete. Felnőtt CF betegben a légzőrendszeri tünetek általában súlyosbodnak, bár ma már van olyan gyógyszer, amivel a viszkózus váladék elfolyósítható. A légzést a testgyakorlás, a váladék kiürülését pedig a felsőtest gyakori ütögetése hívatott elősegíteni. Az emésztési nehézségek szájon át szedett hasnyálmirigy-enzimekkel jól kontrollálhatók, emellett magas fehérje- és alacsony zsírtartalmú diéta is segít enyhíteni őket. A CF-ben szenvedő férfiak több mint 95%-a steril a herecsatornák károsodása következtében; az érintett nők termékenysége is csökkent (egy ötödük meddő, mivel a méhnyak nyákja olyan sűrű, hogy a hímivarsejtek képtelenek áthaladni rajta). Betegsége ellenére sok felnőtt CF páciens megházasodik, és (korai) halálának bekövetkeztéig tevékeny életet él.

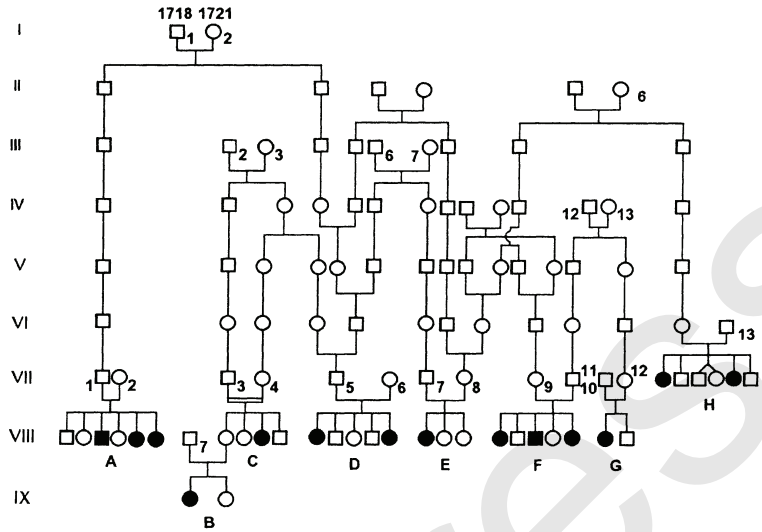
CSALÁDFÁK

Az autoszomális recesszív öröklődés tipikus vonásait két családfa segítségével mutatjuk be. Az 5.4. ábrán bemutatott családfa Bretagne északi részén készült, ahol a cisztikus fibrózis gyakori (1:377), és a populáció meglehetősen izolált és stabil, létszáma az elmúlt százötven évben alig változott. Az 5.5. ábrán egy hopi indián családban az albinizmust (l. 6. fejezet) kísérhetjük nyomon.

Ez a két családfa még nem elegendő az autoszomális recesszív öröklésmenetre jellemző általános szabályszerűségek maradéktalan bemutatására, hiszen a nagy számú utód esetében elvárható arányokat ilyen kis egyedszámú mintán ritkán találjuk meg és a hopi indián családban kevés generáció adatai állnak rendelkezésünkre, de a legtöbb jellemző vonást ezen családfák is mutatják.

(*1*) A legtöbb érintett személynek mindkét szülője egészséges. Ez arra utal, hogy a jelleg szeszélyesen és megjósolhatatlanul bukkan föl az adott családban. Valójában az ilyen gének láthatatlanul adódnak tovább sok-sok nemzedéken át a normális fenotípusú heterozigótákon keresztül. A jelleg csak akkor manifesztálódik, amikor két egészséges heterozigótának beteg gyermeke születik. A példaként bemutatott Bretagne-i családfán mind a 14 érintett személy egészséges szülőktől származott, s a családban öt-hat nemzedéken át nem jegyezték fel CF esetek előfordulását. Az albinizmus esetében is leggyakrabban két heterozigótának születik érintett gyermeke, de a hopi indiánoknál találunk két albínó szülőtől származó érintett utódot is. Ha a recesszív jelleg nem számottevően befolyásolja negatívan az egyén életképességét vagy nemzőképességét, akkor nagyobb gyakorisággal találhatunk két érintett szülőtől származó utódokat a családfán.

5.4. ábra: *A fibrosis cystica öröklődése egymással rokonságban lévő családokban (A-*

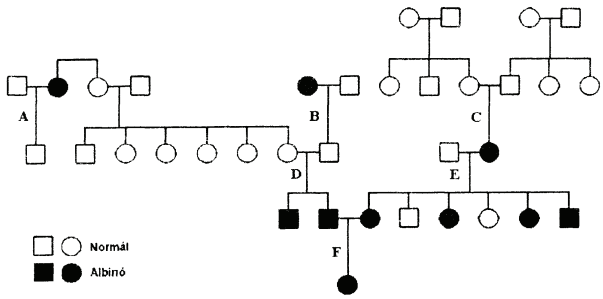


H). A családtagok kikérdezésével és az anyakönyvek tanulmányozásával hat-nyolc nemzedékig lehetett visszavezetni ezeket a családokat, s legalább öt alapító házaspárt találtak (I-1 és I-2, II-5 és II-6, III-2 és III-3, III-6 és III-7, valamint IV-12 ésIV-13). Egyetlen ismert rokonházasság fordult elő, a VII. nemzedékben.

(*2*) A jelleg mindkét nemben kifejeződik, s a gént mindkét nemű szülő továbbadja fiainak és leányainak egyaránt, nagyjából azonos számban. A bemutatott CF családfán 12 beteg nőt és csak 2 érintett férfit láthatunk – nyilvánvalóan ez extrém nemi arány, de feltehetőleg csak a véletlen következménye, mert egy Észak-Bretagne-ban végzett másik felmérésben 16 beteg fiút és 18 érintett leányt találtak. A hopi indián családban is több albínó nő van, mint albínó férfi, de a lényeg, hogy mindkét nem esetében találhatunk érintetteket. A gént szemlátomást mindkét nembéli heterozigóta hordozók átörökíthetik.

(*3*) A fenotípusosan egészséges hordozók házasságából egészséges és beteg gyermekek egyaránt születnek, kb. 3:1 arányban. A bemutatott Bretagne-i CF családfán nyolc olyan házaspárt találunk, akik biztosan heterozigóták; 32 gyermekük közül 14 volt beteg. Első pillantásra túl sok a CF beteg, vagyis a várt 8 helyett 14. Az ilyen családfákon azonban mindig több beteget találunk az elméletileg várhatónál, mert csak azokat a heterozigótákat ismerjük fel, akiknek legalább egy beteg gyermekük született. Ezen túlmenően az olyan családok, melyekben nagyobb a betegek száma, nagyobb valószínűséggel keresik fel az orvost. Amint azt a 4. fejezetben részletesebben is kifejtjük, azon heterozigóta szülők, akiknek történetesen nem születik beteg gyermeke, nem kerülnek az orvos szeme elé; azok az egészséges gyermekek, akiknek mindkét szülője heterozigóta, helytelen módon nem kerülnek be a felmérésünkbe. Másrészről minden CF homozigótát

könnyű felismerni. A hopi indián családfán a C és D család heterozigóta szülőpárjainak csak albínó gyermekei születtek, de ilyen kis számú utód esetében nincs értelme a 3:1 arányt elvárni.



5.5. ábra. *Az albinizmus öröklődése hopi indián családokban.* A nagybetűvel jelölt családokban ismert a szülők genotípusa.

(*4*) Ha a jelleg ritka, a beteg normális fenotípusú heterozigóta szülei valószínűleg rokonai egymásnak. Ilyen esetekben a mindkét szülő által hordozott recesszív allél rendszerint egy közös őstől származik (l. 20. fejezet). Ezen a Bretagne-i családfán a C család két távoli rokon házasságából származott, akik mindketten feltehetőleg ugyanattól a közös őstől (III-2-től vagy III-3-tól) örökölték a mutáns CF allélt. A hopi indiánok esetében nem ismerjük a szülők felmenőit, így közös őst sem találhatunk, de mivel egy aránylag kis létszámú népről van szó, melynek tagjai ősi lakóhelyeiket megőrizve élnek Észak-Arizóna sivatagos vidékén, ezért feltételezhetően létezik az a közös ős, akitől a családfán lévők recesszív alléljai származhatnak. Mivel az albínó fenotípust nem egyetlen recesszív allél alakíthatja ki, ezért ez a feltételezés gyenge lábakon áll.

(*5*) Beteg és egészséges személyek házasságából rendszerint csak egészséges gyermekek származnak. Ez abból adódhat, hogy az egészségesek között jóval gyakoribbak a homozigóta dominánsok, mint a heterozigóták. Beteg gyermekek csak akkor születhetnek, ha az egészséges szülő heterozigóta. CF családfákon ilyen házasságokat ritkán találunk, hiszen a CF férfiak sterilek, s az érintett személyek élettartama megrövidült; mindazonáltal leírták néhány CF nő terhességét. Az albinizmus nem okoz sterilitást. Az albínók és normál fenotípusúak közös utódai között találunk albínókat. L. a hopi indiánoknál az A, B és E családot.

(*6*) Ha mindkét szülő érintett, minden gyermekük beteg lesz. (Autoszomális domináns jelleg esetén ez másként van: két beteg szülőnek lehet egészséges gyermeke.) A fentebb említett okok miatt ilyen házasság CF betegek esetében nem fordul elő, de meglehetősen gyakori pl. süketnémák között. Az albínók között sem lehetetlen, mint az a hopi indián F családnál is látható.

PUFFER

MOLEKULÁRIS GENETIKA

A kutatók sokáig nem tudták, hogy mi a CF gén terméke, ill. hogy pontosan mi a géntermék funkciója. A válasz ezekre a kérdésekre még ma sem teljes, de a fordított genetikai megközelítés a CF esetében is lehetővé tette a gén izolálását és ezután a géntermék azonosítását. A vizsgálatok szerint az alapvető defektus az, hogy a klorid ionok nem képesek penetrálni az exokrin mirigyeket bélelő speciális hámsejtek membránját. A vizsgálatok szerint a CF sejtek membránjában levő klorid csatornák normálisan működnek, a CF géntermék a CFTR (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*) protein ezen klorid csatorna-fehérjék szabályozására ("gating") hat és egyben maga is Cl^- csatornaként működik. Újabb vizsgálatok szerint a fehérje részt vesz az exo- és endocitózis szabályozásában és ezáltal a sejt számára fontos fehérjék sejtfelszínre szállításában is.

1985-ben sikerült a CF lokuszt a 7. kromoszóma hosszú karjára (7q31) lokalizálni, s közvetlen szomszédságában RFLP (l. 18. fejezet) és más markereket találni. Ezek s más eredmények nagyban fokozták a prenatális diagnózis pontosságát s először tették lehetővé a CF családokban a hordozók felismerését. A gén nagy (27 exonból áll; kb. 250 kbp), terméke 1480 aminosavból álló membránfehérje. A CF betegek kb. 70%-ában az 508. fenilalanint kódoló triplet delécióját mutatható ki (jele: ΔF508). A fennmaradó kb. 30%-ért közel 700 különböző mutáció felelős.

A HOMOZIGÓTÁK ÉS HORDOZÓK FELISMERÉSE

Ha bármely betegség heterozigótáinak vagy homozigótáinak kiszűrésére kell módszereket kidolgozniuk, a kutatóknak mindig különböző sürgősségi szinteket kell figyelembe venniük.

(*1*) A legsürgősebb olyan módszer kidolgozása, amivel azon magas kockázatú családokban, melyekben már született beteg gyermek (s így, az öröklésmenettől függően, egyik vagy mindkét szülő heterozigóta volta igazolódott) az újabb gyermekek érintettsége születésük előtt, vagy megszületésük után kimutatható.

(*2*) A sürgősség következő szintje a magas kockázatú családok közeli rokonainak (testvérek, nagybácsik, nagynénik) vizsgálatára alkalmas módszerek kidolgozása. Ebben az esetben a rokonokról mindaddig nem tudható, hogy heterozigóták-e, míg beteg gyermekük nem születik. A kihívás kettős: a heterozigótákat azelőtt kell kiszűrni, mielőtt beteg gyermekük születne, s a homozigótaságot is még a magzati korban kell megállapítani, ha ez lehetséges.

(*3*) Viszonylag gyakori és letális vagy nagyon súlyos örökletes betegségek esetében, különösen ha hatékony gyógymód is ismeretes, megfontolható a teljes népesség szűrővizsgálata is.

Jelenleg a CF kimutatására szolgáló módszerek a 2. szintig jutottak el, bár néhány próbálkozás már történt szűrővizsgálatokkal is. (A szűrés legnagyobb nehézségét a betegség heterogenitása okozza a lehetséges mutációk igen nagy száma miatt.) Noha a cisztikus fibrózis szűrésére hazánkban még nincs országos szűrőprogram, az újszülöttkori heterozigóta-szűrés és a klinikailag gyanús esetek molekuláris diagnosztikája lehetséges a leggyakoribb (és néhány ritkább) mutáció PCR-rel történő kimutatásával szűrőpapírra vett csepp vér felhasználásával. A betegség prenatális diagnózisát arra alapozzák, hogy az érintett magzatok bélcsatornájából a *meconium-ileus* (l. fentebb) miatt kevesebb emésztő enzim ürül a magzatvízbe, így ezek szintje a normálisnál alacsonyabb. (Az alkalikus foszfatáz aktivitásának mérése magas kockázatú házaspárok érintett magzatainak a kiszűrésére alkalmasnak látszik, de túl bonyolult és drága, továbbá nem elég megbízható ahhoz, hogy tömeges szűrővizsgálatokra használják.)

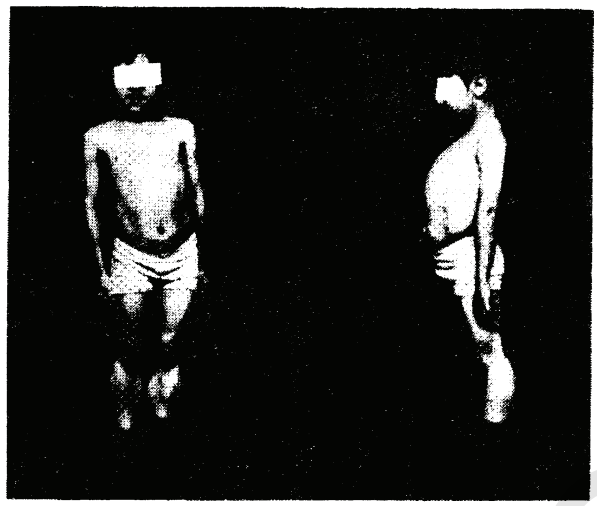
X-hez kötött recesszív öröklődés: Duchenne és Becker féle izomsorvadás

Minden izomdisztrófia az izomszövet fokozatos gyengülésével és sorvadásával jár, s mindegyik örökletes, de a klinikai tünetegyüttes, a molekuláris hiba és az öröklésmenet nagyon változatos.

KLINIKAI TÜNETEK

A legsúlyosabb és sajnos leggyakoribb ezen szindrómák közül a *dystrophia musculorum progressiva* Duchenne típusa, a ***Duchenne-féle izomsorvadás (DMD)***. Nevét első leírójáról kapta. A DMD 100%-os penetranciájú, X-hez kötött recesszív öröklődésű betegség, aminek születéskori gyakorisága kb. 1:2600-2700 a fiú-újszülöttek között. Mint a CF esetén, a DMD kapcsán is nehéz megmagyarázni, hogy miért maradt fenn a populációban ilyen magas gyakorisággal. A heterozigótaság gyakorisága 1:2000 nő, ennek alapján alacsonyabb újszülöttkori gyakoriság lenne várható. Azonban az összes eseteknek kb. egyharmada új mutáció következménye, azaz az anya nem heterozigóta hordozója a mutáns allélnek.

DUPress



5.5. ábra: *Hétéves, Duchenne-féle izomsorvadásban szenvedő fiú.* Lábikrája megvastagodott, testtartása jellegzetesen görbült. Az alsó bordák és a csípő közötti távolság csökkent.

„Az első tünetek általában 6 éves kor előtt jelentkeznek, s 12 évesen a kór már tolókocsihoz köti a beteget, aki 20 éves korára meghal" (McKusick leírása). A betegek többsége szellemileg enyhén visszamaradott, bár vannak közöttük normális, sőt kiemelkedő intelligenciájúak is. Az első és gyakran észre nem vett tünet a csípő- és medenceizmok gyengesége és fokozatos sorvadása, ami bizonytalan, kacsázó járásban, a lépcsőjárás és székből felállás nehézségében nyilvánul meg. Bár gyengék, a lábszár izmai észrevehetően vastagabbak a szokásosnál. Ez a kötő- és zsírszövet felszaporodásával magyarázható. Ahogy a degeneráció és gyengeség ráterjed a törzs és a vállöv izmaira, a gyermek testtartása jellegzetesen görbe lesz (5.5. ábra), nehézségei támadnak egyensúlya megtartásában, s gyakran elesik. Az Achilles-ín fokozatosan zsugorodik, ezért a gyermek lábujjhegyen kezd járni. Később a csípő, a térd és a könyök inai is zsugorodnak, s a gerinc fokozódó görbülete (scoliosis) összenyomja a belső szerveket és zavarja működésüket. Gyakoriak a szívműködési zavarok, legyakrabban *tachycardia* (túl szapora szívműködés), ami nemritkán hirtelen halált okoz. A szívizomzat fibrózisa és a szív megnagyobbodása is előfordul. A beteg halálát általában légúti fertőzés vagy a rekeszizom érintettsége miatt kialakuló légzési elégtelenség okozza.

Hasonló, de ritkább a ***Becker-féle izomdisztrófia (BMD).*** Bár az izomszövet elváltozásait tekintve a BMD a Duchenne-féle formával azonosnak látszik és szintén recesszívként írták le, a teljes fenotípus sokkal változatosabb és jobbindulatú - a tünetek később jelentkeznek, a progresszió lassúbb, az értelmi funkciók kevésbé vagy nem érintettek, s a várható élettartam sokkal hosszabb. Mára már tudjuk, hogy ugyanazon lokusz defektjéről van szó, de a mutáció jellege más.

Sem a DMD, sem a BMD nem gyógyítható. Az egyetlen, amit az orvos tehet, hogy igyekszik lassítani az izomerő elvesztését és az ízületi deformitások kialkulását, így a beteg tovább marad járó-, majd ülőképes. A kezelés része a fizikoterápia, könnyű sín és rögzítő kötés alkalmazása, a légúti fertőzések leküzdése.

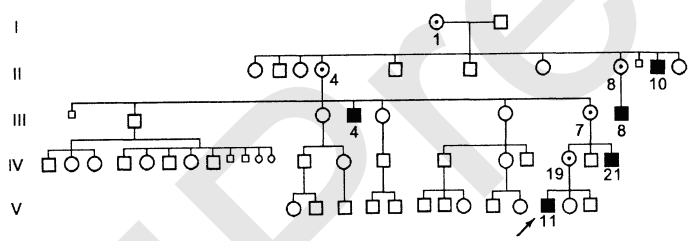
DUPLICATE

CSALÁDFÁK

Az alábbiakban felsoroljuk az X-hez kötött recesszív öröklődés jellegzetességeit; ezek közül sok a 5.6. ábrán is megfigyelhető.

(*1*) *Ha a gén ritka, sokkal több az érintett férfi, mint a nő.* Példánkban a családfán 5 beteg férfivel szemben egyetlen érintett nőt sem találunk. (Ismert néhány példa, amikor a DMD teljes tünetegyüttese kifejlődött egy leánygyermeken, de ezek az esetek az X kromoszóma valamilyen rendellenességével, vagy az X-inaktivációval függnek össze).

(*2*) *A jelleget az apa sohasem örökíti át fiára. A fiúk hibás génjüket anyjuktól öröklik,* aki fenotípusosan általában normális, de lehet beteg apja, fivére vagy (anyai) nagybátyja. Az 5.6. ábrán mind az öt beteg fiú anyja egészséges, de négyőjüknek (II-4, II-8, III-7 és IV-19) van beteg fivérük, ill. nagybátyjuk. Mivel a DMD-ben szenvedő fiúk általában képtelenek a gyermeknemzésre, utódaikról nincs mit mondanunk, de más X-hez kötött recesszív jellegek (pl. vörös-zöld színtévesztés) esetében a jelleghordozó apák fiai mindig egészségesek, lányaik pedig heterozigóta hordozók (*carrier*).



5.6. ábra: *Duchenne-féle izomsorvadás családfája*

(*3*) *A heterozigóta (carrier) anyák fiainak kb. fele egészséges, fele érintett.* Családfánkon az ismert hordozó anyák (I-1, II-4, II-8, III-7 és IV-19) élveszületett gyermekei között 6 egészséges és 5 beteg fiú volt. Bár ezek a számok túl alacsonyak a fenti megállapítás igazolására, megfelelnek a várt aránynak. (Amikor a kutatók adatokat gyűjtenek, figyelembe kell venniük a fentebb említett tényt: azok a heterozigóta anyák, akiknek nem született beteg fia, elkerülik a figyelmüket [l. 4. fejezet]).

(*4*) *A heterozigóta nők és egészséges férfiak házasságából származó leányok mind egészségesek, de kb. 50%-uk heterozigóta (carrier) lesz.* Mivel a heterozigótákat csak arról ismerjük fel, hogy beteg fiuk vagy hordozó leányuk születik, a leányutódok genotípusa bizonytalan, s fogalmunk sem lehet a gyermektelen nők genotípusáról. (Természetesen ez a megállapítás nem igaz az olyan esetekre, amikor laboratóriumi módszereink vannak a heterozigótaság kimutatására.)

DUPress

(*5*) *Beteg férfi és homozigóta egészséges nő házasságából csak egészséges gyermekek születnek, de leányaik mind hordozók lesznek.* Mivel a DMD-ben szenvedőknek nem születik gyermekük, ezen a családfán ezt nem tudjuk bemutatni, de a vérzékenység, még inkább a vörös-zöld színtévesztés bőségesen szolgál példával.

(*6*) *Esetenként a hordozó nő is mutathatja egy X-hez kötött recesszív kórkép egyes tüneteit.* A DMD-re heterozigóta nők mintegy 20%-án kimutatható bizonyos fokú izomgyengeség. Ennek az oka a ***lyonizáció*** (az egyik X kromoszóma inaktiválódása, l. 10. fejezet). Ha történetesen egy nő valamely, az illető betegség szempontjából fontos szövetében sok olyan sejt lesz, amelyben az aktív X kromoszóma a mutáns allélt hordozza, az illető nő részben (vagy nagyon ritkán teljes kifejlődésükben) mutathatja azokat a tüneteket, melyeket egyébként csak férfiakon láthatunk. Valójában minden, valamelyik X-hez kötött génre heterozigóta nő ***mozaik***: szöveteiben különböző arányban fordulnak elő az egyik, ill. másik X kromoszómát aktívan megőrzött, vagyis az egyik vagy másik allélt expresszáló sejtek.

A kutatók esetenként a lyonizáció vizsgálatával kaphatnak választ arra a kérdésre, hogy egy enzimet kódoló gén X-hez kötött-e. Ezt úgy érik el, hogy biztosan heterozigóta nőktől szövetmintákat vesznek (fibroblasztokat, vagy fehérvérsejteket), s az egyedi sejtekből telepeket növesztenek. Ezután minden sejttelepet megvizsgálnak, hogy termeli-e az adott enzimet. Ha egyes telepek termelik, míg mások nem, a gén X-hez kötött. Ha azonban minden kolónia azonos fenotípusú, a génről nem dönthető el, hogy X-hez kötött-e.

MOLEKULÁRIS GENETIKA

A tudósok évtizedek óta vitatták, hogy a DMD elsődleges defektusa vajon az izmokat, az idegeket, vagy az ezeket ellátó ereket érinti-e. A Duchenne-féle izomsorvadásban szenvedők izmainak vizsgálata az izomrostok jelentős részének elvesztését, s a megmaradó izomrostok változó méretét mutatta ki, melyhez jelentős zsír- és kötőszövetes beszűrődés társul. A pusztuló izmokból felszabaduló enzim, a *kreatin foszfokináz (CPK)* a vérsavóban a normális koncentráció 20-50-szeresét éri el.

A DMD gén detektálása az 1980-as évek elején vált lehetségessé. A kutatók három megközelítést alkalmaztak: Duchenne-féle izomsorvadásban szenvedő, nagyon ritkán előforduló nőket[5] és az X kromoszóma delécióját mutató beteg fiúkat vizsgáltak, továbbá

[5] A Duchenne-féle izomdisztrófia tipikus tüneteit esetenként mutató néhány nőbeteg kariogramja mindig tartalmazott egy transzlokációs kromoszómát. Bár mindezen nőknek volt egy hibátlan X kromoszómájuk, annak normális DMD allélje nem fejeződött ki. Megfigyelések szerint, ha X kromoszóma:autoszóma transzlokáció van jelen, a normális X kromoszóma mindig inaktív.

DMD lokusz környezetébe lokalizálható genetikai markereket kerestek. Az X kromoszóma a DMD-s nőkben és fiúkban is mindig ugyanazon a szakaszon szenvedett törést: a DMD lokusz az X kromoszóma p21 régiójára lokalizálódik (ez a terület a rövid karnak kb. 20%-át teszi ki).

A DMD lokusz környezetében lévő marker gének kereséséhez humán–rágcsáló hibrid sejtvonalakat és a molekuláris biológia számos mesterfogását felhasználva a kutatók azt találták, hogy a DMD lokusz az ornitin-transzkarbamiláz enzim (OTC) kódolásáért felelős gén szomszédságában, a krónikus granulomatózis (*chronic granulomatous disease*, CGD) génjének közelében helyezkedik el.

Szerencsés áttörést tett lehetővé az a beteg, akinek a DMD és a krónikus granulomatózis betegség mellett három másik X-hez kötötten öröklődő jellege is volt, emellett az X kromoszómája rövid karján is volt egy akkora deléció az Xp21 régióban, ami mindegyik lokuszt érinthette. A DNS hibridizáció módszerével (l. 18. fejezet) a kutatóknak sikerült megtalálni az X kromoszóma hiányzó részét. Ezután a DMD lokuszt úgy azonosították, hogy az ennek megfelelő normál DNS próbát olyan fiúk DNS-éhez hibridizálták, akik *csak DMD-ben* szenvedtek. A DMD lokuszt 25 kutatócsoport nemzetközi együttműködésben (a tanulmányt 1986-ban Kunkel 76 társszerzővel együtt közölte) 1346 Duchenne- vagy Becker-féle izomsorvadásban szenvedő fiú DNS próbáinak vizsgálatával tanulmányozták. A molekuláris genetikai vizsgálatok szerint a DMD génje hatalmas, amely a különböző betegekben más-más pontjain hibás. Az esetek legalább 60%-ában nem bázispárcsere, hanem a gén egy hosszabb szakaszának deléciója áll a rendellenesség mögött. 2,3 millió bázispárjával a DMD az eddig ismert legnagyobb gén.[6] A deléció mérete és a betegség súlyossága között nincs egyértelmű összefüggés.

A DISZTROFIN

A DMD gén által kódolt fehérje megtalálásához kihasználták azt a felismerést, hogy az X-hez kötött gének minden emlősben nagymértékben konzerváltak, csaknem azonosak. Az újonnan izolált emberi DMD/BMD DNS különböző darabjait használva próbaként, egér X kromoszómákból homológ darabokat izoláltak, ezáltal az ismeretlen fehérjetermék egyes részeinek aminosav-sorrendjét és szerkezetét is meg tudták jósolni. Ezután normál emberi és egér izomsejtek kivonatából izolálták az ép DMD/BMD fehérjét. Erre olyan ellenanyagokat használtak, amiket az ismert rövid fehérje-töredékek ellen termeltettek kísérleti állatokban.

A korábban ismeretlen fehérjét ***disztrofin***nak nevezték el. Ez az egészséges egyedek izomsejtjeiben található, a sejtmembránhoz a citoplazma felöl glikoproteinek komplexén keresztül asszociált fehérje a citoszkeletális aktin filamentumokat közvetetten az extra-

---

[6] A disztrofin az eddig ismert legnagyobb fehérje, peptidlánca kb. 500 kDa, mRNS-e 14 000 bp hosszú. Génje más nagy emberi géneknél – mint pl. a VIII. véralvadási faktoré – még mintegy tízszer nagyobb, több mint 60 exonja van, melyek azonban a gén hosszának csak 1%-át teszik.

celluláris mátrixszal kapcsolja össze. A DMD-s betegek izmaiból a disztrofin csaknem mindig hiányzik, míg a BMD-ben szenvedőkben megváltozott (abnormális) formában van jelen.

A DMD gén minimum öt független promoterének és az alternatív átszabásnak köszönhetően a fehérjének több, részben eltérő szerkezetű izoformája van a különféle szövetekben és az egyedfejlődés különböző stádiumaiban. Így pl. az agyban alternatív promoter és alternatív átszabás miatt az izom disztrofinjától több szakaszon is különböző géntermék a neuronok posztszinaptikus membránjának receptorait kihorgonyozva a szinapszis stabilizálásában játszik szerepet. A DMD lokusz géntermékének szerkezeti sokfélesége számos különböző funkcióra utal, amelyek némelyike még egyelőre tisztázatlan.

A HEMIZIGÓTÁK ÉS A HORDOZÓK FELISMERÉSE

Korábban a heterozigóták felismerésére egyetlen mód nyílott: vérük CPK (kreatinfoszfokináz) enzimszintjének meghatározása. A biztosan azonosított heterozigóták kétharmadának enzimaktivitása meghaladta a 95 percentilist.[7] Ezen túlmenően a hordozók mintegy 80%-ának megvastagodott a vádlija, kb. 8%-uk valamilyen fokú izomgyengeséget mutat, míg többeknek más szérum- és izomrendellenességeik vannak.

Sajnos a megemelkedett CPK szint az érintett fiúgyermekekben születésük előtt nem mutatható ki megbízhatóan. Így 1982-ig az érintett családokban az egyetlen lehetőség a születendő magzat nemének vizsgálata volt, az összes fiúmagzat esetén művi vetéléssel, holott közülük 50% egészséges lehetett volna!

Ma már a DMD lokusz környezetében lévő RFLP markereket és a DMD gén egyes szakaszait felhasználva 95-100%-os biztonsággal lehet azonosítani a hordozó nőket és az érintett magzatokat a legtöbb *ismert* DMD-s családban. A hordozók magzatainak prenatális vizsgálatával azonban sohasem fogjuk tudni kiszűrni az összes új DMD-s beteget, mivel az esetek kb. 30%-a új mutáció eredménye, vagyis ezen betegek anyja mentes a DMD géntől. Mi lehet ennek a magas mutációs rátának az oka? A gén kolosszális mérete lehet az egyik tényező. Arra is vannak adatok, hogy a génnek legalább egy szakasza mutációs forró pontként viselkedik: különösen gyakori itt a deléció és a kromoszómatörés. Ez ismétlődő, azonos bázissorrendű szakaszokra vezethető vissza, ui. a két ismétlődő szakasz molekulán belüli rekombinációja a közöttük levő DNS-darab kivágódását okozza.

---

[7] Percentilis: a statisztikában használt fogalom. Ebben az esetben a 95 percentilis az az enzimaktivitás-érték, aminél magasabbat csak a vizsgált személyek 5%-ában mértek.

Ha megbízható és relatíve olcsó teszt állna rendelkezésünkre, magas mutációs rátája miatt nagyon tanulságos lenne minden újszülött (s nem csak a nagy kockázatú családokban születettek) DMD státuszát megvizsgálni. A más örökletes kórképek születéskori diagnózisa céljára minden újszülöttől levett (szűrőpapíron beszárított) vérmintából például el lehetne végezni a CPK-meghatározást. Bár nem rendelkezünk hatásos gyógymóddal, az ilymódon kiszűrt csecsemők családját genetikai tanácsokkal láthatjuk el, s ezáltal megadhatjuk nekik a későbbi terhességekkel kapcsolatban a választás lehetőségét.

Összefoglalás

(*1*) Az adatgyűjtés nem könnyű feladat. Az adatok értelmezése is nehéz lehet, különösen ritka jellegek esetén.

(*2*) Egyes jellegek öröklődése a családfákon jól felismerhető szabályokat követ. Az egyszerű öröklésmenetek leggyakoribb formái emberben (is) az autoszomális domináns, autoszomális recesszív és az X-hez kötött recesszív.

(*3*) A teljes penetranciájú autoszomális domináns jellegek nem hagynak ki nemzedéket. Mindkét nemben kifejeződnek és mindkét nemű szülő átörökítheti őket (apáról fiúra is átadhatók).

(*4*) Az autoszomális recesszív jellegek gyakran nem jelennek meg minden nemzedékben, s az érintettek többnyire egészséges szülőktől származnak. Nagyon ritka jellegek esetén a beteg gyermek egészséges szülei általában vérrokonok. Mindkét nemben kifejeződnek és génjüket mindkét nemű szülő átörökítheti (apáról fiúra is átadhatók).

(*5*) Az X-hez kötött recesszív jellegekre is jellemző a nemzedékugrás, de férfiakat gyakrabban érintenek, mint nőket, s a két nem eltérően örökíti őket. Apáról fiúra sohasem adódnak át, a fiúk heterozigóta anyjuktól öröklik a hibás gént (anyjuknak általában vannak beteg férfi- és hordozó nőrokonaik). A lyonizáció miatt az egészséges hordozóktól vett szövetminta kétféle fenotípusú sejtet tartalmazhat, s esetenként a hordozó nő enyhébb-súlyosabb tüneteket mutathat.

(*6*) Egyes öröklődő rendellenességeknek többféle öröklésmenete is lehetséges, vagy az okozó mutáció molekuláris alapja lehet különböző. Emiatt (de más okok miatt is) genetikai tanácsadással csak az foglalkozzon, aki mind az orvostudományban, mind a genetikában kellően járatos.

Pro Press

(*7*) A rövidujjúság viszonylag enyhe autoszomális domináns öröklődésű rendellenesség. Sem a gén lokalizációja, sem terméke nem ismert.

(*8*) A cisztikus fibrózis viszonylag gyakori letális betegség. Allélje a 7. kromoszóma hosszú karján található, s autoszomális recesszív módon öröklődik. Valószínűleg az exokrin mirigyek kivezetőcsatornáiban folyó kloridtranszport szabályozásában van zavar.

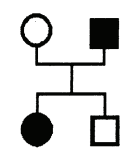
(*9*) A Duchenne-féle izomdisztrófia az X kromoszóma rövid karján lévő recesszív letális gén következménye. A betegek 60%-ában ebben a hatalmas génben deléció mutatható ki. A disztrofinnak elnevezett géntermék hiányzik a betegek izomsejtjeinek membránjából. A DMD-nek látszó esetek mintegy öt százalékáért nem az X kromoszómán lévő, hanem egy autoszomális lokusz felelős.

Kérdések

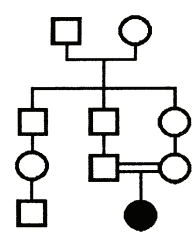
(*1*) (a) Írja le egy teljes penetranciájú, X-hez kötött ritka domináns gén öröklődésének jellegzetességeit és azt, hogy ez miben különbözik az autoszomális domináns öröklésmenettől! (b) Mi a helyzet, ha a gén a hemizigóta fiúmagzatok halálát okozza (letális)?

(*2*) Milyen jellegzetességei vannak az Y-hoz kötött öröklődésnek?

(*3*) a/ Milyen öröklésmenet(ek) egyeztethető(k) össze az alábbi családfával, ha a vizsgált jelleg ***ritka***? b/ Milyen öröklésmenet(ek) egyeztethető(k) össze az alábbi családfával, ha a vizsgált jelleg ***gyakori***?



(*4*) Milyen öröklésmenet(ek) egyeztethető(k) össze az alábbi családfával?



DUPress

Válaszok

(*1*) a/ Nemzedékkihagyás nincsen, több a jelleget mutató nő, mint a férfi, de a (heterozigóta) nők érintettsége kisebb fokú, mint a (hemizigóta) férfiaké. Egészséges nő és beteg férfi házasságából született leányok mindig betegek, míg a fiúgyermekek mindig egészségesek. Beteg nő és egészséges férfi házasságából mind beteg fiúk, mind beteg leányok születhetnek. A beteg férfiak anyja mindig beteg. Nehéz megkülönböztetni az autoszomális domináns öröklődéstől; a döntő különbség a beteg férfiak gyermekeinek fenotípusában van. b/ Nemzedékugrás nincsen, csak nők érintettek és csak nők adják tovább a gént. A beteg nők fiai mind egészségesek, de a fiúgyermekek száma csak fele a lánygyermekekének.

(*2*) A gén apáról fiúra öröklődik, tehát csak férfiakban jelenik meg. Ha penetranciája teljes, az érintett férfiak minden fiúgyermeke örökli a jelleget.

(*3*) (a) Autoszomális vagy X-hez kötött domináns. (b) Az előzőeken túl autoszomális vagy X-hez kötött recesszív is lehet, ha az anya heterozigóta volt.

(*4*) Autoszomális recesszív. Vegyük észre, hogy az érintett személy szülei első unokatestvérek.

DUPress

DUPress

6. FEJEZET

VELESZÜLETETT ANYAGCSERE-BETEGSÉGEK

Az aminosav anyagcsere néhány zavara

Fenilketonúria (PKU) és hiperfenilalaninémia egyéb formái
Albinizmus

A lipid és lipoprotein anyagcsere néhány zavara

Tay–Sachs betegség, *idiotia amaurotica infantilis (familiaris)*
Familiáris hiperkoleszterinémia

A szénhidrát anyagcsere néhány zavara

Galaktozémia
Glükóz-6-foszfát-dehidrogenáz hiány

A purin anyagcsere zavara

Tárolási betegségek

Emlékezünk rá, hogy Mendel felfedezései a kortársak körében nem váltak ismertekké, eredményei 35 évig aludtak csipkerózsika-álmot. A XIX. és XX. század fordulója, azaz a Mendel-törvények újrafelfedezése után Archibald **Garrod** (Londonban) az alkaptonúria nevű rendellenességgel kezdett el foglalkozni. Erre jellemző, hogy az érintett személy vizelete levegőn állva lassacskán megsötétedik, aminek oka a benne levő homogentizinsav (újabb terminológia szerint homogentizát, régi nevén alkapton) oxidációja. Garrod családvizsgálatok alapján arra a következtetésre jutott, hogy egy mendeli örök-

DUPress

lődésű recesszív jellegről van szó. Úgy gondolta, hogy normális esetben ezt az anyagot egy enzim bontja, míg az érintett jelleghordozókban ez a lépés elmarad, és ezért halmozódik fel mint kóros anyagcseretermék és választódik ki a vizeletben az alkapton. Arra is felfigyelt, hogy fehérjében (mindenekelőtt pedig fenilalaninban és/vagy tirozinban) gazdag táplálkozás esetén az alkaptonúria kifejezettebbé válik. Továbbá: a benzolgyűrűt tartalmazó aminosavak származéka az alkapton, és ha ezt nem jelleghordozó egyéneknek adagolja, azok vizeletében nem jelenik meg ez az anyag. Megfigyeléseinek mai magyarázata a 6.1. ábrán bemutatott anyagcsereútból érthető meg.[1] Az alkaptonúriásokban hiányzik a homogentizinsavat bontó enzim (a homogentizinsav oxidáz).

Garrod családvizsgálatok kapcsán tett megfigyeléseit jó összhangban állónak találta Mendel eredményeivel, így az alkaptonúriát recesszív öröklődésűnek minősítette. (Emlékezzünk: a XX. század első évtizedében járunk, a mendeli tanok éppen csak megkezdték hódító útjukat a tudományban.) További tanulmányai alapján, amelyek az albinizmusra (*albinismus*), cisztinúriára (*cystinuria*) és pentózúriára (*pentosuria*) vonatkoztak, megfogalmazta az „***inborn errors of metabolism***", az anyagcsere veleszületett hibáinak a koncepcióját. Hangsúlyozta, hogy az általa leírtak csak a töredékét képezhetik a hasonló jellegű lehetséges defektusoknak.

Történelmileg nézve az „***egy gén – egy enzim***" hipotézis tulajdonképpen Garrod nevéhez fűződik, de inkább még csak az „**egy mutáns gén – egy anyagcserehiba**" formában. Kortársai azonban – hasonlóan ahhoz, amint az Mendel esetében is történt – a korát messze megelőző tudós felismerését nem tudták saját eszmerendszerükbe illeszteni. Így **a gén fogalmának meghatározása** és e fogalom fejlődése csak jóval Garrod halála után vált tudományos aktualitássá. Erről a 12. fejezetben szólunk.

A Mendel által leírt törvényszerűségeknek megfelelően nagyon sok öröklődő jellegről, egészen pontosan szólva: nagyon sok kóros (deficiens, hibás) jellegről bizonyosodott be, hogy valamilyen enzimatikus eltérés áll a közvetlenül látható fenotípus mögött. Ezek többségükben recesszíven öröklődnek. Diploid élőlényekre általában jellemző, hogy ha egy homológ kromoszómapár adott lokuszán elhelyezkedő két gén közül csak az egyik olyan mutáns, ami funkcióképtelen fehérjét (vagy semmit sem) kódol, a vad típusú allélje által meghatározott enzimaktivitás még kóros – vagy legalábbis súlyos – tünetek nélkül elegendő a funkció ellátására. Ez utóbbi csak mindkét gén hibája vagy hiánya esetén, a klasszikus genetika szerint a lokusz homozigóta állapotában esik ki (vagy válik kórosan elégtelenné).

---

[1] Érdekes kortörténeti adalék – bár ma is könnyen áldozatává válhatunk hasonló tévedéseknek –: a fehérje anyagcserével való összefüggés felismerése után is még mindig nagyon sokan arra az álláspontra helyezkedtek, hogy a homogentizinsav nem az emberi metabolizmus, hanem bizonyos bélbaktériumok terméke az érintett személyekben.

Hogy az általunk észlelhető tüneteknek mi az oka, az változó lehet. Kiesett funkció nyomán hiányozhat természetesen az a produktum vagy annak a tovább feldolgozott végterméke, ami miatt az adott anyagcsereútra szükség van. Előfordul azonban az, hogy ezt egy másik reakciósor többé-kevésbé pótolni tudja (biokémiai mechanizmusaink működése nagyon sokszor többszörösen biztosított). A felhalmozódó köztitermék, ha nem választódik ki effektíven a vizelettel, maga okozhat kóros elváltozásokat (pl. raktározódás bizonyos szövetekben és ezek működésének zavarása), és/vagy kiinduló pontjává válhat egy olyan átalakulásnak (amelyik enzimatikusan adott, de normálisan nem vagy csak elhanyagolható mértékben működik), ami valamilyen káros anyagcsereterméket eredményez, és vagy ez felelős közvetlenül a tünetekért, vagy – inkább – az ez által megzavart egyéb folyamat(ok).

Egyedileg az anyagcsere veleszületett zavarai meglehetősen ritkák, összességükben azonban eléggé számottevőek: nem is a legfrissebb adatok szerint a gyermekgyógyászati kórházi felvételeknek mintegy 5%-át adják[2]. Összesített populációs gyakoriságuk mintegy 1%. Néhány jellemző példájukat bemutatjuk.

Ha molekuláris szinten vizsgáljuk e kórképeket – napjainkban a molekuláris medicina felfutásának vagyunk a tanúi (!) –, de szigorúan a genetikus szemüvegén át, olyan változatosság tárul a szemünk elé, amelynek áttekintésére e fejezetben nem vállalkozhatunk. Arra azonban fel kell hívnunk itt is a figyelmet, hogy a fenotípusosan tökéletesen hasonló, egy meghatározott lokusz homozigóta recesszív állapotának tartott esetek túlnyomó többségében a genotípus eltérő, és a homozigótaság is tulajdonképpen *compound heterozigótaság*, azaz a két, formális genetikai szempontból recesszív allél között molekuláris különbség(ek) van(nak). És akkor itt még egyáltalán nem érintettük a genetikai heterogenitás kérdéskörét!

---

[2] Fontos tanulsága a mai medicinának, hogy a génikus eredetű betegségek egyre nagyobb hányadát teszik ki a komoly orvosi problémát jelentő eseteknek. Nem arról van szó, hogy ezek összességükben szaporodnának, bár a modern terápiának vannak ilyen hatásai is, hiszen ma már sok olyan páciens tovább tudja örökíteni kóros génjeit, aki korábban nem érte meg a nemzőképes kort. Másrészt mind több betegségről bizonyosodik be azok génikus háttere, amelyeket korábban kifejezetten környezeti, vagy egyszerűen ismeretlen eredetűnek tartottak. Emellett jónéhány, korábban súlyos kimenetelű, kórházi kezelést igénylő kórkép terápiája (pl. fertőző betegségek antibiotikus kezelése) vált rutin háziorvosi feladattá, vált néhány nap alatt gyógyítható betegséggé. Csak utalunk itt arra a máshol részletesebben tárgyalt tényre, hogy a pillanatnyilag legfontosabb két halálok, a szív- és érrendszeri betegségek, valamint a daganatok génikus determinációjának jelentősége az utóbbi egy évtizedben vált általánosan elfogadottá.

Az aminosav anyagcsere néhány zavara

FENILKETONÚRIA (PKU) ÉS A HIPERFENILALANINÉMIA EGYÉB FORMÁI

A PKU az egyik legismertebb anyagcserezavar. Gyakorisága újszülött korban mintegy 1/10 000. Oka a fenilalanin-hidroxiláz (PAH) defektusa, ami normálisan tirozinná alakítja át a májban a táplálkozásból származó és közvetlen felhasználáshoz (fehérjeszintézis) aktuálisan nem szükséges fenilalanint (6.1. ábra.). Ha ez a lépés elmarad, a fenilalanin kóros anyagcseretermékekké, legnagyobb tömegében fenilpiroszőlősavvá alakul (ami ketosav, innen a betegség neve). Egykoron a súlyos mentalis retardatio (idiotia) egyik legfontosabb oka volt, mára kezelhető betegséggé vált, éppen a biokémiai háttér feltárása révén.[3]

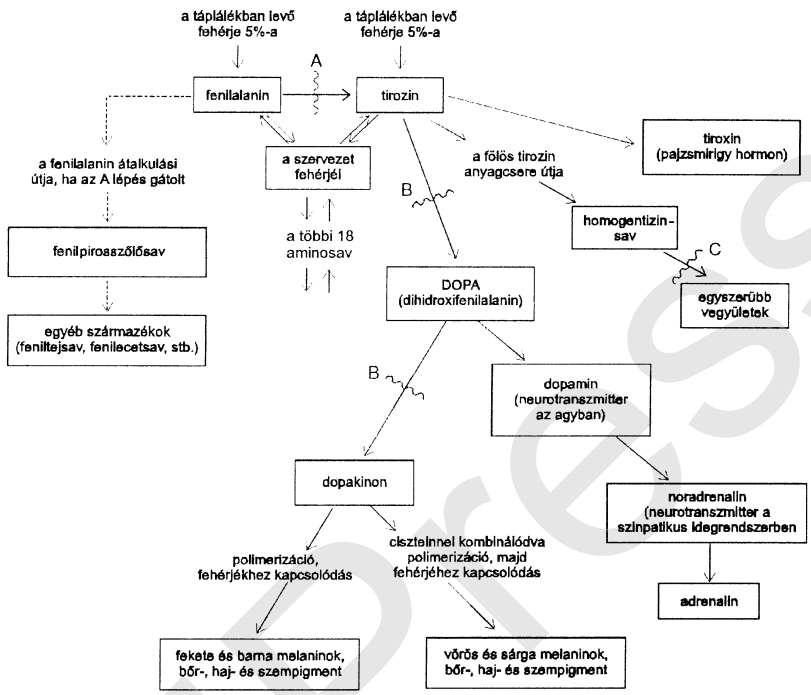
A fejlődő agy rendkívül érzékeny. Hogy a pontos patomechanizmus tulajdonképpen miben is áll, mindmáig nem tisztázott, de úgy tartják, nem a csökkent tirozin szint (vö. 6.1. ábra, a fenilalanin átalakulásának hiányában a tirozin esszenciális aminosavvá lép elő), hanem a sok fenilalanin és az ebből származó kóros metabolitok tehetők felelőssé a gyengeelméjűségért a PKU-ban. A fenilpiroszőlősav a mielinizációs folyamatot zavarja meg. Az agysúly mintegy 2/3-a a normálisnak (a mindig észlelhető mikrokefália ennek megfelelő tünet). Nemcsak a két évesekét meg nem haladó értelmi képesség jellemzi a betegeket, hanem a fokozott ingerlékenység és kóros reakciók, sokszor agresszivitás is. Állandó felügyeletet és gondozást igényelnek, hiperaktívak de mozgásuk nem koordinált, székletük és vizeletük tartására nem képesek, stb. Fokozott az izomtónus. A tirozinhiánynak is vannak fenotípusos következményei, mindenekelőtt a PKU-ban szenvedők jellemző hipopigmentációját szokták emlegetni (l. 6.1. ábra).

Amióta tudjuk, hogy az alap-baj, amit az enzimdefektus okoz, tulajdonképpen a ***hiperfenilalaninémia***, a diagnózis nemcsak a vizeletből, hanem a vér analíziséből is meglehetős biztonsággal felállítható. Ez lehetőséget adott nagy tömegben elvégezhető szűrővizsgálatok kidolgozására. Mára a gázkromatográfiás eljárás vált elfogadottá (ami egyúttal az egyéb aminosavak esetleges anyagcsere-zavarait is jelzi). A lényeg az, hogy ha két hét alatt végérvényes diagnózishoz jutnak és ennek nyomán a fenilketonuriában szenvedőnek bizonyuló csecsemőt élete harmadik hetének betöltése előtt megfelelő fenilalanin-szegény diétára fogják, a tünetek kifejlődése megelőzhető. (A később alkalmazott étrendi megszorításnak az idő előrehaladtával egyre kisebb a hatása, három hónapos kor

---

[3] Følling (= Fölling) norvég orvos nevéhez fűződik a kóros anyagcseretermék ferriklorid próbával (ami keton-reagens) való kimutatása. Először egy testvérpárban detektálta a betegséget, majd szisztematikus vizsgálatokba kezdett speciális intézetekben ápolt értelmi fogyatékosok között. Érdemei elismeréseként szokták a PKU-t Fölling-betegségként is említeni.

után gyakorlatilag már olyan súlyosak a károsodások, hogy kifejezett PKU-ról kell beszélnünk a diétáztatás ellenére.)



6.1. ábra. *A fenilalanin és tirozin anyagcsereútjai.* A vázlat csak a tárgyalásunk szempontjából érdekesebb részleteket mutatja be (a pontosabb és bővebb leírást a biokémia anyagában találhatja meg az érdeklődő olvasó). A hullámos vonalak az autoszómális recesszív öröklődésű enzimhiány által okozott defektusokat jelölik. **A**: Fenilalanin hidroxiláz hiány, klasszikus *fenilketonúria.* A tirozinná való átalakulás lehetetlensége miatt a fölös fenilalanin fenilpiroszőlősavat (és más kóros anyagcseretermékeket) ad. **B**: Tirozináz hiányában lehetelen tirozinból a DOPA és ebből a dopakinon keletkezése. Ennek eredménye a „klasszikus" albinizmus. **C**: Alkaptonúria, homogentizinsav oxidáz aktivitás nincs, a homogentizinsav felhalmozódik és kiürül a vizelettel.

Ezzel kapcsolatosan a következők ismerete rendkívül fontos. Hibás negatív diagnózist eredményezhet, ha a vérmintát olyan korán veszik a születés után, amikor az újszülött még nem szopott (nem szopik rendesen). Ebben az esetben még nincs alimentáris fenilalanin bevitel, tehát a génikus defektus megléte esetén sem lehet magas a vérben ennek az aminosavnak a szintje. E hiba elkövetésének veszélye fennáll a szülészeti intézményből való korai kibocsátás, ill. intézeten kívüli szülés esetén. Mivel a fenilalanin

esszenciális aminosav, a fehérjeszintézis kielégítéséhez szükséges mennyiségének meg kell lennie a diétában. Az igény a gyermek növekedésével és egyéb tényezőkkel együtt folyamatosan változik, ezért a vér fenilalanin-szintet rendszeresen kontrollálni és az étrendet a szükségletnek megfelelően korrigálni kell.

Ha a központi idegrendszer fejlődése már befejeződött, a későbbiekben nem érzékeny a magas fenilpiroszőlősav-szintre, a szigorú diétára a továbbiakban immár nincs szükség. Nem egységes az álláspont a tekintetben, hogy ez milyen életkorra tehető. Vannak, akik a hatodik-hetedik, mások viszont a 12-15. évben jelölik meg azt a határt, amelynél a fiúk diétáztatása abbahagyható. Nőknél – egyéni megítélés szerint – a szülések befejeztéig vagy a szülőképes kor végéig tartják szükségesnek a diéta fenntartását[4].

A szűrőprogramok elterjedésével világossá vált, hogy ugyanabban a népességben jóval nagyobbnak mutatkozik a hiperfenilalaninémia gyakorisága, mint a korábbi időszakban meghatározott újszülöttkori PKU prevalencia[5]. Utánvizsgálatok tisztázták, hogy a fenialanin-hidroxiláz defektusa csak mintegy 60%-ban tehető felelőssé a hiperfenilalaninémia esetekért. Ez a felismerés a terminológia megváltoztatását hozta magával. Azt a betegséget, amelyről a fentiekben szó esett, ma már I-es típusú ***fenilketonúria***ként jelölik (más névvel: klasszikus PKU, avagy *phenilalanin-hydroxylase deficientia*). Enyhe fokú ***állandósult hiperfenilalaninémia***ként *(persistens hyperphenylalaninaemia)* jegyzik a PAH enzim részleges defektusát (ami 2-35% maradék aktivitással jár). Jelenleg

---

[4] A PKU-s magzatot nem károsítja az anyagcserezavar, mert a méhlepényen keresztül tulajdonképpen az anyai paraméterek érvényesülnek az ő szervezetében is, nincs hiperfenilalaninémiája, s ha mégis keletkezne benne fenilpiroszőlősav, azt az anyai szervezet nagyon gyorsan eltávolítja és kiválasztja. A fenilalanin kóros felhalmozódása csak a megszületés után és a szopás megkezdésével kezdődhet. Ugyanakkor mindennek a fordítottja is igaz: fenilketonuriás és nem diétáztatott anya kóros anyagcseretermékei súlyosan károsíthatják magzatát, akkor is, ha az maga nem beteg. Ilyen esetben az újszülött rendkívül súlyos mentális retardációval jön a világra, ami már semmiképpen sem korrigálható, sőt egyes esetekben még egyéb fejlődési zavarokat is megfigyeltek. Tekintettel arra, hogy könnyebb valakit a – nem túlságosan ízletes és változatos – korlátozó étrenden megtartani, mint kb. két évtizedes normál táplálkozás után arra visszaszoktatni (vissza kényszeríteni), általában megegyeznek a szakértők abban, hogy a női PKU betegeket a reprodukciójuk lezárásáig kell a diétán tartani. Mindennapos gond lehet ezzel kapcsolatosan: a szülők leállítják a – nem olcsó – diétát, és nem is mondják el a gyermeküknek, hogy miért kapta azt kisebb korában. A diétát abbahagyottak esetén nem egységesek a nézetek arról, hogy már praeconceptionalisan vissza kell-e állítani azt, vagy a megtermékenyülés után, a terhesség első 3-4 hetében sem fenyegeti még komoly veszély az embriót. Ismeretlenek a terhes PKU-s asszony „túldiétáztatásának" esetleges kóros hatásai a fejlődő embrióra ill. magzatra, azaz mi történik akkor, ha a normálisnál alacsonyabban tartják a vére fenilalanin-szintjét. Komoly etikai kérdés és probléma, hogy meddig terjedhet az orvos joga a kezelés előírásában. Jogosult lehet-e a társadalom a PKU-s nők nyilvántartására?

[5] ***Prevalencia*** = egy jelleg, betegség, stb. esetszámának gyakorisága egy adott lakosságcsoport (vagy a teljes népesség) körében. Ez megadható egy adott időpontra (pont prevalencia) vagy időperiódusra (tartam prevalencia) vonatkozóan. Megkülönböztetendő az ***incidenciá***tól, ami az adott populációban egy vizsgált időperiódusban (rendszerint egy naptári évben) újonnan jelentkező betegségi esetek számát jelenti.

ennek molekulárisan két formáját különítik el. Csak a korai időszakban van szükség diétára, vagy kezelést nem is igényel.

Mintegy 3%-a a szűrővizsgálattal (vagy egyéb módon) detektált hiperfenilalaninémia eseteknek sorolható a ***II-es típusú fenilketonúria*** (*atypicus hyperphenyl-alaninaemia*) kategóriába. Itt is a PAH működésének kiesése okozza a tüneteket, de maga az enzim hibátlan, az aktivitásához szükséges koenzim, a redukált dihidrobiopterin (másképp: tetrahidrobiopterin) hiányzik, egy másik enzim, a dihidrobiopterin-reduktáz (DHPR) defektusa következtében (6.2. ábra). Ennek megfelelően egyenértékű megjelölése a ***dihidrobiopterin reduktáz deficiencia*** (*dihydrobiopterin reductase deficientia*). Ugyanúgy autoszomális recesszív anyagcserezavar, mint az I-es típusú (génje a 4-es kromoszóma rövid karján van), ez a PKU azonban nem reagál a szokásos diétás kezelésre, jóllehet az a magas fenilalanin-szintet ugyanúgy csökkenti, mint az I-es típusnál. Kiderült, hogy a DHPR enzim nemcsak a májban aktív (mint a PAH), hanem számos más szövetben is, és nemcsak a fenilalanin, hanem a tirozin metabolizmusában is. Az idegrendszerben olyan neurotranszmitterek szintéziséhez szükséges, mint a dopamin, noradrenalin, adrenalin és szerotonin (l. 6.1. ábra).

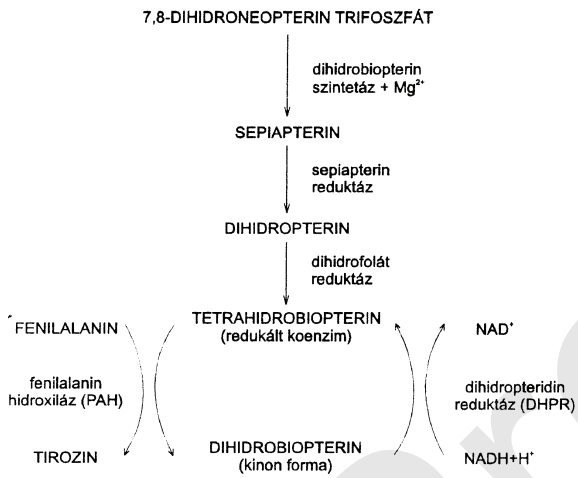
A redukált dihidrobiopterin hiányához vezethet a ***dihidrobiopterin szintetáz deficiencia*** (*dihydrobiopterin synthetase deficientia*) is (6.2. ábra). Így jön létre a III-as típusú fenilketonúria, ami 1-3%-át adja az összes hiperfenilalaninémia eseteknek. Ez is autoszomális recesszív öröklődésű állapot, amiben a központi idegrendszer funkcióinak tönkremenetelét nem tudja befolyásolni a fenilalanin-szegény diéta.

Mit tudunk idáig a PAH génjéről, ami tanulságos? Lokusza emberben a 12-es kromoszóma hosszú karjának a végére lokalizálható. Nagy gén, kb. 90 kbp hosszúságú, 13 exon kódol egy 451 aminosavból álló fehérjét. Rendkívül konzervált, az emberi és patkány PAH gén között 98%-os a homológia. A nagyobb méretű gén magyarázattal szolgál a mutánsok relatíve nagy számára, ide értve a mérsékeltebb fokú hiperfenilalaninémia eseteit is. Ezekben eddig kétféle mutációt azonosítottak, amelyekre vagy homozigóta volt a jelleghordozó, vagy ún. *compound* heterozigóta: nem egyforma mutáns alléleket hordozó (l. 13. fejezet). A csökkent de nem nulla enzimaktivitás egyik magyarázataként azt említik, hogy lehetséges a fehérje lassúbb érése, ami a normálissal azonos arányú termelés mellett az aktuálisan működő molekulák számát csökkentené.

ALBINIZMUS

Nem tartozik közvetlenül a „klasszikus" aminosav anyagcsere zavarok körébe, de eléggé szorosan kapcsolódik – mint a 6.1. ábrán láttuk – a tirozin metabolizmusához, és meglehetősen „látványos" példája az autoszomális recesszív öröklődésű enzimdefektusoknak ahhoz, hogy tanulságos legyen. Már Garrod besorolta az anyagcsere veleszületett hibái közé, aki 4 lehetőséget vetett fel, végülis a végtermék hiány kategória mellett dön-

tött. Jó példa ugyanakkor arra is, hogy egy – egységesnek látszó – kórkép molekuláris hátterében különböző gének hibája állhat (láttuk ennek lehetőségét a PKU esetén is). Bemutatható általa a pleiotróp génhatás.



6.2. ábra. *Atípusos fenilketonúria kialakulása* A fenilalanin–tirozin átalakuláshoz a fenilalanin hídroxiláz enzimnek tetrahidrobiopterinre van szüksége mint koenzimre. Dihidrobiopterin reduktáz hiányában csakúgy, mint elégtelen dihidrobiopterin szintetáz aktivitás esetén zavart szenved a fenilalanin hidroxiláz működése a tetrahidrobiopterin (= redukált dihidrobiopterin) kiesése miatt (részletesebben l. a szövegben).

Az albinizmus, az öröklött melanin pigmenthiány a rovaroktól az emlősökig az állatvilág legkülönbözőbb osztályaiban megfigyelhető, és már meglehetősen régen nagy figyelmet is kapott. Korai Afrika-kutatók színes leírását adták a „fehér négerek"-nek. Manapság is hírértékű, ha állatkertben fehér oroszlán, tigris, gorilla, stb. lát napvilágot, vagy fehér bálnát láttak valahol. Leggyakrabban használt kísérleti állataink a fehér egerek és patkányok albínók. Itt rögtön meg kell jegyezzük: nem minden fehér állat (jegesmedve, komondor, stb.) albínó. Magasabbrendűeknél a szem színe igazít el: a pigmenthiány miatt a vér színét látjuk, az albínó ember vagy állat pupillája piros.

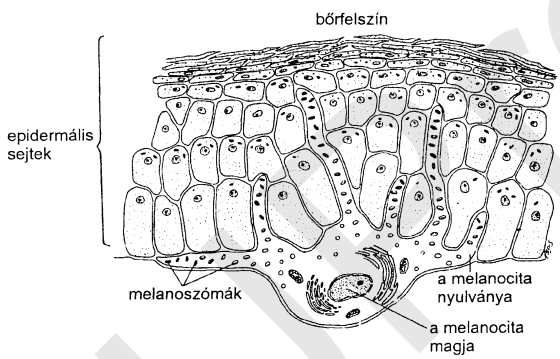
A 6.1. ábra csak rövidített formában jelzi a melanin pigment képződési útját, de ebből is látszik, hogy az albinizmusnak többféle enzim hiánya is oka lehet. Az ún. klasszikus albinizmus a tirozináz defektusára vezethető vissza, az alábbiakban említünk még dominánsan ill. X-hez kötötten öröklődő pigmenthiányt is. Hozzá kell tennünk megfontolásainkhoz, hogy a bőr és a szőrzet színének meghatározásában eltérő mechanizmusok létezhetnek. Ezekre nézvést egerekben 62 különböző gént írtak le. Nem valószínű, hogy az ember esetében mindez sokkal egyszerűbb lenne.

Az a tirozináz enzim, amelyikről itt szó van, a melanocitákban működik. Ezek a sejtek a dúclécből kivándorló melanoblasztokból származnak a korai embrionális fejlődésben (l. fejlődéstan). Melanocitákat találunk az epidermisz alsó rétegében (*stratum basale*) és a hajhagymákban csakúgy, mint a szemben, fülben, nyálkahártyákban és a központi idegrendszerben. Bennük melanoszómákban történik a pigmentképzés. Amint

a 6. 3. ábrán látható, a melanocita számos dendrit-szerű nyúlványa révén a keratinociták tucatjaival áll kapcsolatban. A melanoszómák bevándorolnak ezekbe a nyúlványokba és onnan átkerülhetnek a szomszédos sejtekbe (a *stratum spinosum*-ban is), ahol főleg azok magja fölött alkotnak védőernyőt, ami az UV sugarak mutagén hatásától óvja a DNS-t.

Normál pigmentációjú egyének bőrszínét nem a melanociták száma határozza meg, ez ugyanis minden rasszban nagyjából azonosnak tűnik, hanem a melanoszómák száma és eloszlása, valamint a melanin típusa. A kaukázusi és az ázsiai nagyrasszba tartozók melanoszómái három vagy több egységből álló komplexekbe tömörülnek, míg az afrikai feketék és az ausztrál bennszülöttek esetén különállók maradnak. Minden rasszban függ a melanoszómák képzésének üteme a napsugárzástól, hormonális (pl. Addison kórban fokozott pigmentáció, a napfénynek ki nem tett helyeken is) és génikus hatásoktól (l. 9. fejezet).

Amint a 6.1. ábrán látható, a tirozin először dihidroxifenilalaninná (DOPA), majd ez dopakinonná alakul. Mindkét lépést a tirozináz katalizálja. A továbbiakban polimerizáció révén alakul ki a fekete vagy barna eumelanin, amely fehérjékkel alkotott komplex a melanoszómákban. Más lehetőség: a dopakinon ciszteinnel kapcsolódik mielőtt az említett fehérjekomplexbe lépne, ezáltal a vörös vagy sárga feomelaninok jönnek létre.



6.3. ábra. *Melanocita és keratinociták kapcsolata a bőrben.* A melanoszómákat a melanocita termeli, és azok a szomszédos keratinociták tucatjaiba kerülnek át.

Albínókban a melanociták és a melanoszómák jelen vannak, de az utóbbiakban nem képződik pigment. Mint említettük, a klasszikus albinizmusban a tirozináz nem működik. Ez nemcsak a bőr hiányzó (vagy erősen csökkent) pigmentációját jelenti, hanem ennél sokkal súlyosabb következményei is vannak. Az, hogy az UV sugárvédelem természetes formája kiesik, a bőrt fokozottan érzékennyé teszi, napsugárzás hatására gyulladásba jön, hosszabb és főleg ismétlődő expozíció a daganatos elfajulás veszélyét hordja magában. Mindez azonban megfelelő életmóddal és ruházkodással megelőzhető. Sokkal nagyobb gondot jelent az albínók látászavara. Itt nemcsak a szivárványhártya és a retina pigmenthiányából következő gyenge látás (és fénykerülés) a probléma, hanem

ehhez még nystagmus[6] és kancsítás is társul, az utóbbi minden bizonnyal a két szemmel való nézés zavarából, amit a nervus opticus fejlődésének abnormalitása magyaráz. Mindez azt jelenti, hogy az érintettek majdnem vakok.

Mindezek alapján a tirozináz defektusával járó formát ***okulokután albinizmus***nak (*oculocutan albinismus*) (OCA) nevezik. Több típusa ismert, a melanin teljes vagy részleges hiánya jellemzi a bőrben, szőrzetben és szemben. Az okuláris albinizmusban (*ocularis albinismus*) a bőr pigmentált. Ennek is több válfaját különítik el. Van tirozináz-pozitív, valamint X-hez kötött recesszív formája is (amelyekben a tényleges metabolikus hiba eleddig nem ismeretes).

Tanulságul azt szűrhetjük le, hogy egy bonyolult metabolikus reakciósor több helyen is lehet deficiens, azonos vagy legalábbis nagyon hasonló fenotípust eredményezve. Az ilyen anyagcsereútban egyes szervekben vagy szövetekben más-más (pl. izo- vagy allo-) enzimek lehetnek felelősek ugyanazért a lépésért, következésképpen a mutáns fenotípus megjelenése lehet általános vagy a szervezet jól meghatározott helyére lokalizálható. Egy génikus hiba több lépésen keresztül vezethet olyan elváltozásokhoz is, amelyek vele közvetlen oki kapcsolatban nem állnak, mégis egyértelműen az alapvető elváltozás hajlamosít a kialakulásukra: a bőr elrákosodása a pigmenthiány következtében, ez az albínó gentotípus pleiotróp hatása. Ugyanebbe a körbe tartozik a látászavar is, aminek egyfelől van elfogadható közvetlen magyarázata a pigmenthiányban, másfelől még nincs.

A lipid és lipoprotein anyagcsere néhány zavara

Igényünk a pontos kategorizálásra és rendszerezésre jogos és indokolt, tudományos ismeretek nem nyerhetők és őrizhetők meg ezek nélkül. Sohasem szabad azonban elfeledni, hogy a valóság sokkal összetettebb és színesebb mint az általunk alkotható „skatulyák", amelyekbe egy-egy ismereti egységet belehelyezünk. Ennek megfelelően pl. a különböző génikus defektusok mindig több osztályba is besorolhatók, a rendszerezés pillanatnyi igényei szerint. Ugyanazon „betegség osztály"-ba tartozhat recesszív és domináns öröklődésű kórkép, funkcionyeréses vagy funkcióvesztéses mutáció, stb., amelyek más szempontok alapján viszont szétválaszthatók egymástól. Ebben az alfejezetben is egy olyan degeneratív kórforma bemutatása a feladatunk, ami – más megfontolások alapján – teljes joggal lenne egy másikba (a lizoszomális tárolási betegségek közé) sorolható.

---

[6] Nystagmus = szemtekerezgés

TAY-SACHS BETEGSÉG, IDIOTIA AMAUROTICA INFANTILIS (FAMILIARIS)

Amint a latin megnevezés mutatja, csecsemőkorban megnyilvánuló, súlyos értelmi visszamaradással és vaksággal járó kórkép, ami igen korán (általában a 3. életév elérése előtt, de a 4.-et biztosan megelőzően) halállal jár. A látás elvesztése mellett jelentkezik süketség is és a központi idegrendszer olyan működési zavarai, amelyek gyakorlatilag tehetetlen bábbá teszik a kisgyermeket, aki bármiféle olyan önálló aktivitásra is képtelen, mint pl. az evés. Első részletesebb leírását az amerikai Sachs-nak tulajdonítja az irodalom, aki viszont saját vizsgálatai kapcsán az előzményeket kutatva rálelt, hogy a vaksághoz társult jellemző szem-tünetet, a retinán látható cseresznyepiros foltot már kb. egy évtizeddel előtte leírta Tay. (Nekünk magyaroknak szomorú tudománytörténeti adalék, hogy Schaffer Károly kimaradt a tünet együttes névadói közül[7], pedig nem kisebbek az érdemei a kórkép önálló patológiai entitásként való azonosításában.)

Mára már ismert, hogy az alapvető biokémiai defektus a hexózaminidáz A (béta-N-acetil-galaktózaminidáz) enzim hiánya, ami autoszomális recesszív módon öröklődik. Érdekessége a kórképnek (amire már Sachs is felfigyelt), hogy túlnyomó többségében askenázi zsidó családokban fordul elő.[8] Az enzimaktivitás meghatározásával a heterozigóták jól azonosíthatók, akár prenatálisan is; az érintett populációba tartozóknál házasságkötés ill. a teherbeesés előtt kideríthető, ha mindkét fél heterozigóta, és amniocentézissel nyert sejtekből egy születendő magzat beteg vagy egészséges volta időben jelezhető, orvosi indok alapján a terhesség megszakítható. Ennek fontosságát aligha kell hangsúlyozni: biztosan halálos kórállapotról van szó, a beteg gyermek családi tragédiát jelent. (Felmerült már a heterozigóta gyermeket hordozó terhesség megszakításának indokoltsága is a különösen veszélyeztetett populációban a génfrekvencia csökkentésére. Ez etikai, nem pedig genetikai kérdés.

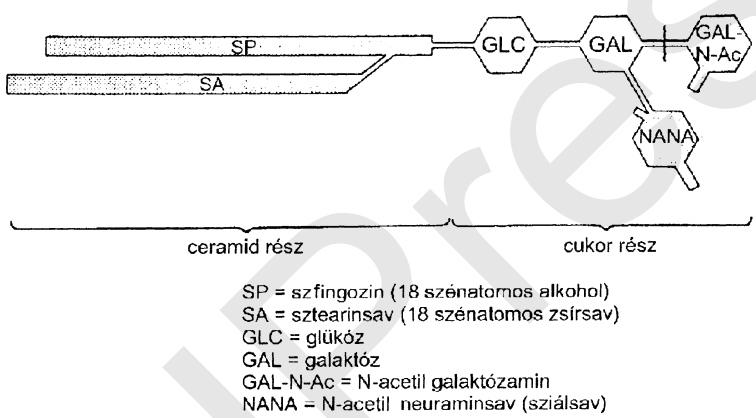
Diagnosztikailag fontos, hogy az azonos enzimaktivitású hexózaminidáz B nem érintett a betegségben, az össz-hexózaminidáz aktivitás nem csökkent lényegesen, hanem csak izoláltan a hexózaminidáz A esett ki. (Feladata: részvétel a gangliozidok közül a G_{M2} típus molekuláinak lebontásában, a végálló N-acetil-galaktózamin lehasítása, l. 6.4.

---

[7] Mintegy a múlt század közepéig a német nyelvű szakirodalomban Tay-Sachs-Schaffer volt a kórkép szerzői megjelölése. Schaffer Károly magyar kórboncnok volt, aki nagyon pontos leírást adott (1901-ben és 1902-ben) az idegszöveti elváltozásokról. Az angol nyelvű szakirodalom elmarasztalható a betegség nevének ilyetén megrövidítése miatt.

[8] Legnagyobb a gyakoriság azon zsidók körében, akiknek ősei Lengyelország északkeleti tájain, Litvániában és Fehéroroszország e területekhez csatlakozó részein éltek. Az észak-amerikai zsidóság nagy hányada tartozik ebbe a körbe. Itt a Tay-Sachs betegség előfordulási gyakorisága 1/3000–6000 születés, más északamerikai populációkban 1/500 000 vagy még kevesebb. Ritka a betegség a szefárd és az ázsiai zsidóságban is. Csak találgatásokat ismerünk arra nézvést, hogy egy letális gén hogyan maradhatott fenn ilyan nagy gyakorisággal. Egyesek a tbc iránti csökkent fogékonyságot tulajdonítanak a heterozigótáknak (amely betegség az említett területeken különösen sok áldozatot szedett), de ezt nem tekinthetjük igazolt hipotézisnek.

ábra). Funkciója elvesztésének következménye ***I-es típusú G_{M2} gangliozidózis*** (*gangliosidosis)*, a Tay-Sachs kór, ami a tárolási betegségek körébe sorolható, azon belül a ***szfingolipidózis***ok (*sphingolipidosis)* csoportjába[9]. A G_{M2} típusú gangliozidok szinte kizárólag csak idegsejtek mebránalkotó molekulájaként fordulnak elő, leginkább az agyban (valószínűleg az extracelluláris térrel való kapcsolattartásban és információ-átvitelben van szerepük). A lizoszómákba került, de le nem bontott molekulák felhalmozódnak, az érintett sejtek citoplazmájában mind több és nagyobb az ilyen, elektronmikroszkóppal látható, homogén anyagot tartalmazó, a működő sejtállomány helyét egyre inkább elfoglaló sejtorganellum, ami nemcsak a sejtek és ezáltal az érintett agyszövet duzzadásához, megnagyobbodásához vezet, hanem a központi idegrendszer egyre erőteljesebb és gyorsabb degenerációjához, funkcióvesztéséhez is.



6.4. ábra. *Hexózaminidáz A funkciója.* G_{M2} típusú gangliozid molekula. Lebontásában a hexózaminidáz A feladata a végálló N-acetil-galaktózamin lehasítása (a hullámvonallal jelölt helyen).

[9] Csak a teljesség kedvéért említjük itt (és ebben a formában), hogy a hexózaminidáz B enzim is hiányzik a II-es típusú G_{M2} ***gangliozidózis***ban, ami Sandhoff vagy Sandhoff-Jatzkewicz betegség néven ismert. Ebben a kórképben tehát semmilyen hexózaminidáz aktivitás nem mutatható ki. Klinikailag érdemben ugyanolyan a megjelenése, mint a Tay-Sachs betegségé, az elkülönítés enzimvizsgálattal lehetséges, ill. a tárolt G_{M2} gangliozid spektrumból. Természetesen a sphingolipidosis-ok közé még jónéhány egyéb kórkép is tartozik, pl. a III-as típusú G_{M2} gangliozidózis, ami nem infantilis, hanem juvenilis megjelenésű, a különböző G_{M1} gangliozidózisok, és így tovább, amelyek vonatkozásában a megfelelő klinikai genetikai szakkönyvekre utalunk.

Az utóbbi időben jelentősen gyarapodtak a hexózaminidázokra vonatkozó molekuláris ismereteink. Ezek szerint az A típusú funkcionális enzim két alegységből, α és β láncból áll (amelyek génjei a 15-ös ill. az 5-ös kromoszómán vannak). Jellemzően az alfa lánc defektusa figyelhető meg a Tay-Sachs betegségben. Ez lehet pontmutáció, deléció, intron kivágási hiba és egyéb is, pl. képtelenség a β lánccal való kapcsolódásra. Találtak azonban olyan betegeket is, akiknek nem volt deficiens a hexózaminidáz enzimük maga. Így fedezték fel, hogy egy kofaktorra is szükség van, ami a G_{M2} gangliozidot szolubilizálja és ezzel teszi hozzáférhetővé a hexózaminidáz A számára. Ha ez a segítő fehérje hiányzik, a működés ugyanolyan zavart szenved, mint a „klasszikus" esetekben.

A „testvér" enzim, a hexózaminidáz B két béta láncból áll. Ebből megérthető, hogy ha ennek génje mutál, mindkét enzim aktivitása kiesik.

FAMILIÁRIS HIPERKOLESZTERINÉMIA

Janus arcú molekulának nevezik a koleszterint, amely egyszerre nélkülözhetetlen az élethez és okozhat halálos kórt, ha sok van belőle és nem a megfelelő helyen. Mind membrán alkotóként, mind az epesavak és szteránvázas hormonok szintézisének kiinduló vegyületeként szükségünk van rá. *Atheroskleroticus plaque*-ok kialakítójaként fatális következményű elváltozások elindítója. Az utóbbira akkor kerülhet sor, ha a fiziológiásnál nagyobb koncentrációban van a vérben. Ennek lehet oka a helytelen táplálkozás, túlzott bevitel is, ez azonban józan étrendi megszorításokkal megelőzhető. Itt a génikus háttérrel foglalkozunk csak, előre bocsátva, hogy az sokkal komplikáltabbnak tűnik annál, mintsem hogy lezárt és mindenre kiterjedő ismeretek birtokában lehetnénk. A ***familiáris hiperkoleszterinémia*** (*familiaris hypercholesterolaemia,* ***FH***) egy jól meghatározott entitást képvisel.

A koleszterin ***LDL*** (*low density lipoprotein*) révén történő szállítására, a sejtek által receptor mediált endocitózissal való felvételére vonatkozóan a sejtbiológiai tanulmányokra kell utalnunk, és annak molekuláris mechanizmusait ismertnek tekintjük. Itt a génikus szempontokat helyezzük előtérbe. Az LDL-receptor defektus öröklődik, az FH betegséget mint autoszomális domináns kórképet írták le. A heterozigóta-gyakoriságot általában 1/500-nak találták. (Populációs eltérések természetesen lehetségesek.) Ők adják a 60. életév előtt jelentkező szívrohamok elszenvedőinek 5%-át. Körükben ez 25-ször gyakoribb mint nem génhordozó rokonaikban, a férfiak 50%-a, a nők 15%-a nem éri meg a 60. életévét.[12] Mivel a kórfolyamat visszafordíthatatlan, a kórállapot gyógyíthatatlan, a

[12] Ebben a genetika jegyzetben semmiképpen sem lehet feladatunk klinikai kérdésekkel foglalkozni, ehhez hiányoznak az Olvasó szükséges előtanulmányai. Ugyanakkor azt sem téveszthetjük szem elől, hogy e sorok orvostanhallgatóknak íródtak, tehát arra mindenképpen utalnunk kell, hogy az FH tünetei nem merülnek ki enyhébb vagy súlyosabb anginás rohamokban és szívinfarktusban, amelyeket az érelmeszesedés okoz, hanem léteznek egyéb jelek is. Közülük itt mint könnyen észlelhetőre, a *xanthoma* meglétére hívjuk fel a figyelmet, ami bőr alatti (és alkalmasint máshol is kifejlődő) koleszterin lerakódást jelent (különösen a szemhéjakon látható jól). Homozigótákban már

korai felismerés és megelőzés (amennyiben és amennyire ez mai módszereinkkel egyáltalán lehetséges) elsőrendű orvosi szempont és feladat.

Egészséges csecsemőkben a vérszérum koleszterin szintje kb. 0,7 mM. Zsírszegény diétát tartó felnőttekben ez az érték 1,3–2 mM. Nyugati társadalmakban a még „ideális"-nak tartott érték 3,3–5 mM. Ezzel szemben az FH heterozigótáiban már csecsemőkorban 7–14 (átlagban kerekítve 9) mM a vérszérum koleszterin tartalma. Ugyanez az érték homozigóták esetén 15,5–30 mM! A homozigóták nagyon gyakran még gyermekkorban, esetleg fiatal felnőttkorban, de – más, összehasonlítási alapul szolgáló beteg-populációhoz képest – mindenképpen igen korán át szoktak esni első szívinfarktusukon. Már 5 éves kortól jelentkeznek a szívrohamok és nagyon kevesen érik meg közülük a 30. életévüket. Ennek megfelelően ők mutáns génjeiket nemigen képesek továbbadni.

Mivel magyarázható az, hogy szemben számos, a veleszületett anyagcserezavarok túlnyomó többségét adó recesszív kórképpel, az FH domináns öröklődésű? Természetesen a patomechanizmus molekuláris biológiájával. Fentebb leírt általános okfejtésünk megvilágította az enzimdefektusok megjelenésének hátterét. Itt viszont nem enzimaktivitás hiányáról, hanem rosszul működő receptorról van szó. A heterozigótában (sőt még a homozigótában is) nem az a baj, hogy a sejtek a vérből nem jutnak elegendő koleszterinhez (mert saját maguk is képesek a szintézisére[13]), hanem a felvétel defektusa a szérumban az említett abnormálisan magas értékeket okozza, amelyek közül még a „mérsékelt" emelkedés is kóros, így kifejeződik a heterozigóta genotípus a fenotípusban.

Keringésünkben a koleszterin lipoprotein részecskék formájában van jelen (a molekula önmagában vízben oldhatatlan). Ezek közül számunkra itt – amint már fentebb is említettük – az LDL érdekes. Ez a részecske koleszterin-észtereket tartalmaz magként, amit nem észterifikált koleszterin és poláris lipid molekulák vesznek körül, és mindehhez csatlakozik az apoprotein B-100 nevű nagyméretű fehérjemolekula. Ennek a komplexnek a felvételére szolgál az a receptor mediált endocitózis (l. BiolJegyz 6. fejezet). Itt

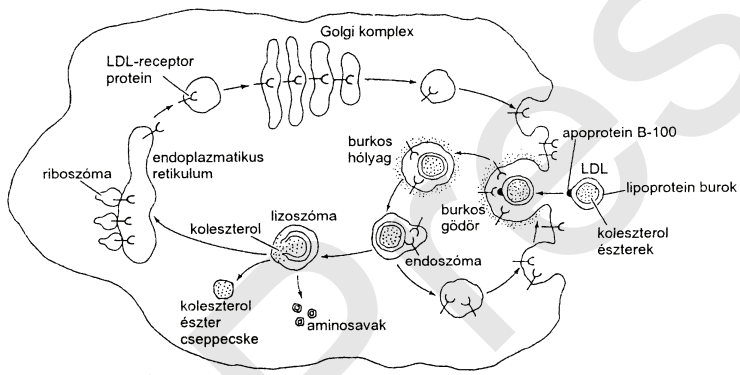
---

igen fiatal gyermekkorban megjelenik. Ugyanakkor az egyéb eredetű szív- és érrendszeri megbetegedésben szenvedőkkel összehasonlítva, az FH páciensek általában nem magas vérnyomásúak és nincsenek elhízva. Ez talán a monolokuszos meghatározottságú speciális anyagcserezavarral magyarázható, szemben az egyéb, multifaktoriális eredetű, de hasonló végeredményű kórformákkal.

[13] A sejtek saját koleszterin szintézise – mint bármilyen hasonló metabolikus folyamat – precízen szabályozott. A magas intracelluláris koleszterin szint (1) gátlólag hat a HMG-koA reduktáz enzim szintézisére (ami a koleszterin bioszintézis kulcsenzime, hidroximetil-glutaril-koenzim A-t alakít át mevalonsavvá, a részleteket illetően a biokémiai tanulmányokra utalunk), (2) csökkenti az LDL-receptor génjének transzkripcióját, ezáltal ennek a fehérjének a szintézisét, és következésképpen a sejt koleszterin-felvételét, (3) ugyanakkor aktiválja az ACAT (acetil-koA koleszterin acetil transzferáz) enzimet, ez észterifikálja a fölös koleszterint, ami ezáltal lipid cseppekben tárolhatóvá válik a citoplazmában.

egy vázlaton foglaljuk össze a történéseket (6.5. ábra). Kulcsmolekulája ennek a folyamatnak a sejtfelszíni LDL-receptor. Ez a fehérje öt domént tartalmaz.

Felsorolásukra csak a genetikai mechanizmusok logikájának illusztrálásaként vállalkozunk. 1) Az N-terminális (292 aminosav) a sejtmembránból az extracelluláris térbe kiemelkedő, bonyolult konformációjú részlet, ami az LDL-t köti meg. 2) kb. 400 aminosavnyi peptid lánc részlet funkciója ismeretlen, (ugyanúgy mint a vele nagyfokú homológiát mutató EGF-receptor megfelelő szakaszáé). 3) 58 aminosavnyi szakasz közvetlenül a sejtmembrán külső felszínéhez kapcsolódik. 4) 22 hidrofób aminosavat tartalmazó domén, amely a membrán lipidrétegében helyezkedik el (azt átéri). 5) A C-terminális 50 aminosav a citoplazmába nyúlik, az LDL-receptoroknak a burkos gödrökbe való összegyülekezéséhez szükséges. A 6.6. ábra a fehérje és az azt kódoló gén szerkezetét együtt mutatja be.



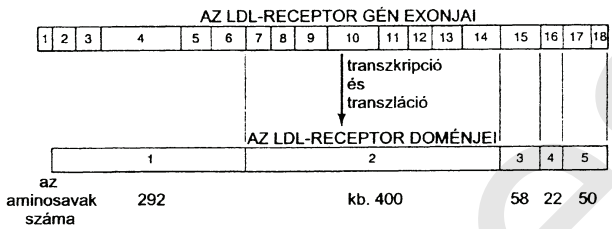
6.5. ábra. *Az LDL receptor körforgalma.* Az LDL receptor fehérje az emlős sejtek durvafelszínű endoplazmatikus retikulumához (RER) kapcsolódott riboszómákon szintetizálódik, bejut e membránrendszer üregébe, majd a Golgi apparátusba. Innen az útja a sejtfelszínre visz, ahonnan több LDL-felvételi ciklusban vehet részt. A lizoszómából a citoplazmába jutó koleszterin szabályozó folyamatokat is elindít[13].

Az LDL-receptor génjének (19p13.1-13.3) mutációit a hiba jellege és következménye szerint osztályokba sorolják. Egyes családokban sikerült olyan RFLP lokuszokat (l. 18. fejezet) azonosítani, amelyek biztonsággal jelzik a mutáns allélt.

I. osztály: Nincs receptor. Mintegy fele az összes eddig leírt mutációnak ide sorolható. Egyik jellemző válfaja a 13-15. exonokra kiterjedő deléció. II. osztály: Van receptor, de nem jut el a helyére. Az oligoszaharid oldalláncok kialakulásában lehet hiba. III. osztály: Az első két doménban aminosav-csere (missense mutáció), ami miatt nincs (vagy elégtelen) az LDL-kötés. IV. osztály: A citoplazmatikus domént érintő mutáció következtében az LDL-receptor molekulák megkötik ligandjukat, de nem tudnak internalizálódni, mert elmarad összetömörülésük a burkos gödörbe (l. említett jegyzet 4.23. ábra). Bázis-cseréket, duplikációkat és delékiókat egyaránt leírtak ebben a csoportban. Nem sorolják elkülönített osztályba a membránt átérő domént kódoló génszakasz olyan delécióját, ami

miatt elvész a membránban való lehorgonyzás. Ilyen esetekben a sejtek kiválasztják magukból az LDL-receptor molekulákat.

A deléciók és duplikációk, amelyeket különböző családokban a DNS szekvencia szintjén azonosítottak, legtöbbször úgy voltak levezethetők, hogy a két homológ kromoszóma között hibás crossing *over* játszódott le, amiért az egyes intronokban fellelhető *Alu* szekvenciák a felelősek (l. 16. fejezet). Ilyen mélységű molekuláris analízis mellett az is kiderült, hogy a homozigóták a lehető legritkábban hordozzák ugyanazt a mutációt mindkét homológ kromoszómájukon, tehát tulajdonképpen *compound* heterozigóták (l. 13. fejezet). Meglehetősen gyakori lelet, hogy a mutáns allélben nem csak egy hiba van.



6.6. ábra. *Az LDL receptor fehérje és génjének szerkezete (elvi vázlat).* (Természetesen a 18 exon között 17 intron helyezkedik el, melyek itt az egyszerűség kedvéért nem szerepelnek.) Az 1-es exon kódolja azt a szignál szekvenciát, ami a RER üregébe kerüléshez szükséges, és ami a membránon való átjutás után azonnal levágódik. A fehérje doménjeinek szerepe (és zárójelben rokonsága más protein-szekvenciákkal): **1**: Ligand kötőhely. (A komplement egy alkotójával homológ.) **2**: Ismeretlen (Homológja az EGF-nek [*epidermal growth factor*] ill. néhány véralvadási faktornak.) **3**: Glikozilálási hely. **4**: Transzmembrán szakasz. **5**: Citoplazmatikus domén. (A hasonlóságok eredetére nézve l. exon shuffling, 14. fejezet.)

Mivel a familiáris hiperkoleszterinémia mindenütt az orvosi figyelem középpontjában áll, világszerte végeztek molekuláris vizsgálatokat, így bizonyos populációs tanulságok is levonhatók voltak. A mai frankofon kanadaiak mintegy 8000 főnyi francia bevándorlóra vezetik vissza családfájukat. Ebben a népességben az FH heterozigóták 63%-a egy olyan deléciót hordoz, ami a promotert és az első exont érinti. Máshol ez ismeretlen, jó példája lehet az alapító-effektusnak. Úgyszintén egyedi az a génhiba, ami Libanonban nagyon elterjedt. A nonszensz mutáció a 660. aminosav után okoz terminációt (180 aminosavval rövidítve meg a polipeptidet). Ez a fehérje sohasem jut el a sejtfelszínre.

Klinikusok részére adódik a fentiekből néhány praktikus következtetés. Nem csak a heterozigóták, de mindenki számára ajánlott a zsírszegény (itt és most = koleszterinszegény) táplálkozás. Mivel nincsen gyógyszer, aminek mellékhatása ne lenne, ezért a farmakológiai beavatkozás csak magasabb (200 mg/100 ml) szérumszintek esetén lehet indokolt. A homozigóta FH páciensek egyetlen reménye manapság a máj- és szívátültetés lehet. Ugyanakkor az előrehaladott molekuláris genetikai ismeretek lehetővé teszik

az érintett családokban nemcsak a homo-, hanem a heterozigóta magzatok kiszűrését is a prenatális diagnosztika eszközeivel.

A gyógyszeres kezelés próbálkozásai közül két vegyület mutatkozik sikeresnek. Cholestyramin gyöngyökkel a bélben megköthetők az epesavak. Mivel ezeket fiziológiásan a máj újra felveszi, a kezeltekben az epesav-szintézishez több új koleszterinre van szükség mint a szokásos újrahasznosítási metabolizmus esetén. A sejtszintű szabályozási mechanizmusok révén a heterozigóta FH betegek májsejtjei több LDL-receptort produkálnak, csökkentik a keringésben levő LDL mennyiségét. Lovastatin (és néhány más, hasonló hatású szer) gátolni képes a HMG koA reduktáz enzimet, ami a májsejtek saját koleszterin szintézisének kulcsenzime. Használatával megnő ezeknek az igénye a külső koleszterin iránt. A két szer kombinációja meg tudja kétszerezni a heterozigóták májsejtjei felszínén az LDL-receptorok számát és ezzel a kezelés előttihez viszonyítva 50%-ra leszorítani vér koleszterin szintet. Természetesen ezek a próbálkozások nem alkalmazhatók a homozigóta FH betegeknél.

A szénhidrát anyagcsere néhány zavara

Összesen csak két betegséget tárgyalunk, mindkettő számos, általánosítható tanulsággal szolgál. A ***glikogenózis***okról (*glycogenosis*) egy más alfejezetben szólunk.

GALAKTOZÉMIA

Különböző enzimek hiánya vezethet a galaktóz metabolizmusának olyan zavarához, ami miatt ez a monoszaharid felszaporodik a vérben. Az ún. klasszikus galaktozémia a galaktóz-1-foszfát-uridil-transzferáz defektusa, autoszomális recesszív öröklődésű kórkép. A sejtekben galaktóz-1-foszfát halmozódik fel, valamint ennek továbbalakulása nyomán abnormális mennyiségű galaktitol keletkezik. Az utóbbit teszik felelőssé a ***szemlencsehomály*** (*cataracta*) kialakulásáért, ami vakságot okoz. Ezen túlmenően hányás, hasmenés, májkárosodás, általános testi és értelmi visszamaradás jellemzi az újszülöttkorban jelentkező betegséget, amely – kezelés nélkül – végülis halálos kimenetelű.

Mivel a galaktóz forrása a tej (a tejcukor), alkalmas diétával a tünetek jelentkezése kivédhető, bár úgy tűnik, bizonyos fokú maradandó agykárosodással (magatartás zavarok, tanulási nehézségek) számolnunk kell. Mindazonáltal megfelelő vizsgálattal, amit a PKU szűrésével összekötöttek, a diagnózis még a nagyon súlyos károsodások jelentkezése előtt felállítható, így a diétás kezelés időben megkezdhető. Vitatott, hogy felnőttkorban a tej és tejtermékek teljes megvonása enyhíthető-e vagy sem.

Nem szabad összetéveszteni a ***galaktozémiá***t (*galactosaemia*) a ***laktóz intoleranciá***val (*lactose intolerancia*), ami felnőttkori és a tejcukor bontása képességének megszűnése kapcsán kialakuló jelleg. (Bár kellemetlen tünetekkel jár, betegségnek nem tekintendő, mert az emlős állatokra fiziológiailag az egyedfejlődésük során a tejcukor bontási képesség elvesztése jellemző, ez a vad típus. Tulajdonképpen mutáció a laktáz enzim génje aktivitásának megmaradása a felnőtt korban is. Laktóz-mentes étrend mellett a panaszok értelemszerűen nem jelentkeznek).

GLÜKÓZ–6–FOSZFÁT–DEHIDROGENÁZ HIÁNY

X-hez kötött recesszív öröklődésű kórállapot. Tekintettel arra, hogy farmakogenetikai érdekességű jellegről van szó, a részletes tárgyalása abban a fejezetben (l. alább) kerül sorra.

A purin anyagcsere zavara, Lesch–Nyhan szindróma

Néhány különlegessége miatt röviden szólunk a Lesch-Nyhan szindrómáról[14], ami magas vér- és vizelet húgysav-szinttel, súlyos viselkedési zavarokkal és értelmi fogyatékossággal járó kórkép. X kromoszómához kötött recesszív jelleg, a ***HGPRT*** (hipoxantin-guanin-foszforibozil-transzferáz) enzim hiánya[15]. Szerencsére meglehetősen ritka. A HGPRT génje az X kromoszóma hosszú karjának végéhez közel helyezkedik el (az Xq27 régióban) és relatíve nagy. (Kb. 44 kbp-nyi DNS szakasz, amiben kilenc exon van. Mindez egy „mindössze" 218 aminosavból álló szekvenciát kódol, amihez 654 bp is ele-

---

[14] A tünetegyüttes mint önálló entitás felismerésének és leírásának idején Michael Lesch még orvostanhallgató volt.

[15] Ez az enzim képes guaninból ill. hipoxantinból nukleotid szintézisére, egy ribozil-foszfát csoport átvitelével. Nem ez az egyetlen enzim, ami GMP-t szintetizál, tehát hiánya nem letális, ez csak a DNS ill. RNS lebontásából felszabaduló guanin újrahasznosításában működik közre, s aktivitásának hiányára vezethető vissza a megemelkedett húgysavszint a vérben (*hyperuricaemia*, részletesebben l. a biokémia anyagában). Jóllehet a köszvény felnőttkori betegség, mindenekelőtt ettől kellett elkülönítenie Lesch-nek és Nyhan-nek az általuk vizsgált gyermek kórképét, mert a hiperurikémia elsősorban a köszvény velejárója. Mára a kép annyival színesedett, hogy egyes köszvényesekben felfedezték a HGPRT aktivitás részleges hiányát, amit a megbetegedés okának tarthatnak. Tanulságos példája ez annak, hogy ugyanazon enzim aktivitásának különböző fokú defektusa (= az enzim génjének néhány eltérő mutációja) más-más klinikai képben realizálódhat.

gendő lenne.) Ez magyarázza azt, hogy nagyobb a mutáció valószínűsége. Mára számos olyan HGPRT defektus vált ismertté, amelyben 1-50 %-nyi enzimaktivitás megmaradt, és ami nem jár ***Lesch-Nyhan szindróma***val[15].

Mivel a HGPRT enzim minden sejtben termelődik, a biokémiai ill. citokémiai diagnózis lehetséges. Ennek két fontos szempontja van: (1) a heterozigótaság kimutatása, és (2) a megfelelő prenatális diagnózis. Ad 1. Hordozó nők fibroblaszt tenyészeteiben igazolható, hogy – a Lyon hipotézisnek megfelelően – egyes sejtek negatívak a HGPRT enzimre, másokban viszont ez megvan. Hajhagymák mikrokémiai analíziséből az adódott, hogy vannak a negatívak és pozitívak mellett köztes értékeket adók is. Ezt úgy magyarázzák, hogy az elsők olyan sejt(ek)ből fejlődtek, amely(ek)ben az ép allélt hordozó X kromoszóma inaktiválódott, míg a második csoportba soroltaknál a helyzet éppen fordított. A harmadik lehetőség: az embrionális korban több sejt vett részt egy hajhagyma telepének kialakításában, s ezekben nem ugyanaz az X kromoszóma inaktiválódott. Ad 2. Bár a HGPRT illetve hiánya egyaránt kimutatható magzati amnialis és chorion boholy sejtekben is, komoly gondot jelent a jelentősen csökkent aktivitás pontos besorolása. Nagyon alacsony szintű maradék aktivitásnál is – eddigi ismereteink szerint – nem Lesch-Nyhan szindrómával állunk szemben, és a terhesség megszakítása indokolatlan. Ugyanakkor a Lesch-Nyhan szindróma mind súlyos lefolyása, mind fatális kimenetele miatt jogossá teszi a terhesség orvosi indokból történő megszakítását, ha a szülők ezt kérik. Megbízhatóbb a DNS-diagnosztika, de nem mondhatjuk még el, hogy minden lehetséges mutációt (és következményét) pontosan ismerünk.

Megvan a HGPRT egerekben, patkányokban, stb. is. Fontos gyakorlati jelentőségre tett szert a monoklonális ellenanyagok előállítására szolgáló hibridóma technikákban.[16]

Tárolási betegségek

Ezen megjelölés alatt többnyire azokat az anyagcsere zavarokat foglaljuk össze, amelyek valamelyik lizoszómális enzim működésének hiánya miatt jönnek létre. (Alkalmasint ide [is] szokták sorolni, mégis, a ***glikogén tárolási betegség***ek [*glycogenosis*ok]

---

[16] Immunizált egerek lépsejtjeit, amelyek *in vitro* nem tudnak osztódni, olyan egér mielóma sejtekkel olvasztják össze, amelyek eredetileg nem tudnak az ún. HAT mediumban szaporodni, mert HGPRT$^-$-ak. Csak a sejthibridek válnak képessé a szelektív közegben való proliferációra, mivel egyfelől tartalmazzák az immunkompetens egér B limfociták ép HGPRT génjét, másfelől örökölték a mieloma sejt „halhatatlanságá"-t. A hibridoma sejtek termelik azt az immunglobulint, amelyre a B limfocita specializálódott. Megfelelő kiválogatási eljárás nyomán, egyetlen sejtből kiindulva olyan tenyészet hozható létre, amely a kívánt ellenanyagot szintetizálja és választja ki növekedési közegébe.

ezektől sejtbiológiailag és sejtpatológiailag független csoportot alkotnak. Más megközelítés alapján ez utóbbiakat a szénhidrát anyagcsere zavarai keretében tárgyalja a legtöbb szakkönyv.) A – helyesebb és teljesebb megnevezéssel – ***lizoszómális tárolási betegségek*** közös jellemzője az enzimdefektus miatt le nem bontott anyag(ok) felhalmozódása ezekben a sejtszervecskékben. Ennek következménye: az érintett sejtek citoplazmájának egyre nagyobb hányadát foglalják el a raktározó és nem működő sejtorganellumok. Ha egy részük képes a tartalmát kiüríteni, a szóban forgó anyag megjelenik a vérben és a vizeletben, ahonnan kémiai azonosításával a betegség diagnosztizálható, azonban ez nem mindegyik ebbe a csoportba sorolható kórformára igaz. Míg a metabolikus zavar értelemszerűen az egész szervezet minden sejtjére vonatkozik, a kóros következmények ott válnak észlelhetővé, amelyik szövetben vagy szervben az érintett anyagcsere út aktivitása fontos. A már említett Tay-Sachs betegségben pl. a hexózaminidáz A hiánya bármilyen – sejtmagot tartalmazó – sejtből kimutatható (fehérvérsejtek, fibroblasztok, az amnion folyadékban található sejtek, stb.), mégis a le nem bontott G_{M2} gangliozid kóros tárolása és ennek minden következménye ott jelentkezik, ahol ez a molekula nagyobb mennyiségben van jelen a sejtek membránjában: a központi idegrendszerben.

A lizoszómális tárolási betegségek közé sorolt kórképeket általában az első leírójuk (leíróik) nevével jelöljük, csoportosításuk viszont a le nem bontott anyagok kémiai hovatartozása alapján történik, s ezen belül sorszámot is kapnak. Egy kivételével autoszomális recesszív öröklődésűek. (A Hunter kór X kromoszómához kötött recesszív betegség.) Hasonló a helyzet a glikogén tárolási betegségeknél is: majdnem mindegyik autoszomális recesszív öröklődésű (csak a VIII-as típusú X-hez kötött recesszív).

Ma glükóz-amino-glikán (GAG) a neve azoknak a molekuláknak, amelyeket régebben mukopoliszaharidokként emlegettek. Lizoszómális lebontási zavaruk eredménye adja a ***mukopoliszacharidózis***ok (*mucopolyszaccharidosis*) csoportját. Említettük már a ***szfingolipidózis***okat (*sphingolipidosis)* (amelyek közé a Tay-Sachs betegség is tartozik, mint az egyik gangliozidózis). Ide sorolandók még a ***mukolipidózis***ok (*mucolipidosis).*

DUPLA

Összefoglalás

(*1*) Az anyagcsere minden lépése enzim(ek) közreműködését igényli. Az enzimfehérjék génikus meghatározottságúak. Következésképpen ezeknek a géneknek bármilyen mutációja megzavar(hat)ja az egyes anyagcsereutak működését. Ennek eredménye lehet valamilyen fontos végtermék hiánya csakúgy, mint egy köztitermék kóros felszaporodása.

(*2*) Az anyagcsere veleszületett rendellenességeit először Garrod angol orvos és biokémikus írta le, tőle származik az „*inborn errors of metabolism*" kifejezés. (Ma talán már helyesebb lenne örökletes rendellenességekről szólnunk, hagyománytiszteletből használjuk a „veleszületett" szót.)

(*3*) Az enzimműködés hiányán alapuló rendellenességek általában recesszív öröklődésűek: heterozigótákban az egy normális (vad típusú) allél által biztosított enzim mennyiség elegendő szokott lenni a funkció ellátásához. A homozigóta recesszívek leggyakrabban ún. *compound* heterozigóták: két, molekuláris szinten különböző mutáns alléllel rendelkeznek, amelyek egyaránt funkcióképtelen fehérjét kódolnak (vagy semmilyent).

(*4*) Emberi populációkban a legismertebb aminosav-anyagcsere zavar a PKU: fenilketonúria. Ez a hiperfenilalaninémia leggyakoribb változata, a fenilalanin-hidroxiláz enzim működésképtelensége miatt a fenilalanin a májban nem tud tirozinná alakulni. E metabolikus blokk következtében a fenilalanin fenilpiroszőlősavvá (és más kóros anyagcseretermékekké) alakul. Következmény: súlyos értelmi fogyatékosság.

(*5*) Fenotípusosan a PKU jól korrigálható: a kötelező szűrővizsgálatok által felderített újszülöttkori esetekben fenilalanin-szegény diétával normális vagy közel normális szellemi és testi fejlődés érhető el. (Természetesen ez a kezelés nem korrigálhatja a genotípusos hibát.) A kezelés fiúknál egy bizonyos életkor után abbahagyható, mert az agy fejlődésének befejeztével már nem érzékeny a kóros anyagcsere-termékre. PKU-s nők reprodukciójuk lezárásáig diétán tartandók, mert magzatuk súlyos ártalmat szenved az anyai fenilalanin anyagcsere zavara miatt, ha azt nem kontrollálják.

(*6*) Ismeretesek atípusos hiperfenilalaninémia esetek is, amelyek a diétára nem reagálnak és nem a fenilalanin hidroxiláz, hanem más enzim defektusa a betegség oka.

(*7*) A melanin pigment képződésének hiánya okozza az albinizmust. Ennek több formája ismert aszerint, hogy milyen enzimaktivitás hiánya áll a rendellenesség mögött. Leggyakoribb a tirozináz defektusa, emiatt a tirozinból nem keletkezik dihidroxi-fenilalanin és ebből melanin. Az albínók legsúlyosabb tünete nem a pigmenthiány, hanem látásuk nagyfokú gyengesége.

(*8*) A lipidanyagcsere ismert zavara a Tay–Sachs betegség. Nagyságrenddel nagyobb gyakoriságú askenázi zsidók körében mint egyéb etnikai eredetű populációk tagjaiban.

PUBRESS

Korai halálhoz vezet a G_{M2} gangliozidnak az idegsejtekben történő felszaporodása következtében. (Emiatt tulajdonképpen a tárolási betegségek körébe is besorolható.) A metabolikus hiba a hexózaminidáz A hiánya.

(*9*) Lipidanyagcsere-zavar a familiáris hiperkoleszterinémia. Ebben nem enzimaktivitás hiánya, hanem az LDL-receptor funkció teljes vagy részleges károsodása okozza a kórfolyamatot. A patomechanizmus középpontjában az áll, hogy az LDL által szállított koleszterint a sejtek nem veszik fel, aminek magas vérszint a következménye. A heterozigóta állapot is kórosan magas koleszterin értékeket eredményez, azaz kifejeződik a fenotípusban, így minősül az öröklésmenet dominánsnak.

(*10*) Purin anyagcsere-zavar a Lesch–Nyhan szindróma, ami a HGPRT enzim aktivitásának hiánya hemizigóta férfiakban. A hipoxantin-guanin-foszforibozil-transzferáz génje ugyanis az X kromoszómán helyezkedik el, így a betegség nemhez kötött öröklődésű. Súlyos értelmi fogyatékossággal és egyéb tünetekkel jár.

Kérdések

(*1*) A fenilalanin esszenciális aminosav, a tirozin nem. Miért? PKU-ban szenvedő betegekben a tirozin is esszenciális aminosav. Mi lehet ennek az oka?

(*2*) Egy anyagcsereút köztitermékei általában nem szoktak felhalmozódni a sejtekben. Miért? Ha egy haploid élőlény mutáció következtében igényessé (auxotróffá) válik valamilyen bioszintetikus út végtermékére, igen gyakori jelenség, hogy a hiányzó enzimatikus lépés előtti köztiterméket nagy mennyiségben választja ki magából. Ugyanazon auxotróf igényű, de különböző eredetű mutánsok segítségével egy bioszintetikus anyagcsereút egyes lépései feltérképezhetők. Hogyan és miért?

(*3*) A megelőző kérdésben haploid élőlényekről volt szó. Nem érvényes hasonló megfontolás a diploidokra is?

(*4*) Haploid eukariótákon tett megfigyelésekből vonhatunk-e le következtetéseket az emberi anyagcsereutakra?

(*5*) Megfigyeltek olyan eseteket, amelyekben haploid auxotróf mutánsok a megfelelő anyagcsereút semmiféle köztitermékét sem választották ki a környezetbe. Mi lehet ennek a magyarázata?

(*6*) Feltételezhető-e, hogy a DNS olyan mutációi, amelyek egyetlen aminosavcserét okoznak, megváltoztatják a megfelelő fehérje elektroforetikus mobilitását? (Vö. a molekuláris genetikai fejezetekkel!)

(*7*) Az USA-ban a PKU előfordulási gyakoriságát az újszülöttek szűrésekor igen eltérőnek találták: Massachusettsben 8000-ből 1, ami kifejezetten magas az országos átlag-

hoz viszonyítva, míg a fővárosban praktikusan nem fordul elő. Mi lehet ennek a magyarázata? (Összehasonlításul: Magyarországon mintegy 1/10 000 a gyakoriság.)

(*8*) Olyan nők vizsgálata, akik biztosan heterozigóta hordozói a *G6PD* mutációjának, azt mutatta, hogy az átlagos enzimszintjük igen széles határok között ingadozik. Mivel magyarázza ezt a populációs megfigyelést?

(*9*) Az emlős állatok – természetes körülmények között – a szopás befejezése után nem fogyasztanak tejcukrot. A vékonybélben működő laktáz enzim aktivitása bennük lassan megszűnik. Ugyanez vonatkozik az emberre is két éves kora után. Ennek megfelelően kialakul a laktóz-intolerancia, azaz nagyobb mennyiségű tej fogyasztása puffadást, hasmenést (és egyéb kellemetlen tüneteket) okoz. Az utóbbi révén akár alultápláltsághoz is vezethet, ha a tejjel itatást erőltetik. Az európai (és az innen származó) népekben elterjedt egy domináns mutáció, ami fenntartja a laktáz szintézist az egyén teljes élettartamára. Ugyanez a mutáció más rasszokban csak ott mutatható ki – az európai népességnél jóval kisebb arányban –, ahol ősidők óta foglalkoznak tejtermeléssel. (a) Mi okozhatja a laktóz-intoleráns személyek panaszait nagyobb mennyiségű (akár egy csésze is elég lehet) tej elfogyasztása után? (b) Miért ehetnek ők minden gond nélkül joghurtot, sajtot, és számos egyéb tejterméket? (c) Emberbaráti szervezetek gyakran küldenek tejport az afriaki éhezőknek. Mi a véleménye erről a segítségről?

(*10*) Modern világunkban nem ritkán előfordul, hogy valamilyen élelmiszeripari termék fogyasztása igen bizonytalan, de leginkább a tejcukor hatását utánzó emésztőrendszeri panaszokat okoz. Mivel magyarázhatjuk meg ezt?

(*11*) A Hurler és a Hunter kór egyaránt a mukopoliszacharidózisok, azaz a lizoszomális tárolási betegségek közé tartozik. Ha fibroblaszt tenyészetet készítünk ilyen betegek bőrbiopsziájából, a Hunter-kóros sejtek tápfolyadéka a Hurler-kóros betegek sejtjeihez adva képes azok hibáját korrigálni, és ugyanígy megfordítva is. Mondhatjuk-e ezen kísérlet alapján, hogy a két betegségért ugyanannak a lokusznak eltérő alléljei felelősek?

(*12*) A megelőző kérdésben szereplő, Hunter szindrómás betegből származó fibroblasztokban kimutatható-e Barr-test?

Válaszok

(*1*) Az emberi szervezet képtelen a fenilalanin bioszintézisére, ezért azt a táplálékában a szükségletet maradéktalanul kielégítve meg kell kapnia. A tirozint viszont fenilalaninból elő tudjuk állítani fenilalanin-hidroxiláz segítségével. PKU-ban éppen ez

az enzim hiányzik, ezért „lép elő" esszenciális aminosavvá a tirozin, ami nem csak a fehérjék bioszintéziséhez nélkülözhetetlen, hanem számos egyéb, biológiailag nélkülözhetetlen molekula előanyaga is.

(*2*) Ha a kórosan felhalmozódó köztiterméket a sejt nem választaná ki magából, ozmotikus egyensúlyi állapota felborulna. A különböző auxotróf mutánsok fenotípusa azonos: egy bizonyos anyagot meg kell kapniuk a környezetükből életbenmaradásukhoz, amit a vad típusú (prototróf) fajtársaik nem igényelnek, mert maguk is elő tudnak állítani. Ugyanakkor ezen mutánsok az anyagcsereút más-más lépéseiben lehetnek blokkoltak (a közreműködő enzimek bármelyikének génje szenvedhet mutációt). Ezek különböző köztiterméket választanak ki nagyobb mennyiségben, amelyek kémiai azonosítása és megfelelő sorrendbe szedése felderítheti az egymást követő bioszintetikus lépések helyes sorrendjét, valamint az azokat katalizáló enzimeket. Ezt a vizsgálatot kiegészíthetjük azzal, hogy az auxotróf mutáns nem csak a hiányzó végtermékkel, hanem a benne blokkolt lépésből származó köztitermékkel is életben tartható: ebből már be tudja fejezni a normális anyagcseréjéhez szükséges molekula szintézisét.

(*3*) De igen. Technikai okokból azonban lényegesen könnyebb az ilyen kísérletek elvégzése és eredményeinek értékelése haploid élőlényeken (pl. *Aspergillus nidulans*, *Neurospora crassa*, *Saccharomyces cerevisiae*, stb.) A diploidnak homozigóta recesszívnek kell lennie a megfelelő fenotípus kialakulásához, míg haploidban az egy vonatkozó allél fejeződik ki. Ugyanakkor a használt haploidoknak is van diplofázisuk, ami lehetővé teszi a megfelelő genetikai analízist.

(*4*) Igen, de természetesen nem mechanikusan. Az élővilág közös eredete és az életfontos anyagcsereutak igen nagyfokú konzervativizmusa ezt általában megengedi. A közreműködő enzimek aminosav-sorrendjének néha meglepően nagy a homológiája az ember és mondjuk egy olyan távoli faj, mint a pékélesztő esetén is. Ennek megfelelően az általuk katalizált reakciók és létrehozott bioszintetikus utak is kifejezetten hasonlóak. Ugyanakkor gyakori, hogy a magasabbrendűekben olyan „tartalék" folyamatok is kialakultak az evolúcióban, amelyek megfelelőit alacsonyabbrendűekben nem találjuk meg.

(*5*) A bioszintetikus anyagcsereutakra jellemző a végtermék gátlás. Ez azt jelenti, hogy a metabolikus út végterméke allosztérikusan gátolja a rendszer első enzimét: ha feleslegben felhalmozódik, több szintézisére nincs már szükség. A lánc első enzime működésének fiziológiás gátlása megakadályozza, hogy a köztitermékek felszaporodjanak, az első enzim befolyásolásával szabályozható az egész folyamat. Ha a kísérleti mikroorganizmus tápközegéhez nagy mennyiségben adják a kívánt végterméket, ez ugyanúgy kiváltja az első, és következésképpen a láncban meglevő összes többi enzim működésének leállását, mint a fiziológiás szabályozó hatás. Más lehetőség: a köztitermékét a sejt valamilyen egyéb úton is képes metabolizálni, és így az nem halmozódhat fel.

(*6*) Csak akkor, ha töltésváltozást okoz (pl. neutrális aminosav-oldallánc helyére kerül pozitív vagy negatív töltést hordozó, vagy egy töltéssel rendelkezőt vált fel neutrális avagy ellenkező töltésű), ill. ha igen jelentősen megváltoztatja a fehérje alakját (mely utóbbi lehetőség inkább csak elméleti egy aminosav cseréje esetén).

(*7*) A magyarázatot a lakosság eltérő etnikai eredete adja. Massachusetts benépesülése olyan populációkból történt (főként írek), ahol a recesszív allél gyakorisága magasabb, mint más populációkban, pl. mint az afrikai eredetűekben. (Washington város lakosságának nagy többsége feketebőrű.)

(*8*) Az X inaktiválódás jelenségével. Az átlagérték nagyjából a normális kontrollokban meghatározhatónak a fele, de az individuális eltérések e populáción belül nagyok. Ha egy egyénben – véletlenszerűen – többször inaktiválódott Barr-testté az az X kromoszóma, amelyik a hibás allélt hordozza, mint a homológja, ez az illető sejtjei összességére vonatkozóan magasabb G6PD aktivitást eredményez, mint egy másik heterozigótában, ahol a vad típusú allélt hordozó X inaktiválódott a sejtek nagyobb hányadában.

(*9*) a) Ha a gazdaszervezet képtelen a laktóz haszonosítására (a diszaharidok nem szívódnak fel a vékonybélből!), mértéktelenül elszaporodnak a bélbatériumok, mindenekelőtt a tejcukrot jól fermentáló *E. coli*. Ha nem is egyedül, de elsősorban ez vezet a kellemetlen tünetek kialakulásához. A hasmenés megakadályozza az egyébként hasznosítható tápanyagok megfelelő felszívódását is. b) Mindazon tejtermékekből, amelyeket valamilyen mikroorganizmus(ok) fermentációs tevékenysége révén nyerünk, hiányzik (vagy csak elenyésző mennyiségben marad meg) a tejcukor. Pl. az anaerob glikolízis nyomán a cukorból tejsav keletkezik. Ennek savanyító hatására „alszik meg" a tej, csapódik ki oldatából a kazein. c) Az éhezők általában nem a pásztorkodással tejet (is) termelő népek közül kerülnek ki. Tejpor fogyasztása a laktóz-intoleranciát mutatókban tovább ronthatja az állapotukat, valamint véglegesen megingathatja bizalmukat az élelmiszersegélyek fogyaszthatóságában.

(*10*) Számos húsipari termék (felvágottak, konzervek, stb.), salátaöntet, cukrászipari édesség és egyéb tartalmaz(hat) adalék- vagy töltelék-anyagként tejport, ami a laktóz-intoleranciában szenvedőkben a tejfogyasztás utáni kellemetlen tüneteket válthatja ki. Míg ők a tejet tudatosan kerülik, nem biztos, hogy ugyanezt teszik pl. a vagdalthús konzervvel is.

(*11*) Nem. A kölcsönös korrekció azt jelenti, hogy más lizoszomális enzim hiányzik az egyik és más a másik kórképben, azaz ezek génjei nem lehetnek egymás elléljei, hanem különböző lokuszokhoz tartoznak. (Érdekes módon az ilyen enzimek sejttenyészetekben kikerülnek a tápfolyadékba, onnan pedig endocitózissal bejuthatnak a lizoszómákba – így történhet meg az állapot korrigálása *in vitro*. Részletesebben l. a Sejtbiológia sorozatban a GERL rendszerről írottakat.) Egyébként – az enzimhiányos állapotokra jellemzően – recesszív kórképekről van szó, a Hurler szindróma autoszomális,

a Hunter génje az X kromoszómán van. (Ez utóbbi az egyetlen X-hez kötötten öröklődő tárolási betegség – mai ismereteink szerint.)

(*12*) A fenti válaszból következően nem: a Hunter-kóros betegek hemizigóta férfiak, egy X kromoszómájuk van.

DUPress

7. FEJEZET

VÉRCSOPORTOK GENETIKÁJA ÉS A HLA RENDSZER

AZ ABO vércsoportrendszer

Az Rh rendszer

Egyéb vércsoportok

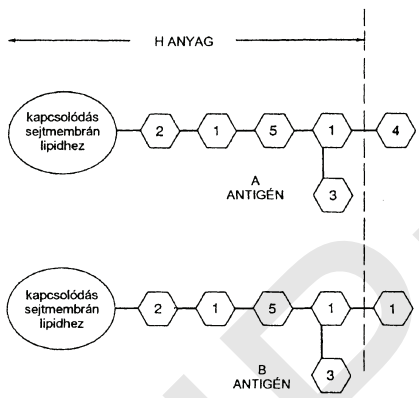
A HLA rendszer genetikája

A laikus közvélemény jobbadán két vércsoportrendszert ismer: ABO és Rh, míg az orvostudomány ennél jóval többet. E fejezetben igyekszünk csak a legfontosabbakra vonatkozó, genetikailag szükséges minimumot összefoglalni, eltekintve a felfedezések történetének ismertetésétől, a hibás vértranszfúziók következményeinek és az inkompatibilis terhességekből született csecsemők tünettanának leírásától. Mindenképpen hangsúlyoznunk kell azonban, hogy az emberiség egyik igen jellegzetes polimorfizmusát képviseli az itt tárgyaltak köre: nem ritka az olyan vércsoportrendszer, amelyikben nem két, hanem több lehetséges fenotípusos variációval találkozhatunk, s mindezek szabad kombinálódása egy-egy egyénben már megkérdőjelezné a sikeres vérátömlesztések lehetőségét, ha az egyéb rendszerek is ugyanolyan fontosak lennének ebből a szempontból, mint az ABO és az Rh-faktor.

PUPress

Az AB0 vércsoportrendszer

Vörösvérsejtjeink felszínén számos olyan anyag (molekula, vagy annak csak egy részlete) található, amely vérátömlesztéskor a befogadó szervezet azonnali vagy későbbi immunválaszát váltja ki, azaz a recipiensben antigénként viselkedik. Az AB0 rendszerben az antigenitásért egy oligoszacharid molekula végálló monoszacharid egysége a felelős (7.1. ábra).



7.1. ábra. *Az AB0 rendszer oligoszacharid antigénjeinek szerkezeti vázlata.* A szaggatott vonaltól jobbra eső monoszacharid adja a molekula A vagy B típusúnak elnevezett antigenitását. 0 vércsoport esetén csak a H anyag (H antigén) van meg a sejtfelszínen. A sejtmembránhoz kötött antigén lipid molekulához kapcsolódik. Szekretorokban kötődhet fehérjéhez, és ilyen formában oldottan jelenik meg a különböző testnedvekben. (A számmal jelzett monoszaharid egységek: 1 = galaktóz, 2 = glükóz, 3 = fukóz, 4 = N-acetil-galaktózamin, 5 = N-acetil-glükózamin.)

Ez a szénhidrát egység lipidhez kötve helyezkedik el a sejtmembrán külső felszínén. Bioszintézise a H anyag elkészültéig egyforma mindenkiben. Ha a molekula nem nyer további egy monoszacharidnyi toldást, ez a fenotípus a 0 vércsoport. Amennyiben N-acetil-galaktózamin a végálló egység, A csoportú, ha galaktóz, B vércsoportú a szóban forgó egyén. AB-s az, akiben mindkét típus egyszerre megvan. Ezt a négyféle lehetséges fenotípust egyetlen lokusz három allélja határozza meg, azaz a többszörös (multiplex) allélia egy példájával állunk szemben[1]. Természetesen egy egyénben csak két allél lehet jelen egyidejűleg.

[1] A glikolipid molekula lipoid része a sejtmembrán lipid kettősréteg külső felében van, így horgonyzódik le az oligoszacharid a membránban. Ugyanez – az antigenitásért felelős – molekulafél előfordulhat glikoproteidként is egyes emberekben, az ún. szekretorokban. Bennük egy más lokusz *Se* allélja (homo- vagy heterozigótában) olyan enzimet determinál, ami képes a lipidhez kötötten szintetizálódó A, B vagy H anyagot megfelelő fehérje-oldalláncra áthelyezni. Ez a reakció

Az AB0 rendszer különlegessége, hogy az adott szervezetben nem szereplő antigén molekula ellen – látszólag veleszületetten – megvan a megfelelő ellenanyag, anélkül, hogy a hagyományos immunizálódási folyamatnak le kellett volna játszódnia. Azaz egy A vércsoportú ember vérplazmájában anti-B, a B-ében anti-A kering, 0 vércsoportúban mind az anti-A, mind az anti-B megvan, és ehhez nem szükséges idegen vörösvérsejtek bevitele a keringésbe. Mivel az AB vércsoportú mindkét antigénnel rendelkezik, így benne sem anti-A, sem anti-B ellenanyag nem lehet, hiszen a saját (testazonos) molekulák ellen termelődő antitestek tiltottak (l. immunológia). Amióta tudjuk, hogy az immunglobulinok termelésének képessége és ennek molekuláris mechanizmusai – de a molekula fajlagos kapcsolódási képessége egy adott antigén megfelelő epitópjához közvetlenül már nem – génikusan igen precízen meghatározottak és szabályozottak (l. az immungenetikáról szóló fejezetben), azóta nem lehetett kérdéses, hogy az anti-A vagy anti-B specificitású ellenanyagok termelése nem függvénye az A, ill. B antigén szintézisének vagy hiányának. Mára már ismert: egyes baktériumok sejtfelszíni antigénjei hasonlítanak olyan mértékben az AB0 rendszer antigén-determinánsaihoz, hogy az ellenük termelt immunglobulinok hordozzák az anti-A, ill. anti-B specificitást. Ilyen baktériumokkal való (latens) fertőzésen már csecsemőként mindenki átesik.

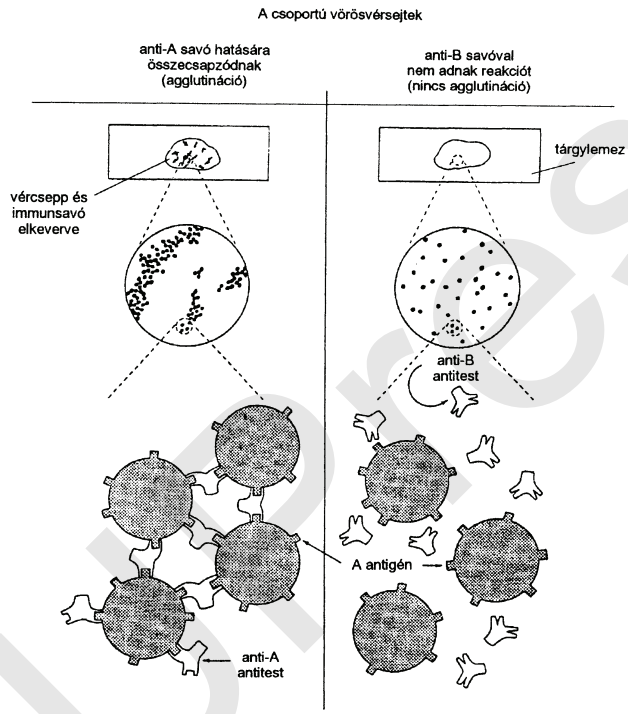
Az AB0 lokusz három alléljának a jele: I^A, I^B és *i*. Az első kettő egyaránt domináns az *i*-vel szemben, egymással viszont kodomináns viszonyban vannak. Ennek megfelelően az A vércsoportot meghatározó genotípus lehet I^AI^A homozigóta vagy I^Ai heterozigóta, hasonlóan a B csoport esetén I^BI^B homo- vagy I^Bi heterozigótaságról van szó, az AB csak I^AI^B heterozigóta, míg a 0 kizárólag *ii* homozigóta lehet.

Molekulárisan mindez úgy magyarázható, hogy *ii* genotípus esetén nem képződik (vagy inaktív) az az enzim, amely képes megtoldani egy monoszacharid egységgel a H anyagot. Az I^A és I^B egyaránt determinál ilyen funkciójú fehérjét, aminek egyik szubsztrátja mindkét esetben a H anyag, de ehhez az I^A által meghatározott változat N-acetilgalaktózamint, míg az I^B által kódolt viszont galaktózt tud kapcsolni. Egyetlen domináns allél a genotípusban már elegendő annyi enzim bioszintéziséhez, amennyi a H anyagot szinte maradéktalanul képes továbbalakítani. Két különböző enzim jelenléte pedig mind az A, mind a B anyag szintézisét – egymástól függetlenül, de egyidejűleg – katalizálja. Az AB vércsoport tehát nem valamiféle köztes állapot az A és B között, hanem két allélnak a fenotípusban való egyidejű, azonos erősségű expressziójának, azaz kodominanciájának az eredménye.

---

a *sese* genotípusú non-szekretorokban nem játszódik le. A fehérjéhez kötött antigén megjelenik a szekretorok testnedveiben és váladékaiban, nyálában, ondójában, tejében, stb., azaz pl. a vércsoportjuk ezekből is meghatározható. (Ennek régebben nagy igazságügyi orvostani jelentősége volt, ami manapság – a legmodernebb DNS-technikák bevezetésével – csökken.)

A fenotípus meghatározása hagyományosan (7.2. ábra.): külön-külön anti-A és anti-B savóval is elkeverik a vizsgálandó vér egy-egy cseppjét. Ha csak az elsővel kezelve csapzódnak össze (agglutinálódnak) a vörösvérsejtek, A csoportú a vizsgált személy, ha csak a másodikkal, B vércsoportú, és ha mindkettővel, akkor A is és B is, azaz AB. Amennyiben egyikkel sem, akkor 0.



7.2. ábra. *Az AB0 vércsoportmeghatározás vázlata.* Tárgylemezre cseppentik a meghatározandó vérmintát, és melléje a megfelelő immunsavót. A kettőt összekeverik. Ha van antigén–antitest reakció, agglutináció játszódik le, ami szabad szemmel is látható rögösödésként észlelhető, bizonytalanság esetén mikroszkóposan ellenőrizhető. Anti-A immunsavó agglutinálja az A és AB vörösvérsejteket, anti-B a B és AB csoportba tartozókat (azaz az utóbbi típust mindkettő), a 0-t egyik sem. Itt a hagyományos, betegágy melletti meghatározási módszert látjuk, ma már érzékenyebb, precízebb eljárások is léteznek, és el szokták végezni az adó és kapó vérének keresztreakciós próbáját is (a vérellátó osztály laboratóriumában).

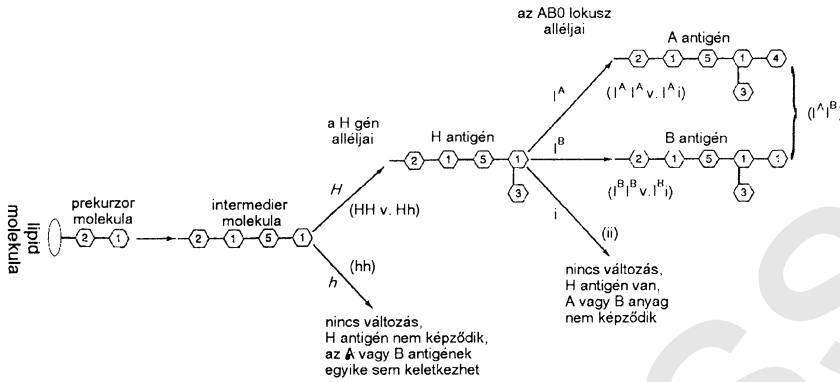
Dupress

Az AB0 antigének örökletes meghatározottságára nem sokkal a rendszer felfedezése után rájöttek a kutatók, ez formális genetikai módszerekkel jól levezethető volt, és a vércsoportvizsgálat csakhamar igazságügyi orvosi jelentőségre is szert tett apasági keresetekben. Egyik alléljét a gyermek mindenképpen biológiai apjától örökli, tehát pl. 0 vércsoportú anya B típusú magzatának az apja csak B vagy AB vércsoportú lehet, 0 vagy A semmiképpen, AB-s gyermek apja nem lehet 0-ás (és az anya vércsoportjától függően alkalmasint vagy A vagy B nem), és így tovább. Ez azonban csak kizárásos elv, bizonyíték atekintetben, hogy ki nem lehet a természetes apa, és jelzése annak, ki az, aki nem zárható ki; de nem használható bizonyítékként annak állítására, hogy ki a keresett személy, ha – mondjuk – többen is szóba jöhetnek mint nem kizárhatók. Növelte a biztonságot az egyéb vércsoportrendszerek meghatározásának bevonása az apasági keresetekkel kapcsolatos antropogenetikai vizsgálatokba, de ezek együttesen sem bizonyultak annyira polimorfaknak, mint a HLA rendszer (l. alább), ami egy időre így előtérbe került. Végezetül a DNS polimorfizmusok felfedezése feleslegessé tette a vércsoportok meghatározását az ilyen bírósági ügyek esetében.

Különös megfigyelést tettek az 1950-es években Bombayben. Két vérátömlesztésre szoruló sérült esetén is előfordult, hogy 0 vércsoportúnak mutatkozott, de az előzetesen elvégzett *in vitro* kereszt-próbák kizárták a szóba jöhető 0 vércsoportú donorokat. Mindkét recipiens-jelölt savójának 0 típusú vörösvérsejteket agglutináló hatása anti-H ellenanyagra volt visszavezethető, s így kiderült, a szóban forgó egyének csak a hagyományos vércsoport-meghatározási technika révén bizonyultak 0-nak – „ha nem-A és nem-B, akkor 0 (nulla)" elven –, valójában H anyagot nem termeltek. (Anti-H ellenanyag is előállítható az ilyen vizsgálatokhoz, valamint – mint a példa mutatja – egyes emberek vérszérumából is kinyerhető, de megfelel helyette egy növényből [*Ulex europaeus*-ból] kivont lektin is, ami H-specifikus.) Ez a recesszív episztázis ismert (és klinikai gyakorlatban fontos) példája. *hh* genotípus esetén a H anyag nem, csak *HH* vagy *Hh* esetén termelődik. A *hh* tehát tulajdonképpen nem 0, és családvizsgálatokból le is vezethető, ha I^A, I^B, vagy mindkét alléllel rendelkezik, ami azonban nem juthat kifejeződésre a fenotípusban, mert nincs H anyag, amit az ezek által determinált enzim átalakíthatna. A felfedezés helyéről ***Bombay vércsoport***nak elnevezett fenotípus klinikai jelentősége, mint láttuk, rendkívül nagy, a *h* allél gyakorisága azonban olyan alacsony, hogy bizonyos indiai népességen és ennek kivándorolt leszármazottain kívül az előfordulása igen ritka[2] (7.3. ábra).

---

[2] Ha valaminek az orvosi jelentőséggel bíró előfordulása nagyon ritka, ez mindig azzal a veszéllyel jár, hogy az orvosok nem is gondolnak rá, aminek alkalmasint fatális következményei lehetnek. Orvosi tanulmányai kezdetétől kell mindenkinek arra törekednie, hogy diagnosztikus tevékenysége során mindig kész legyen a kivételek, a ritkaságok lehetőségének felvetésére és megvizsgálására is (aminek természetesen nem szabad azt jelentenie, hogy valaki csakis és elsősorban a raritások



7.3. ábra. *Az AB0 rendszer fenotípusainak kialakulása.* Szokták ezt a sémát az ABH antigének bioszintetikus útjaként is megnevezni. (A cukrok kódjának jelentését l. 7.1. ábrán.)

(Nem tartozik a genetikai ismeretek körébe, de itt is fel kell hívnunk a figyelmet egy széles körben, alkalmasint még orvosok között is elterjedt régi tévhitre, ami azt mondja, hogy vérátömlesztés szempontjából az AB vércsoportú „univerzális kapó", a 0-ás pedig „univerzális adó". Az érv: az AB-be tartozónak sem anti-A, sem anti-B ellenanyag nincs a vérszérumában, tehát az idegen sejteket nem tudja agglutinálni, a 0 típusba tartozó sejtek felszínén pedig nincs olyan antigén, amelynek révén kicsaphatók lennének a nem csoportazonos idegen szervezet keringésében. Ez természetesen igaz, de teljes vér transzfúziója esetén a donor anti-A és/vagy anti-B ellenanyagai károsíthatják – az átvitt mennyiség függvényében – a recipiens saját vörösvérsejtjeit. Ugyanakkor mosott vörösvérsejt-szuszpenzió beadása esetén, amit ma már egyre szélesebb körben alkalmaznak, természetesen követhető az említett megfontolás.)

Az A és B antigének nem csak a vérátömlesztések, hanem általában a szerv- és szövetátültetések szempontjából is meghatározó jelentőségűek, mivel nem csak a vörösvérsejtek, hanem szöveti sejtek felszínén is kifejeződnek. A recipiensnek ugyanazon csoportba kell tartoznia, mint a donornak (de itt igaz, hogy a 0 „általános adó").

Az AB0 rendszerben tapasztalható anyai-magzati inkompatibilitásról a következő alfejezetben szólunk.

---

oldaláról közelítse meg és állítsa össze betege kivizsgálásának stratégiáját). Lehet egy génikusan meghatározott jelleg, kórkép statisztikailag elhanyagolhatónak minősített előfordulású, az adott betegnek ez maga a 100 %!

Az Rh rendszer

Ha nyulakat immunizálunk A vércsoportú ember vörösvérsejtjeivel, anti-A immunsavóhoz juthatunk (ami diagnosztikus célokra alkalmas). Ugyanez igaz számos egyéb vércsoport-tulajdonságra is. Landsteiner (akinek nevéhez az AB0 mellett még egyéb vércsoportok felfedezése is fűződik) és Wiener azonban azt tapasztalták, hogy ha *Macacus rhesus* majom vörösvérsejtjeivel kezelt nyúl immunsavóját emberi vérrel hozták össze, az is agglutinálta a vizsgált minták mintegy 85 %-át, a többit viszont nem. A majoméval azonos emberi antigént rhesus faktornak nevezték el, rövidítve Rh, és a vele rendelkezőket Rh-pozitívaknak (Rh^+), míg a többieket Rh-negatívoknak (Rh^-) mondjuk. Ez a másik olyan vércsoport-tulajdonság, ami alapvető fontosságú a vérátömlesztések során, az inkompatibilis transzfúzió orvosi műhiba. Rendkívül nagy a jelentősége ezen kívül az újszülöttek hemolitikus megbetegedésében is, így ez olyan öröklött jelleg, aminek vizsgálata igen széles körben kötelező.

Az Rh rendszert a hagyományos genetikai megközelítéssel először összetettnek írták le. Az eredetileg feltételezett „Rh gén"-ről az a kép alakult ki, hogy (az 1-es kromoszómán elhelyezkedő és szoros kapcsoltságban levő) három lokusz *C, c, D, d, E* és *e* alléljai tartoznak ide; és a *d* kivételével mindegyik valamilyen antigént határoz meg[3], amelyek egymás közeli rokonai. Gyakorlatilag azonban csak a második párosnak tulajdonítottak jelentőséget: a D (erős) antigénnel rendelkezők (a *..DD..* vagy *..Dd..* genotípusúak) az Rh^+-ak, az ilyet vörösvérsejtjeik felszínén ki nem mutatók Rh^--ak. Más szavakkal: az Rh-pozitivitás dominánsan öröklődik, az Rh-negatívok homozigóta recesszívek (a *d* allélra). Mára tisztázódott, hogy a formálgenetikailag recesszívként leírt *d* valóban deléció következménye, s mint ilyen, nem határozhat meg semmiféle fehérjét.

A *D* allél által kódolt RhD polipeptid (417 aminosavból áll) egy vörösvérsejt transzmembrán fehérje, amelynek – értelemszerűen – az extracelluláris felszínen lévő része az antigenitás hordozója. Nem glikozilált. (Tehát, szemben az AB0 rendszerrel, itt a fehérje az antigén. Ez meg is magyarázza azt, hogy miért nem történik meg az anti-Rh ellenanyag termelése mindaddig, amíg egy Rh^- egyén szervezetébe Rh^+ vörösvérsejtek nem kerülnek.)

A *CcEe* lokuszról kiderült, hogy az valójában csak egy. (Vélhetően génduplikációval származhatott a *D*-ből, olyan nagyfokú homológiát mutat azzal: a 417-ből csak 38 aminosavnyi az eltérés a polipeptidláncok között.) Az E és e polipeptid teljes hosszúságú produktuma a génnek, különbség az e-ben az E-vel szemben mindössze az 5. exonban levő egyetlen pontmutáció. A C és c ugyanerről a lokuszról átírva rövidebb mRNS-t

[3] A *d*-t a „nincs D" értelemben kezdték el használni.

jelent, a 4., 5. és 6., vagy a 4., 5. és 8. exon szekvenciájának kivágásával. Emellett a C és c közötti konkrét különbség négy aminosav szubsztitúció az 1. és 2. exon területén.

Alapvető eltérés az AB0 rendszertől, hogy Rh^- személyek csak Rh^+ vörösvérsejtek parenterális[4] bejutása esetén kezdenek el anti-D ellenanyagot termelni. (Ez jelenti azt is, hogy végszükségben Rh^- férfi életében először és utoljára kaphat Rh^+ donortól vért, ha Rh^- nem áll rendelkezésre és az élet megmentésének ez az egyetlen lehetséges módja. Nők esetén más megfontolások érvényesek.)

Magzati (újszülöttkori) hemolitikus betegség. Elvileg nem, gyakorlatilag azonban átjuthatnak a placentán keresztül magzati sejtek az anyai vérkeringésbe. Különösen nagymértékű lehet a magzati sejtek bejutása a szülés vagy vetélés során. Rh^- anya hordozhat Rh^+ magzatot: Rh^+ férje genotípusának függvényében erre 1/2 vagy 1 az esélye. Az első ilyen Rh-inkompatibilis terhességben általában semmilyen károsodás nem éri a gyermeket, de a megfelelő óvórendszabályok elmulasztása esetén az anyában meginduló anti-D ellenanyag-termelésnek a későbbiekben fatális következményei lehetnek. Ugyanis a méhlepényen keresztül az anyai IgG osztályú antitestek átlépnek a magzati keringésbe (ez fiziológiás követelmény), és ha ezek között anti-D is van, a magzat pedig a második alkalommal is Rh^+, akkor az anyai ellenanyag *in vivo* feloldja – inkább, mintsem agglutinálná – az Rh^+ vörösvérsejteket, ennek eredménye anémia, ugyanakkor a kiszabaduló hemoglobin súlyos elváltozásokat okoz. (Egyidejűleg az anyai szervezetbe kerülő Rh^+ sejtek stimulálják annak anti-D termelését.) A világra jövő újszülött állapota függ mindenekelőtt attól, hogy hányadik inkompatibilis terhességből született, valamint az anya immunválaszának erősségétől. A *hydrops foetalis* halálos, de az élettel összeegyeztethető hiperbilirubinémia is okozhat olyan központi idegrendszeri elváltozásokat, amelyek súlyosan fogyatékossá tehetik az újszülöttet későbbi egész életére.

Régebben, amikor még nem fejlesztették ki a megelőzés módját, általában a második inkompatibilis terhességből született gyermek sem szenvedett életveszélyes ártalmat, de a harmadik, stb. már egyre súlyosabbat, ide értve az intrauterin elhalás lehetőségét is. Heroikus küzdelmet jelentett sokszor a gyermek életének megmentésére a születés után elvégzett teljes vércsere (a köldökereken keresztül), ami sikeres lehetett a további károsodások megelőzésében, de nem javíthatta az intrauterin életszakaszban már bekövetkezetteket, ha voltak ilyenek. Ezért egyesek már arra is vállalkoztak, hogy *in utero* adjanak vértranszfúziót intraperitonealisan.

Ma az Rh-inkompatibilis házaspárok esetén kötelező a preventív anti-D adás már az első terhesség kapcsán, ha a magzat Rh^+-nak bizonyul. Ez már prenatális diagnosztikával megállapítható. A szüléskor (vagy utána legkésőbb egy-két napon belül) megfelelő dózisban adott ellenanyag minden magzati eredetű vörösvérsejtet lefed a szü-

[4] Nem a gyomor-béltraktuson át (ahol a fehérje lebomlana).

lőnő keringésében a D antigénhez kapcsolódva, így az rejtve marad az anyai immunrendszer előtt, nem indul meg az anyai anti-D termelés. Ennek a megelőző rendszabálynak az elmulasztása orvosi műhiba. Nem véletlen azonban az a megfogalmazás, hogy „az első terhesség kapcsán". Ez ugyanis megszakadhat spontán és végződhet művi vetéléssel is, stb. Különösen az utóbbi – bizonyos módszerek alkalmazása esetén – jelent szinte 100 %-os esélyt a nagy mennyiségű magzati antigénnek az anya szervezetébe kerülésére. Genetikai vizsgálat céljából végzett amniocentesis is vezethet Rh-immunizációhoz. Vitatott, hogy a terhesség alatt – annak utolsó negyedében – szükséges-e az anti-D savó adása. Ennek ugyanis vannak veszélyei egyfelől, másfelől pedig a tapasztalatok azt mutatják, hogy a terhesség alatti minimális vörösvérsejt átjutás az anyai szervezetbe nem feltétlenül indít el olyan fokú immunválaszt, mint teszi azt a szülés során bekerülő sokkal nagyobb mennyiség.

Joggal merül fel a kérdés: egy házaspár AB0 inkompatibilitása nem járhat-e hasonló következményekkel az utódokra? Természetesen igen – elvileg bármilyen olyan magzati antigén, amely nincs meg az anyában, immunizációt okozhat! –, de a tapasztalatok szerint ez ritkább és kevésbé súlyos szokott lenni[5]. (A kisebb gyakoriság itt a ténylegesen inkompatibilis anya [0] és magzata [A vagy B] eseteiben bekövetkező károsodásokra vonatkozik. Ugyanakkor – a két rendszer említett eltéréséből következően – az AB0-összeférhetetlenség tünetei már az első terhességben megjelenhetnek.)

Külön érdekesség: egyidejű AB0- és Rh-inkompatibilitás mellett ritkább és kevésbé súlyos a magzati hemolitikus betegség (az AB0-összeférhetetlenség mintegy „védelmet nyújt" az Rh-inkompatibilitás hatásai ellen, vélhetően azért, mert még azelőtt eliminálja a szóban forgó sejteket, mielőtt azok megindíthatnák az anti-D produkciót). Mindezek vonatkozásában a megfelelő immunológiai, kórélettani, szülészeti és neonatológiai könyvekre utalunk (azaz a későbbi orvosi tanulmányokra). Ide még csak az tartozhat, hogy a Kell vércsoportot is egy magzati hemolitikus betegség okának kiderítése kapcsán fedezték fel.

A fentiekből levezethető, hogy miért csak férfiaknál megengedett kivételképpen az egyszeri Rh-inkompatibilis transzfúzió. Szülőképes koron túl (menopauzában) levő asszonyok csak akkor kerülhetnek hasonló megítélés alá, ha sohasem volt Rh-inkompatibilis terhességük, szülőképes nők akkor sem.

Egyéb vércsoportok

Mint a fejezet bevezetésében említettük, ilyen meglehetősen sok van, gyakorlati jelentőségük azonban általában csekély. Egy részüket még abban az időszakban fedezték fel, amikor Landsteiner és munkatársai szisztematikusan immunizáltak nyulakat külön-

[5] Egy érdekes magyarázatot megemlítünk: szekretorokban (és az európai népesség többsége ilyen) az A vagy B antigén nemcsak a vörösvérsejtek felszínén, hanem a testnedvekben fehérjéhez kötve is megtalálható, az anyából átjutó anti-A vagy anti-B nagy része ide, s nem a sejtekhez kötődik.

böző emberek vörösvérsejtjeivel, és az így nyert immunsavókkal kapott agglutinációs mintázatokat tanulmányozták. Az ezekbe a csoportokba tartozó anyagok nyilvánvalóan erősebb és/vagy gyakrabban előforduló antigének. Számos vércsoportrendszert vagy -antigént viszont úgy ismertek fel, hogy többször transzfundált betegek vagy többször szült nők vérében jelent meg egy olyan ellenanyag, ami korábban kompatibilis vérátömlesztések vagy terhességek után változtatott ilyeneket összeférhetetlenekké. Említettük pl. a Kell vércsoport felfedezését a fentiekben. (Mrs. Kell minden bizonnyal *kk* genotípusú volt, míg Mr. Kell *Kk* [vagy *KK*], s a magzatok sorra a K antigén szintézisének képességét örökölték.)

Ha valaki pl. egy vércsoportrendszernek csak egy nagyon ritka alléljével rendelkezik, nagy esélye van rá, hogy ismételten olyan vért kap, ami ugyanezen rendszernek a gyakoribb előfordulású antigénjét hordozza. Lehet ez a molekula igen gyenge immunogén, sokszoros vérátömlesztések után mégis megindíthatja a szóban forgó recipiensben az ellenanyagtermelést. Ugyanez érvényesül – alkalmasint még nagyobb biztonsággal – egy házaspár egymást követő terhességeiben. Az érintett személy tisztított vérsavója ezek után gyakran tipizáló reagensként is használható. E rendszerek elnevezése általában azoknak a betegnek a családnevéből származik, akiknek a személyéhez a felfedezés fűződik (pl. Auberger, Duffy, Kell, Kidd, Lewis, stb.).

Eddig egyetlen olyan vércsoport-tulajdonság ismert, amelynek génje nem autoszómán, hanem az X kromoszómán helyezkedik el, ez az Xg csoport. Ezen belül az Xg^a+ jelleg domináns az Xg^a– fölött.

A HLA rendszer genetikája

Néhány évvel ezelőtt még indokolt volt ennek a fejezetnek a következő bevezető mondattal való megnyitása: „Az emberben eddig leírt legnagyobb fokú polimorfizmust a HLA rendszer mutatja". Mára már számos olyan DNS-marker ismert, ami ennél lényegesen több változatot sorakoztat fel, az individuális azonosíthatóság szintjéig. Ahogyan a HLA rendszer vizsgálata kiszorította az apasági keresetek elbírálásában korábban vezető szerepet játszó AB0 és egyéb vércsoport-meghatározásokat, úgy adja ma át a helyét az

említett DNS-polimorfizmusok felhasználásának[6]. Mivel azonban a HLA rendszer legfőbb jelentősége tagjainak transzplantációs antigénekként való megjelenésében, valamint bizonyos betegségekkel való kapcsolódásában van, így nem kerülhetjük el génikus hátterének az áttekintését. Leírásunk természetesen szigorúan ezekre az alapokra korlátozódik, az immunológia körébe sorolható ismeretekkel nem kívánunk foglalkozni.

Először egéren végzett kísérletekből, majd emberen tett megfigyelésekből és vizsgálatokból vált nyilvánvalóvá, hogy a szerv- és szövetátültetések sikere elsősorban a donornak és a recipiensnek a ***fő hisztokompatibilitási komplex*** (*major histocompatibility complex* = ***MHC***) tagjaiban való minél nagyobb fokú megegyezésén alapszik[7] (természetesen az AB0 összeférhetőségen túl, és hibátlan műtéti technika mellett). Az MHC-nek több: I., II. és III. osztálya van, az MHC I.-be tartozik a HLA-A, HLA-B és HLA-C jelű antigének sorozata (valamint az újabban felfedezett, de transzplantációs szempontból elhanyagolható HLA-E, -F és -G), míg az MHC II.-be a HLA-D sorozatot (a HLA-DP, HLA-DQ és HLA-DR megjelölésű antigéneket) soroljuk. A ***HLA*** rövidítés a *human leukocyte antigen*-ből származik. Először ugyanis fehérvérsejteken találták meg ezeket a molekulákat. Később kiderült, hogy az MHC I. osztály tagjai minden maggal rendelkező sejten kifejeződnek, míg az MHC II. osztály csak a limfociták és makrofágok felszínén. Ezért a továbbiakban érdemben az MHC I. osztályba tartozókra koncentrálunk.

A HLA rendszer molekuláinak biológiai szerepe természetesen a legkevésbé sem az, hogy szervátültetések sikerét tegyék lehetetlenné, hanem az immunrendszer saját-idegen felismerő funkciójában van jelentőségük. Azonban – mint említettük – nem csak az ilyen szempontból releváns fehérvérsejtek és makrofágok membránjának extracelluláris felszínén[8], hanem egyéb sejteken is kifejeződnek, és elég erős az antigenitásuk ahhoz,

---

[6] Olyannyira így van ez technikailag is, hogy ma már a HLA allélek meghatározása is a génjük révén, DNS-analízissel történik, nem pedig a hagyományos immunológiai módszerrel.

[7] A kapó szervezet akkor fogadja be az átültetett szervet, ha az nem „idegen" számára, ellenkező esetben a T-limfociták által létrehozott kilökődési folyamat játszódik le. Természetesen ez a „*host versus graft*" reakció gyógyszeresen bénítható, de az immunszuppresszált beteg rendkívül fogékonnyá válik mindenféle fertőzésre, steril izolációt igényel, azaz nem élheti megszokott életét.

[8] Röviden, az immunológiai szakszerűség és teljesség igénye nélkül. Ha egy B limfocita felszínén (a megfelelő receptorhoz kötődve) megjelenik az az antigén, amely ellen ez a sejt képes ellenanyagot termelni, és ezt az antigént egy MHC II. osztályba tartozó molekulával együtt prezentálja, az ezt az együttest felismerni képes T helper sejt kapcsolódik az antigén-MHC molekulakomplexhez, interleukin-2-t választ ki, amivel kiváltja a B sejt osztódását és plazmasejtté való differenciálódását. Ha egy makrofág prezentálja sejtfelszínén az általa feldolgozott antigént, ill. annak csak egy részletét, éretlen T limfocita kötődik ehhez a helyhez. Amennyiben MHC I. osztályú molekulával együtt jelenik meg az antigén, citotoxikus elkötelezettségű, ha MHC II.-vel kapcsoltan történik az expozíció, T helper elkötelezettségű sejt lép kapcsolatba a makrofággal. A kölcsönhatás eredményeképpen a makrofág interleukin-1 molekulát választ ki, ami a kötődött T limfocitát osztódásra és differenciálódása befejezésére stimulálja. A felismerési folyamatban a T sejt csak

hogy „idegen"-ként szerepeljenek egy recipiens szervezetben, amelyik azt a bizonyos molekulát nem „ismeri".

Mint említettük, a HLA rendszer rendkívüli polimorfizmusával tűnik ki. Mindegyik sorozatba több antigén tartozik. Ezek glikoproteinek (7.4. ábra), génjeiket ugyanúgy jelölik, mint – az először antigénként fel- és megismert – molekulákat. Tekintettel arra, hogy az antigenitás hordozója a fehérje, és ebben már egyetlen aminosav helyettesítése egy másikkal észlelhető különbséget okozhat, az egy-egy lokusz (HLA-A, HLA-B, stb.) által determinált különböző antigének száma nagy[9], más megközelítésben: minden HLA lokuszra a többszörös allélia és a kodominancia jellemző. (Kodominancia, hiszen kétféle allél együttes meglétekor mindkettő – egymástól teljesen függetlenül – meg tudja határozni az általa kódolt fehérje bioszintézisét, és az kifejeződik a fenotípusban.)

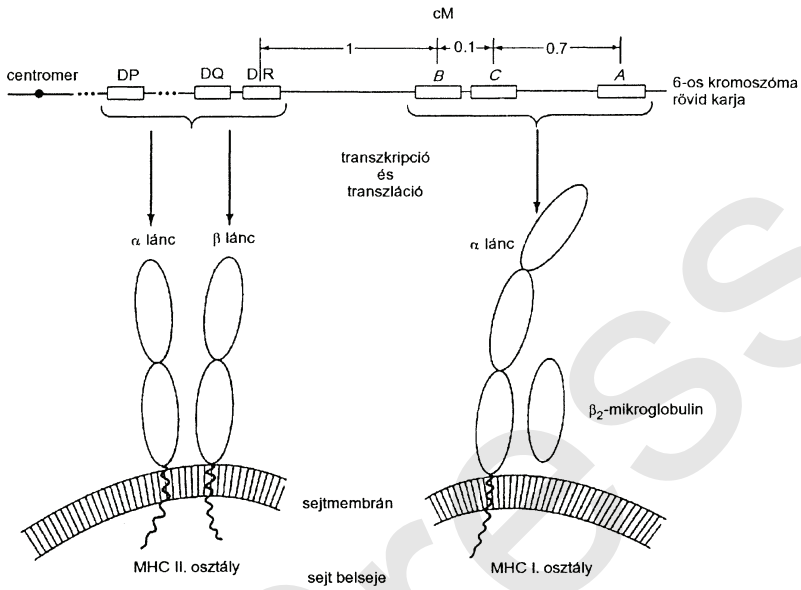
További érdekessége az MHC rendszernek, hogy génjei a 6-os kromoszóma rövid karján, meglehetősen szorosan kapcsoltan helyezkednek el (7.4. ábra). Megfelelő immunsavók birtokában a fenotípus meghatározható. Tekintettel a nagyszámú allélre, a legtöbb lokuszon inkább hetero- mintsem homozigótaság fordul elő egy-egy emberben. Mivel az egyik sorozat allélt anyjától, a másik sorozatot apjától örökli mindenki, a szülők és/vagy gyermekek HLA-tipizálása alapján összerakható az egy-egy 6-os kromoszómán található allélek sora. Ennek leírását ***haplotípus***nak nevezzük (= az egy kapcsolódási csoportba tartozó allélek apai ill. anyai sorozatának külön-külön való felsorolása a genotípusban)[10] 7.5. ábra mutatja be ennek egyszerűsített leírását.

---

akkor képes az „idegen" azonosítására, ha azt a „saját"-tal együtt „látja". Kivétel ez alól a szerv- és szövetátültetéssel bevitt idegen HLA molekula, ami önmagában is felismerhető a T sejtek számára.

[9] 2000-es adat a lehetséges antigén-féleségek számáról típusonként/lokuszonként: HLA-A = 57, HLA-B = 111, HLA-C = 34; HLA-D (valamennyi együtt) = 228. A listát még ma sem tekinthetjük végérvényesen lezártnak. Az egyes allélek gyakorisága populációnként változik. Pl. észak-amerikai fehérek körében a HLA-B44 14%-ot ér el, ugyanott a feketékben a HLA-B58 a leggyakoribb 10%-kal, míg a mexikóiakban a HLA-B35 feltűnően magas: 24%-os arányt mutat. A fehérek körében a B génnek 23 olyan allélja ismert, ami az 1%-os gyakorisági szintet meghaladja.

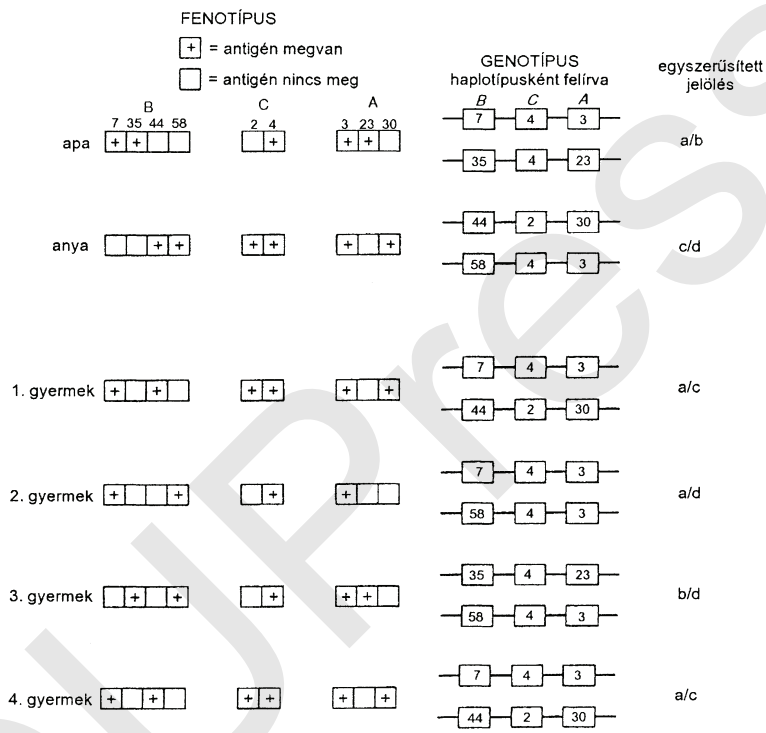
[10] Manapság megjelent a molekuláris genetikában a haplotípus szónak egy új értelemben való használata is. Amióta lehetőség van egy gén teljes bázissorrendjének meghatározására, azóta feltérképezhető az általános, a vad típusú vagy ún. konszenzus szekvenciától való minden egyes eltérés, akkor is, ha az adott báziscsere nem jár láthatóan mutáns fenotípussal – mert vagy intronban van, vagy nem változtat a kodon értelmén, stb. A genotípus ilyen szintű leírását, amelyben az allélek bázissorrendjében mutatkozó különbségek is megjelennek, és természetesen ehhez hozzárendelhető az anyai ill. apai eredet azonosítása is, szintén szokták haplotípusként említeni.



7.4. ábra. *A HLA rendszer génjeinek és molekuláinak vázlata.* A 6-os kromoszóma rövid karjának megfelelő részlete az ismertetett gének elhelyezkedését mutatja (az MHC III. osztály génjei a jelzett két csoport között helyezkednek el.) Az MHC I. osztályba tartozó molekula-komplexek α láncát kódolják az itt feltüntetett gének, és ezek az antigenitás hordozói is, a kapcsolódó β2 mikroglobulin (ami nincs lehorgonyozva a sejtmembránban) génje a 15-ös kromoszómán van, tehát nem tartozik az MHC . Az MHC II. osztály fehérjéinek α és β láncait egyaránt az ide tartozó gének kódolják. Az α és β polipeptidek kapcsolódnak egymással funkcionális molekulákká (nem kovalens kötéssel). Az oválisok a doméneket reprezentálják. A C-terminális végek nyúlnak be a citoplazmába.

A fentiekből következik, hogy a szervátültetés – immungenetikai szempontból – csak egypetéjű ikrek esetén lehet tökéletesen kompatibilis. Szülő és gyermeke között csak „fél-azonosság" = haploidentitás állhat fenn: egyezés arra a sorozatra nézve, amit a gyermek az adott szülőtől örökölt. Jobb lehet az esély testvérek között, akik esetében a haploidentitás (= egyik szülőtől ugyanazt a 6-os kromoszómát örökölték, míg a másiktól nem, ennek valószínűsége 1/2) mellett előfordulhat a bármiféle azonosság teljes hiánya (mindkét szülőjüktől más-más 6-os kromoszómát kaptak, ennek az esélye 1/4), de a teljes identitás is (úgyszintén 1/4 valószínűséggel történhet meg az, hogy anyjuktól és apjuktól is ugyanazt a 6-os kromoszómát örökölték mindketten). Ez utóbbi esetben is megfigyelték azonban, hogy pl. bőrátültetés sikeressége HLA- és AB0-identikus testvérek

között nem érte el az egypetéjű ikreknél látott igen jó eredményeket. Ugyanez vonatkozik a vesetranszplantátumokra is (páros szervből, ha mindkettő egészséges, az egyik átültethető önkéntes donorból). Ebből arra következtethetünk, hogy az itt említettek mellett létezhetnek még egyéb – minor hisztokompatibilitási – lokuszok is, amelyek befolyásolják a transzplantáció sikerét, de ezeket ma még nem ismerjük.



7.5. ábra. *A HLA antigének megoszlása egy hipotetikus családban, és a haplotípusok levezetése.* A gének jelölési sorrendje a kromoszomális elhelyezkedésüknek felel meg (a centromertől a telomer felé haladva). Az 1. és 2., ill. a 2. és 3. testvér egymással haploidentikus, az 1. és 4. HLA-identikus, míg az 1. és 3. mind az anyától, mind az apától más-más 6-os kromoszómát örökölt. Az apa, valamint a 2. és 3. gyermek a HLA-C4 allélra homozigóta, a 2. gyermek a HLA-A3-ra is. Egy nagyobb család elemzése meglehetősen bonyolult lehet, ezért a meghatározott haplotípusokhoz hozzá szoktak rendelni egy-egy betűt, egyszerűsített jelölésként.

DUPress

Ha csak a már ismert HLA-A, -B és -C alléleket vesszük figyelembe, ezek szabad kombinációja több mint $20 \cdot 10^6$ haplotípust tesz lehetővé. Ebből egyrészt megérthető, hogy miért alkalmazták – és használják azért még ma is – sikeresen a HLA haplotípus meghatározásokat apasági keresetek elbírálásában, másrészt, hogy miért annyira nehéz megfelelő szerv-donort találni szív-, vese-, máj-, csontvelő- stb. átültetéshez. (Közismert módon kontinensre kiterjedő számítógép-hálózat keresi a betáplált adatok alapján azt a recipienst, aki számára a HLA típus szerint legkedvezőbbnek ígérkezik egy balesetben elhunyt személy valamelyik szerve, és elszállítják azt a beteghez.) A megfelelő adó-kapó párosítás kiválasztása nyilvánvalóan csak kompromisszumok árán lehetséges, emiatt a kilökődési reakciót elvileg kizárni sohasem lehet, a gyakorlatban azonban igen jók az esélyek a megelőzésére. Az elvi matematikai HLA-hasonlósági esélynél valamivel jobbak a tapasztalati értékek[11]. Minél kevesebb a befogadó számára idegen HLA antigén egy szerven, annál valószínűbb, hogy „elkerüli" a T limfociták „figyelmét".

A HLA rendszer alaposabb megismerése, nagyon sok ember HLA-tipizálása kapcsán figyeltek fel arra a jelenségre, hogy bizonyos HLA antigének egyes betegségekben szenvedőkben gyakrabban fordulnak elő, mint a populációban általában, vagy megfordítva: bizonyos HLA antigének hordozóinak nagyobb a valószínűsége egy bizonyos kórban való megbetegedésre, mint az azt az antigént nem hordozó embertársainak. Legismertebb példája ennek a HLA és betegség kapcsolódásnak a HLA-B27 antigén szembetűnő gyakorisága a ***Behtyerev-kór***ban (*spondylitis ankylopoetica, morbus Bechterew*) szenvedők körében: különböző felmérések szerint ez a kaukázusi nagyrasszba tartozóknál 89% vagy több, míg az egészséges kontroll személyek populációjában csak 9%. Az adatokból nyílvánvaló: nem minden B27-es antigént hordozó Behtyerev-kóros (sőt, a többségük nem az, hiszen a betegség gyakorisága csak 1/2000, azaz mindössze 0,05% az említett 9%-kal szemben), és nem mindenkiben mutatható ki következetesen ez az antigén, akinek

---

11 Ennek oka: a valószínűségszámítás abból indul ki, hogy bármelyik allélnak egy másik alléllal való együttes előfordulási esélye a kettejük populációs gyakoriságának a szorzata. Ez azonban nem bizonyult igaznak a HLA lokuszokra, amelyekre az ún. ***linkage disequilibrium*** a jellemző. Ez azt jelenti, hogy bizonyos allélek egyazon kromoszómán való együttes előfordulása gyakoribb, mint azt populációs részarányuk alapján várnánk (és természetesen más kombinációk pedig ritkábban jelennek meg). Azt gondolhatnánk, hogy az evolúciós évmilliók alatt a szoros kapcsoltság ellenére kialakulhattak volna a statisztikai arányok, ha a különböző antigének egyenértékűek. Mivel ez nem így van, minden bizonnyal jogos az a következtetés, hogy egyes kombinációk szelekciós előnyt, vagy mások hátrányt okoztak. Amerikai fehérek között a HLA-B8 allél gyakoriságát 0,09-nek, míg a HLA-A1-ét 0,14-nek találták. Következésképpen az egy haplotípusban való együttes előfordulásuk várt aránya $0,09 \cdot 0,14 = 0,0126$ azaz 1,26%. Ezzel szemben a tényleges érték 6,1%-nak adódott, ami nagyjából ötször akkora, mint amit a véletlenszerű asszociációjuk diktálna. Az okokat nem ismerjük. Lehet, hogy a HLA-B8 és HLA-A1 együtt jobb egészségi állapotot határoz meg (adekvátabb immunreakció, stb.), de az sem zárható ki, hogy valamelyik allél mutáció következtében kialakulva a másikhoz kapcsoltan jött létre, s most van azon az úton, hogy ez „kihíguljon" kapcsoltsági kiegyensúlyozatlanságából.

spondylitis ankylopoetica-ja van, de ugyanakkor egyértelmű és kétségtelen, hogy a B27-et hordozók relatív kockázata erre a megbetegedésre sokkal nagyobb. A ***relatív kockázat*** azt fejezi ki, hogy egy bizonyos antigénnel rendelkező személynek hányszoros a megbetegedési valószínűsége az ezzel az antigénnel nem rendelkezőhöz képest. A B27 és Behtyerev-kór esetében ez 90 (l. 7.1. táblázat). A jelenség oka nem ismert[12], ahogyan az egyéb hasonló kapcsolódások esetén sem. Gyakorlati következményei azonban lehetnek: mivel a *spondylitis ankylopetica* – mai ismereteink szerint – örökletes kórkép, pozitív családi anamnézis és HLA-B27-et mutató magzat esetén felmerülhet a szelektív abortusz lehetősége.

Fel kell hívjuk a figyelmet az autoimmun kórképek és bizonyos HLA antigének összefüggéseire is. Utalunk itt mindenekelőtt a *juvenilis diabetes*-re (más nevén: I. típusú ill. *insulin-dependent diabetes mellitus* [IDDM]), aminek kialakulása a HLA-DR3 és HLA-DR4 antigének meglétével mutat összefüggést.

---

[12] Egyesek feltételezik, hogy a *spondylitis ankylopoetica*-ért egy gén, az *Ank* volna felelőssé tehető, és ez szoros kapcsoltságban lenne a HLA-B lokusszal, ezen belül pedig „linkage disequilibrium"-ban (l. az előző lábjegyzetben) a 27-es alléllal. (Sokak szerint a Behtyerev-kór multifaktoriális kóreredetű, az azonban mai tudásunk szintjén nem zárható ki, hogy az érte felelős poligénes rendszer egy vagy több lokusza is szerepelhessen az említett kapcsoltságban.) Más szerzők a molekuláris mimikrire gyanakszanak (ami egyéb HLA és betegség kapcsolódásoknak is magyarázatául szolgálhatna). E szerint bizonyos kórokozó(k) valamilyen antigén-struktúrája hasonlítana a HLA-B27 molekula jellegzetes epitópjára. A fertőző ágens ellen termelődő ellenanyag károsítaná azokat a saját szerkezeteket, ahol ez az antigén jól kifejeződik. Megint más nézet: a B27 antigén bizonyos vírus(ok) vagy baktérium(ok) számára receptorként szolgálna, és ezek azokat a sejteket tudnák elsősorban megtámadni, amelyeken ez jól kifejeződik. Általános tudománytörténeti tapasztalat: ha valamilyen tény, jelenség magyarázatára többféle elmélet is forgalomban van, akkor ezek egyike sem az igazi.

7.1. táblázat. *HLA és betegség*

BETEGSÉG	HLA ANTIGÉN	RELATÍV KOCKÁZAT
Rheumatoid arthritis (RA)	D4	4,2
	DR4	5,8
Juvenilis RA	DR5	4,0
	DR8	4,0
	B27	4,5
Spondylitis ankylopoetica (M. Behtyerev)	B27	90,0
Reiter kór	B27	33,0
Post-Salmonella arthritis	B27	17,6
Post-Shigella arthritis	B27	20,7
Basedow kór (Graves betegség)	B8	2,3
	D3	3,6
	DR3	3,5
Hashimoto thyreoiditis	DR3	2,6
IDDM (insulin dependens diabetes mellitus)	B8	2,6
	DR3	5,7
	DR4	2,8
Myasthenia gravis	B8	12,7
Sclerosis multiplex	B7	1,8
	D2	4,05
	DR2	4,8
	D3	2,7
Psoriasis vulgaris	B13	4,7
	B17	4,7
	B37	6,4
	C6	13,3
Dermatitis herpetiformis	B8	8,7
	D3	13,5
	DR3	56,4
Pemphigus	A10	2,8
Goodpasture syndroma	DR2	13,1
Berger syndroma	B35	2,5
Chronicus activ hepatitis	B8	9,0
	DR3	13,9
Coeliakia	B8	8,3
	D3	10,9
Haemochromatosis	A3	8,2
	B7	3,0
	B14	4,7

DUPress

Összefoglalás

(*1*) A vörösvérsejtek felszínén számos antigén azonosítható, amelyeket mint vércsoport antigéneket ismertünk meg és írunk le. Ezek szintézise génikus kontroll alatt áll.

(*2*) A vércsoport antigének nagy hányada génikus meghatározottságára a többszörös allélia jellemző, így általában nem vércsoportokról, hanem vércsoport rendszerekről beszélünk.

(*3*) A vércsoport antigének kimutatása hagyományosan az ellenük termelt ellenanyag segítségével történik. A pozitív reakció agglutinációval (a vörösvérsejtek összecsapzódásával) jár.

(*4*) Különös jelentősége van egyes vércsoport rendszerek meghatározásának a vérátömlesztések szempontjából. Így teljes vér adása csakis az AB0 rendszerben kompatibilis donor és recipiens között történhet. (Mosott vörösvérsejt szuszpenziót 0 vércsoportú donortól bárki kaphat, AB csoportú recipiens bárkitől kaphat.) Rh^- személy csak Rh^- donortól kaphat vért (vagy mosott vörösvérsejtet).

(*5*) Szövet- vagy szervátültetés esetén is tekintettel kell lenni a donor és recipiens AB0 kompatibilitására.

(*6*) Az AB0 rendszer antigénjei oligoszacharidok, amelyek a vörösvérsejtek membránja külső felszínén lipidhez kötve találhatók. 0 vércsoportú emberben sem az A, sem a B antigén nem mutatható ki (az ezek előanyagául szolgáló H anyag viszont igen, szokás ezért ezt a rendszert ABH névvel is illetni); A vércsoport esetén az A anyag, B vércsoportúakban a B antigén található meg a sejtek felszínén, AB vércsoportú személyben az A és a B egyaránt. Az I^A és I^B allélek egyaránt dominánsak az *i*-vel szemben, egymással viszont kodominánsak.

(*7*) Minden ember vérében van olyan ellenanyag, ami a saját vörösvérsejtjeiről hiányzó A vagy B antigén ellen irányul, azaz 0 vércsoportúban anti-A és anti-B egyaránt, A csoporthoz tartozóban anti-B, B vércsoportúban anti-A. AB vércsoportú vérszérumában nincs ilyen antitest. Ezeknek az ellenanyagoknak a termelése és annak szabályozása semmilyen formában sem áll az I^A, I^B és *i* allélek kontrollja alatt.

(*8*) A H anyag szintézise csak *HH* vagy *Hh* genotípus esetén lehetséges, a *hh* homozigóta recesszívek a megfelelő enzim hiányában nem tudják ezt az anyagot létrehozni. Ezáltal a H lokusz episztatikus az AB0 lokusz felett: homozigóta recesszív állapotában sem az A, sem a B antigén nem szintetizálódhat, függetlenül az I^A , ill. I^B allél(ek) meglététől. A *hh* genotípusú személyeket Bombay vércsoportúnak nevezik, ők ugyanis nem a hagyományosan meghatározott 0 (= sem A, sem B) vércsoportba tartoznak, hanem H anyaguk sincs. (0 vércsoportútól sem kaphatnak vért, mert anti-H van a vérplazmájukban!)

DUPress

(*9*) *ScSc* és *Scsc* (homozigóta domináns ill. heterozigóta) szekrétorok fehérjéhez kötve testnedveikben és váladékaikban kiválasztják az AB0 rendszer A, B és H antigénjét, a *scsc* (homozigóta recesszív) non-szekrétorok nem.

(*10*) Az Rh rendszer bonyolult komplex. Rh^+-nak azokat mondjuk, akik vörösvérsejt membránjában megvan a D antigén, ami az Rh^--okból hiányzik. A D antigén fehérje. Anti-D ellenanyagot csak Rh^- személyek termelnek, ha keringésükbe D antigén, azaz Rh^+ vörösvérsejt kerül.

(*11*) Anya és magzata vércsoport inkompatibilitása esetén a terhesség során ellenanyagok termelődhetnek a női szervezetben az ott nem található, de a magzatból átjutó vércsoport antigének ellen. Legnagyobb jelentősége és veszélye ennek Rh^- nő Rh^+ magzata esetén van, ismételődő inkompatibilis terhesség(ek)ben a magzatba a méhlepényen át az anyából bejutó anti-D ellenanyagok hatására kifejlődhet az újszülöttkori (magzati) hemolitikus betegség.

(*12*) Néhány vércsoport rendszert az anyai-magzati inkompatibilitás észlelése révén fedeztek fel.

(*13*) Fehérvérsejtek felszínén fedezték fel, írták le először a HLA (humán leukocita antigén) molekulákat.

(*14*) A HLA-A, -B, -C, -E, -F és -G sorozat tagjait – amelyek valamennyi sejtmaggal bíró sejten kifejeződnek, nem csak a leukocitákon – az ugyanígy elnevezett lokuszok génjei határozzák meg. Valamennyire jellemző a többszörös allélia és a kodominancia. Ezek alkotják a fő hisztokompatibilitási komplex (MHC) I. osztályát. Alapvető jelentőségük van a szövet- és szervátültetések sikerességében vagy sikertelenségében.

(*15*) Az MHC (*maior histocompatibility complex*) II. osztályába a HLA-D sorozatot, a -DP, -DQ és -DR lokuszok által meghatározott antigéneket sorolják. Ezekre is jellemző a többszörös allélia és a kodominancia.

(*16*) A HLA lokuszok egymással szoros kapcsoltságban helyezkednek el a 6-os kromoszóma rövid karján. Családvizsgálatokkal (és az allélek kodominanciája alapján) megállapítható, hogy egyik vagy másik 6-os kromoszómán mely lokuszok milyen alléljai alkotnak egy sorozatot. A genotípus ilyen formájú leírását haplotípusnak nevezzük.

(*17*) A HLA rendszer rendkívüli polimorfizmusa (több lokusz, mindegyikén több, sőt sok allél) komoly nehézségeket okoz a megfelelő donor–recipiens pár kiválasztásában a vese-, szív- stb. szervátültetésekben.

(*18*) Ugyanez a polimorfizmus (kiegészítve a HLA-D lokuszok allélsorozataival) apasági keresetek elbírálásában nyert fontos informatív szerepet. (Mára ennek a jelentőségét már meghaladja az ismert DNS polimorfizmusok vizsgálata.)

(*19*) Megfigyelték, hogy bizonyos HLA-csoportokba tartozás egyes betegségek kifejlődésének kockázatát növelő, esetleg jelentősen fokozó biológiai adottság.

Dunpress

(*20*) A HLA rendszer molekuláinak természetes biológiai szerepe az immunrendszer saját/idegen felismerő funkciójában van.

Kérdések

(*1*) Landsteinernek alapvető érdemei voltak az AB0 (és néhány más) vércsoport rendszer felfedezésében. A laboratóriumában munkatársaival elvégzett egyik kísérletről a következő táblázatban számolt be egy 1901-ben megjelent közleményében:

Vérszérum forrása	Vvt-k eredete		
	Lands.	Plecn.	Sturl
Landsteiner	0	+	+
Plecn.	0	0	+
Sturl	0	+	0

0 = nincs kicsapódás, + = van agglutináció.

Melyik vércsoportba tartozott Landsteiner?

(*2*) 1945-ben egy asszony beperelt egy ismert filmszínészt, miszerint ő a gyermeke apja. Vércsoport vizsgálatot végeztek a következő eredménnyel: anya A, gyermek B, a filmszínész 0. Ezek után az illetékes californiai bíróság megítélte az apaságot. A *Boston Herald* így kommentálta az ítéletet: California úgy határozott, hogy a fekete fehér, kettő meg kettő az öt, és a fent van lent." Mi a véleménye?

(*3*) Wiener (Landsteiner kutatótársa, több vércsoport rendszert együtt fedeztek fel, mások felderítése Wiener nevéhez fűződik) 1943-ban adta közre a következő történetet, ami a 30-as években játszódott le Chicagoban.

Amikor Mrs. W. szülés után hazatért otthonába, felfedezte, hogy csecsemőjén az Y nevet feltüntető cédula van. Kiderült, hogy Mrs. Y. viszont a W nevet viselő jelzéssel kapta meg újszülöttjét. Vércsoport vizsgálatot végeztek, a következő eredménnyel:

Mrs. W.: 0.	Mr. W.: 0.	újszülött a W névvel: 0.
Mrs. Y.: 0.	Mr. Y.: AB.	újszülött az Y névvel: A.

Történt-e csere egyáltalán? Mrs. W. a saját gyermekét vitte haza hibás névjelzéssel, vagy Mrs. Y.-ét?

DUPress

(*4*) Adja meg azokat a lehetséges szülői genotípus párokat az AB0 rendszerben, amely házasságokból (a) háromféle, (b) négyféle fenotípusú utód születhet!

(*5*) Egy $I^Ai \times I^Ai$ házasságból csak A és 0 vércsoportú gyermekek születhetnek. Annak a valószínűsége, hogy egy ilyen házasságból az ideális mendeli aránynak megfelelő három A és egy 0 csoportú utód származzék még 1/2-nél is kevesebb. Mennyi és miért?

(*6*) a) Lehet-e jó véradó egy Bombay vércsoportú személy? b) Könnyű vagy nehéz megfelelő donort találni egy vérátömlesztésre szoruló Bombay vércsoportú egyén számára?

(*7*) A természetben igen széles körben fordulnak elő olyan anyagok, amelyek az A, B, ill. H antigénre nagyon hasonlítanak. Ezeket gyakran meg is esszük. Lehet-e ennek valamilyen összefüggése az emberekben természetesen (tehát nem hibás vérátömlesztés következtében) előforduló anti-A ill. anti-B ellenanyagok termelésével?

(*8*) Egy család hat tagjának vörösvérsejtjeit vizsgálták a következő ellenanyagokkal: anti-A, anti-B és anti-D. A kapott reakciók (ugyanebben a sorrendben): anyai nagyanya 0 0 +; anyai nagyapa: 0 + +; anya: 0 0 0; apa: + 0 +; leány: + 0 +, fiú: + 0 0. (0 = nincs kicsapódás, + = van agglutináció.) Felírható-e ezen adatok alapján a vizsgáltak AB0 ill. Rh genotípusa?

(*9*) Egy házaspár genotípusa I^AI^B *Dd* és I^Ai *Dd*. Az AB0 és Rh vércsoportokat illetően milyen fenotípusú utódaik és milyen valószínűséggel születhetnek?

(*10*) Irodalmi adatokat összesítve azt találták, hogy a rendelkezésre álló anyagban 61 olyan újszülött szerepelt, aki Rh-inkompatibilis terhességből újszülöttkori hemolitikus betegséggel született, és egyik szülője 0, a másik AB vércsoportú volt. Az adatok pontosításakor kiderült, hogy a 61-ből mindössze két esetben volt az anya 0 és az apa AB vércsoportú. Mivel magyarázható ez az arány?

(*11*) Rh-pozitív nőnek Rh-pozitív gyermeke születik, aki az újszülöttkori hemolitikus betegség tüneteit mutatja. Hogyan lehetséges ez?

Válaszok

(*1*) Landsteiner 0 vércsoportú volt. Az ő vérszéruma mindkét munkatársa vörösvérsejtjeit agglutinálta, akik viszont nem lehettek azonos csoportúak, mert egymással kölcsönösen pozitív reakciót adtak. Ugyanakkor az ő savójukban nem volt ellenanyag, ami Landsteiner vörösvérsejtjeit agglutinálta volna, míg Landsteiner vérében mindkettőjük antigénje ellen jelen volt antitest, azaz a kutatást vezető vörösvérsejtjein nem lehe-

DUPress

tett az AB0 rendszerbe tartozó antigén. Hogy a két munkatárs közül ki volt A és ki B vércsoportú, az eldönthetetlen ezekből az adatokból, AB egyikük sem lehetett.

(*2*) A *Boston Herald*nak volt igaza. Az AB0 vércsoport rendszer vizsgálata nem lehet bizonyító erejű az apaság megítélésében, de az a kizárásában. 0 vércsoportú férfi nem lehet az A típusú anyától született B vércsoportú gyermek apja, aki csakis B vagy AB csoportútól származhatott, hiszen I^B allélt örökölt. (Az anya nyilvánvalóan I^Ai heterozigóta kellett legyen.) Ismereteink mai szintjén természetesen meg kellene vizsgálni, hogy a 0 vércsoportúnak bizonyuló férfi nem Bombay vércsoportú-e (azaz nem rendelkezik H antigénnel sem). Ma már azonban nem az AB0 vércsoportrendszert vizsgálják apasági keresetekben, hanem a HLA-t, ill. egyre inkább meghatározott DNS polimorfizmusokat, mely utóbbiak szinte már nem is kizáró, hanem az apaságot bizonyító erejűek.

(*3*) A babák a helyes névmegjelölést viselték, de nem a saját édesanyjuknak adták át őket. A W. családban csak 0 vércsoportú, az Y. családban pedig csak A vagy B vércsoportú gyermek születhetett.

(*4*) (a) $I^AI^B \times I^AI^B$; $I^AI^B \times I^Ai$; $I^AI^B \times I^Bi$ = A, B és AB.
(b) $I^Ai \times I^Bi$.

(*5*) 27/64! Egymástól független eseményekről van szó, mindegyik gyermek esetében 3/4 a valószínűsége az A és 1/4 a valószínűsége a 0 vércsoport öröklésének. (Az 1:2:1 elméleti genotípusos arányból a homozigóta domináns I^AI^A, valamint a két heterozigóta I^Ai lesz A vércsoportú, a homozigóta *ii* 0-ás.) Annak valószínűsége, hogy mind a négy A csoportú legyen $(3/4) \cdot (3/4) \cdot (3/4) \cdot (3/4) = (3/4)^4 = 81/256$. Azé, hogy két gyermek legyen A és kettő 0 vércsoportú (a születési sorrend itt nem számít!) $(3/4) \cdot (3/4) \cdot (1/4) \cdot (1/4) \cdot 6^* = 54/256$. Lehet a négyből egy A-s és három 0 vércsoportú (a születési sorrend ismét nem számít), aminek valószínűségét a $(3/4) \cdot (1/4) \cdot (1/4) \cdot (1/4) \cdot 4^*$ adja, ez 12/256. Annak esélye, hogy mind a négy gyermek 0-ás legyen: $(1/4) \cdot (1/4) \cdot (1/4) \cdot (1/4) = (1/4)^4 = 1/256$. Mindez együtt 148/256 = 37/64. Ekkora az esélye annak, hogy a kívánt elméleti arány ne teljesüljön. A keresett valószínűség:

$(3/4) \cdot (3/4) \cdot (3/4) \cdot (1/4) \cdot 4^* = 27/64$. $27/64 + 37/64 = 64/64 = 1$,

tehát a teljes eseményrendszert áttekintettük.

(*5*) a) Mivel anti-H ellenanyag is van a vérplazmájában, ezért nagyobb mennyiségű teljes vér adására még 0 vércsoportú kapó számára sem alkalmas, mosott vörösvérsejtjei viszont kiválóan használhatók, hiszen ezeken sem A, sem B, sem pedig H antigén nem

---

* Négy gyermek közül két A és két 0 hatféle sorrendben születhet, egy A és három 0, ill. három A és egy 0 négyféle sorrendben.

található. b) Mivel anti-H ellenanyag is van a vérszérumában, ezért csak olyan donortól kaphat vörösvérsejteket, akiben nem fejeződik ki a H antigén, azaz csakis Bombay vércsoportú véradótól.

(*7*) Igen, de csak akkor, ha nem a tápcsatornán keresztül jutnak be ezek az anyagok a szervezetbe, hanem azt elkerülő (parenteralis) úton lépnek be a keringésbe. (A gyomor-béltraktus enzimei ugyanis lebontják ezeket a molekulákat, egészükben nem léphetik át a bélfalat bizonyos kóros állapotoktól eltekintve, amelyek igen ritkák.)

(*8*) Igen (egyetlen kivétellel). Anyai nagyanya: *ii Dd*; anyai nagyapa: $I^B i$ *Dd*; anya: *ii dd*; apa: I^A- *Dd*; leány: $I^A i$ *Dd*; fiú: $I^A i$ *dd*. (Az apa esetén az I^A- jelölésben a – értelme: nem dönthető el, hogy I^A vagy *i* allél áll ott, egyetlen I^A gén jelenlétében is A vércsoportú az egyén, és az apai nagyszülők nem szerepeltek a vizsgálatban, ami esetleg támpontot adhatott volna az apai genotípus pontosabb meghatározásához.)

(*9*) A, Rh^+: 3/8; B, Rh^+: 3/16; AB, Rh^+: 3/16; A, Rh^-: 1/8; B, Rh^-: 1/16; AB, Rh^-: 1/16.

(*10*) Ha az anya 0 és az apa AB vércsoportú, biztosan fennáll az anya és magzata AB-összeférhetetlensége (mert az utóbbi vagy az A vagy pedig a B csoportba tartozik). Ha az anyában elég magas az anti-A és/vagy anti-B ellenanyag szint, ez az ő keringésébe átjutó magzati vörösvérsejteket igen gyorsan elpusztítja, mielőtt még azok D antigénje kiválthatná az anyai anti-D termelést. Tehát a 0 vércsoportú anya és magzata A- ill. B-inkompatibilitása véd az Rh-immunizáció ellen. Ez nem volt igaz a kérdésben említett 59 esetre, azaz nem az anya volt 0 vércsoportú a 0 · AB párosításban. Ne felejtsük: nem válogatatlan mintából történt az adatvétel! Abban a két esetben, amelyben 0 vércsoportú anya magzatában alakult ki a hemolízis, a leírt mechanizmus valamiért nem működött (pl. nem volt elég gyors az A vagy B csoportú magzati vörösvérsejtek kiküszöbölése az anyai keringésből).

(*11*) Anyai-magzati összeférhetetlenség nem az Rh hanem valamilyen egyéb vércsoportrendszerben. (Így fedezték fel. pl. a Kell rendszert: Mrs. Kell *kk* genotípusú volt, a férje *KK* lehetett, minden gyermekük *Kk* heterozigóta, a negyedikben fejlődött ki a hemolitikus betegség.)

DUPLASS

DUPress

8. FEJEZET

FEJLŐDÉSGENETIKA

Fejlődésgenetika és *in vitro* fertilizáció

Preimplantációs genetika

Emlősök klónozása

A *Drosophila* lárva fejlődésének génikus szabályozása

Morfogének

Anyai hatás, zigotikus gének, homeotikus gének

Homeobox és homeodomén

Veleszületett fejlődési rendellenességek

A nemi fejlődés

Kromoszomális nem

Gonadális nem

Genitális nem

Másodlagos nemi jellegek

A nemi fejlődés zavarai

Valódi hermafroditizmus

Pszeudohermafroditizmus

DUPress

Ezzel a kérdéskörrel csak röviden és bizonyos vonatkozásaiban érintőlegesen kívánunk e genetika jegyzet keretei között foglalkozni. Ennek oka egyrészt, hogy az emberre (a *Homo sapiens*re) vonatkozó, kifejezetten ***fejlődésgenetikai*** ismereteink még meglehetősen hézagosak. (Ahol bővebb, és orvosi szempontból is releváns tudásanyag birtokában vagyunk, azt egy kissé részletesebben tárgyaljuk e fejezet második felében.) Másrészt: a humán embriológia, a fejlődéstan önálló tantárgy a medicinán. Ugyanakkor a muslicán, a *Drosophila melanogaster*en végzett vizsgálatok Nobel-díjjal is elismert (1995) eredményeinek részletesebb ismertetése, melyek bár számos, az emberre is átvihető tanulsággal szolgálnak, messze meghaladná e jegyzet kereteit.

Fejlődésgenetika és in vitro fertilizáció

Némely vonakozásában a korai egyedfejlődés vizsgálata és az embriógenetika különös jelentőségre tett szert az elmúlt két évtized során, mikoris az ***in vitro fertilizáció*** (***IVF***) klinikai rutinná vált. Ez azt is jelenti, hogy a megtermékenyítés és a zigóta első osztódásai a szemünk előtt játszódnak le: petricsészében, a fáziskontraszt mikroszkóp látóterében. Az ontogenezisnek éppen az a szakasza vált ezáltal megfigyelhetővé, ami korábban talán a legjobban el volt rejtve a kutatók elől.

PREIMPLANTÁCIÓS GENETIKA

Az IVF módszere több új utat is megnyit, mind a gyakorlati orvoslás, mind a biológiai kutatás számára. Itt csak a genetikai relevanciájúakról essék néhány szó! Ezek egyike a legkorábbi, a ***preimplantációs genetikai diagnosztika***. A ma általánosan használt prenatális diagnosztikus eljárások mindenképpen beavatkozást jelentenek a terhesség menetébe: akár a chorion boholy mintavétel (CVS), akár a genetikai amniocentézis invazív eljárás, megbolygatja a terhes méhet, vetélést idézhet elő (ép, egészséges magzat esetén is). Ha a vizsgálati eredmény magzati kórállapotot igazol, melynek következményeit a szülők nem kívánják felvállalni (elviselni), megoldás csak a terhesség művi – orvosi indokból történő – megszakítása lehet. A preimplantációs diagnosztika alkalmazása révén eleve megelőzhető minden olyan esetben, amelyben nagy a genetikai kockázat, hogy ez realizálódjék, a terhességhez zöld utat csak a félt rendellenességet/betegséget nem mutató ébrény-kezdemények kapnak. Ennek jelentősége ma már nyilvánvaló, biztonságos kivitelezésének technikai lehetősége egyre közelebb kerül.

Megtermékenyítés után, a zigóta első osztódásai során keletkező sejtek még totipotensek, azaz minden szövetféleség kifejlődhet belőlük. Gondoljunk pl. az egypetéjű ikrekre: a megfeleződött zigótából két (nagyon ritkán több) teljes értékű egyed fejlődik ki. Így nem jelent gondot, ha a 8-12 sejtes stádiumban mondjuk két sejtet kivesznek genetikai vizsgálatok céljára a preembrióból.

Az emberen elvégezhető beavatkozások kérdéskörének jogi szabályozása – itt és most konkrétan: egy-két sejt kivétele a 8-12 sejtes állapotú csomóból genetikai vizsgálat céljára, és ennek érdekében az IVF eljárás választása a természetes úton való megtermékenyülés helyett – és főleg etikai áttekintése, úgy tűnik, még távol van a mindenki számára elfogadható konszenzustól, ha ez utóbbira egyáltalán számíthatunk akár a távolabbi jövőben is.

Elvileg az sem lehetetlen, hogy a természetes módon történt fogantatásból származó zigótát még a beágyazódás előtt kimossák az anyaméhből, alávessék mindazoknak a vizsgálatoknak, amelyeket a preimplantációs genetikai diagnosztika kínál, majd alkalmasnak találtatván visszaültessék, hogy beágyazódjék és kifejlődhessen. (Erre magától értetődően ugyanazok az etikai megfontolások érvényesek, amelyeket a megelőző bekezdésben említettünk.)

Az állattenyésztésben úgyszintén alkalmazzák az IVF módszert, nemesítési célzattal is. Egyre gyakoribbá válik, hogy tenyészállatokat kontinensnyi távolságra nem kifejlett állapotukban drágán, hanem lefagyasztott előembrió formájában folyékony N_2-ben olcsón szállítanak, majd a célállomáson hordatják ki egy helyi nősténnyel, annak megfelelő hormonális előkezelése után.

Ha az anya heterozigóta valamilyen monolokuszos rendellenességre (tipikusan X-hez kötött recesszív öröklődésre gondolhatunk), bizonyos esetekben járható útnak tűnik a leendő embrió számára semmiféle veszélyt sem jelentő *polocyta* (sarkisejt) diagnosztika a fent leírtak helyettesítésére. Hogy ennek az eljárásnak lesz-e jövője, ma még nem tudhatjuk.

EMLŐS ÁLLATOK ÉS AZ EMBER KLÓNOZÁSA

Az *in vitro* fertilizáció szorosan kapcsolódik a klónozással, melynek kérdései a legkevésbé sem csak a tudomány művelőit, hanem – talán sokkal inkább – a politikai és jogi közélet szereplőit, valamint általában a laikus nagyközönséget is foglalkoztatják. A ***klónozás*** szót több értelemben is használják. Itt és most az egyetlen sejtből aszexuális úton (tehát a rekombináció lehetőségének kizárásával) egy egész kifejlett élőlény létrehozását értjük rajta.

A vegetatív szaporításra amúgy is alkalmas növények egyetlen sejtjükből való teljes regenerálása (reprodukálása) már nem csak régóta alkalmazott gyakorlat, hanem napjainkra alapvető növénynemesítési módszer is: l. transzgénikus növények. (Az egyetlen sejt magjába sikerrel bevitt idegen gének a felnevelt növényi egyed minden sejtjében jelen lesznek, és szexuális szaporítás során is megmaradnak.)

Már az 1960-as években sikerült Gurdonnak és munkacsoportjának béka petesejtek magját kicserélni ebihal bélnyálkahártya hámsejtekből vett sejtmagokkal, és az így kialakított „zigótákból" kifejlett, teljes értékű, szaporodóképes egyedeket nyerni (nem kevés torzképződmény, és teljesen sikertelen próbálkozás mellett). Ez az eredmény ott és akkor mindenekelőtt annyiban volt jelentős, hogy bizonyította: a terminálisan (végérvényesen) differenciálódott testi sejtek magjának DNS állománya az illető fajra jellemző teljes génikus információt hiánytalanul tartalmazza, ide értve magának a differenciálódás folyamatának és a kifejlődésnek a genetikai programját is.[1]

A békapete közismert módon nagy, relatíve könnyen hozzáférhető és kezelhető, kifejlődése a szabad természet körülményei között történik, amelyek kísérleti rendszerekben egyszerűen reprodukálhatók. Emlősökön végzett hasonló próbálkozások akkor és csak akkor voltak eleinte sikeresek, ha a petesejt eltávolított magja helyére embrionális eredetűt ültettek át. 1997-ben új fejlemény történt ebben a vonatkozásban: bejelentették, hogy az előző évben megszületett Dolly bárány, mint egy felnőtt állat kidifferenciálódott (emlőmirigyből származó) sejtjének magjából elsőként klónozott emlős, és egészségesen fejlődik. Azóta sikerült már egeret, macskát, tehenet, majmot, kecskét, stb. is klónozni, és ha a rendelkezése álló adatok hitelesek, érdemi előrehaladás történt az emberi klónozás területén is.

Ez utóbbi lehetőség állította Dollyt és a létrejöttét követő további sikeres emlős klónozási kísérleteket a figyelem és az egymásnak feszülő indulatok középpontjába. A viták ismertetése nem lehet egy genetika jegyzet feladata. Néhány tényt azonban feltétlenül meg kell említenünk. (*1*) A klónozott élőlény az említett esetben nem lehet a sejtmag donor egyed tökéletes mása. (Nem igaz az az állítás, hogy úgy hasonlít rá, mint egypetéjű ikertestvérek egymásra.) Nem csak azért, mert mitokondriumai a petesejtből származnak, hanem mert – sokkal inkább – a génikus fejlődési program igen nagy arányban „-tól -ig" jellegű, azaz a genotípus megadja a lehetséges szélső határokat, ám hogy ezeken belül az illető egyed mit realizál, az rendkívül nagy mértékben függ a környezeti feltételektől, hatásoktól stb. Ám a kísérletezőnek nem is a tökéletes hasonmás előállítása a célja, szemben bizonyos humán klónozási törekvésekkel. (*2*) Dolly 277 elvégzett IVF egyetlen sikeres, kifejlett, életképes példánya. (Azóta szaporodóképessége is igazolást nyert.) (*3*) Komoly viták vannak afelől, hogy Dolly életkora (és várható élettartama) megfelel-e 1996-os születési évének, avagy biológiai korát alapvetően befolyásolja a sejtmag-donor akkori életkora (6 év) is.[2] (*4*) Sokan kifejezték kételyüket atekintetben,

---

[1] A kísérletben nem kellett megtermékenyített petesejtet használni, az oocita pronukleuszának eltávolítása és a testi sejt magjának beültetése után a barázdálódás megfelelő fizikai vagy kémiai ingerekkel is elindítható, ha ennek génikus programja megvan a sejtben.

[2] E sorok írásának pillanatában (2002.) még eldönthetetlen, hogy Dolly tulajdonképpen 6 vagy 12 évesnek tekintendő-e.

hogy Dolly valóban egy terminálisan differenciálódott mirigyhámsejt magjából származik-e, vagy pedig egy őssejtéből, amilyenek – legújabb ismereteink szerint – az emlőmirigyben is nagy számban találhatók.

Az emberi klónozás hívei két célkitűzést emlegetnek: szaporodási és terápiás. *(i)* Emberi lény létrehozása. (Ennek különböző indokai lennének, lehetnének, amelyek nem tartozhatnak jelen tárgyalásunk gondolatmenetébe.) Ezt ma, ahol egyáltalán van ezirányú törvényi szabályozás, minden ország jogrendje tiltja[3]. *(ii)* Emberi őssejtek előállítása gyógyászati célra. Úgy tűnik, ez a megengedett tevékenységek körébe kerülhet.

Az őssejteket (elterjedt angol megnevezéssel: *stem cell*) először a hemopoetikus rendszerben ismerték meg. Nem totipotensek, mint a megtermékenyített zigóta mitótikus oszlásainak legelső – fent említett – produktumai, de multipotensek, sokféle feladatra differenciálódhatnak. Jellemzőjük az olyan osztódás, melynek eredménye egy újabb őssejt (ami a sejtvonal fennmaradását biztosítja), és egy differenciálódó másik leánysejt, amelynek, pontosabban az ebből származó további utódoknak az illető szövet differenciált sejtjei megújításában, pótlásában van szerepe. Az utolsó évtized eredménye, hogy ilyen sejteket immár nem csak a vérképző rendszerben, hanem praktikusan minden szervben megismertünk, ide értve a központi idegrendszert is. Bizonyos gyógyászati eljárásokban ezekhez igen nagy várakozásokat fűznek, de pont a génikus defektusok korrigálására – az érintett saját sejtjeinek közvetlen felhasználásával – nem alkalmasak, mert maguk is a hibás genotípust hordozzák. Génterápiának alávetett őssejtekkel azonban várhatóan érnek majd el eredményeket. Mondhatjuk talán úgy is: minden bizonnyal, hiszen máris túl van a tudomány számos sikeres kísérleten.

Az adenozin deamináz (ADA) enzim defektje (autoszomális recesszív öröklődésű kórkép) súlyos immun-elégtelenséget okoz, ami a T-sejtek funkciózavarára vezethető vissza. Az első sikeresnek nevezhető génterápiás beavatkozás ebben a betegségben történt, 1990-ben. Transzfekcióval az érintett T-sejtjeibe juttattak be ADA gént *in vitro*. A kezelés eredményesnek bizonyult, azonban folyamatosan ismételni kellett. Ha e helyett a beteg saját csontvelői őssejtjeibe sikerül beültetni hibátlan ADA gént, és az ott integrálódik és kifejeződik, a kezelés eredménye tartós lesz. Ez ún. *ex vivo* technikával megvalósítható, és már 1995-ben beszámoltak az első sikerről (retrovírus segítségével történt génbevitellel): a beteg újszülött korában a köldökvérből és a placentából izolált és elraktározott őssejteket *in vitro* tenyésztették, kezelték, szelektálták, a sikeresen

[3] Ennek ellenére 2002. április első hetének végére világgá kürtölte a hírt az elektronikus média és a sajtó, hogy megtörtént, s az első klónozott emberi embrió már 8 hetes az anyaméhben. Arra még sokáig kell majd várnunk, hogy kiderüljön: blöff-e ez, vagy valóság, s ha az utóbbi, sikerült-e, ill. sikerült-e egyáltalán egy is a bejelentett több száz elvégezni szándékozott kísérletből. E sorok Olvasója alkalmasint már tudta is a választ, amikor a kezébe vette ezt a jegyzetet.

transzformáltakat visszaültetteték, és így a hemopoetikus őssejtek 1%-ánál értek el korrekciót. 1995 óta a fejlődés töretlen.

Újszülöttek esetén relatíve könnyű nagy mennyiségű és sok terápiás célra alkalmasnak tűnő őssejteket nyerni a köldökvérből. Ezek a sejtek folyékony nitrogénben évtizedekig biztonságosan tárolhatók, ha élete folyamán annak, akiből származnak, valamilyen okból szüksége lenne rájuk, közvetlenül, vagy valamilyen előkezelés után beültethetők. Azok a célok, amelyek itt szóba jönnek, ma még talán a fantázia világába tartoznak, holnap már a realitások körébe kerülhetnek.

Ha valakinek nincsenek saját, elraktározott őssejtjei, a klónozás tűnhet a megfelelően gazdag és pluripotens (de alkalmasint totipotens) sejtek előállítási útjának. Egy IVF eljárás számára feleslegessé vált petesejtbe ültetett diploid mag, megfelelő *in vitro* tenyésztési eljárással, amelynek során differenciálódás nem léphet fel (tehát nem embriót klónoznak), szolgálhat kellő mennyiségű, és alkalmasint géntechnikával módosított genotípusú (transzgénikus), a sejtmag donorba – vagy esetleg idegen recipiensbe – beültethető őssejttel.

Alkalmas a klónozási technika transzgénikus emlős állatok életrehívására és elszaporítására is. Lehet, hogy a hemofília kérdésének végső megoldása a VIII. (vagy IX-es) véralvadási faktor ép génjét hordozó és azt kifejezni képes őssejtek beültetésével válik lehetségessé (vagy valamilyen preimplantációs génkezelési technikával, a veszélyeztetett családokban). Már ma is biztos azonban az, hogy a VIII-as faktor génje mesterséges emlős kromoszómával[4] bevihető pl. szarvasmarhába. Ha az emberi gént úgy módosítják, hogy a tehénben az emlőmirigyben legyen aktív, és az általa kódolt fehérje a tejben jelenjen meg, egyetlen klónozott transzgén tehéncsorda vérzékenységben szenvedők ezreinek nyújthat biztonságos kezelést.[5]

Más megközelítésben azért váltak fontosakká a fejlődésgenetikai ismeretek, mert ha prenatális genetikai vizsgálat(ok) leleteinek eredményeként terhességmegszakításra kerül sor, ezt követi egy embriópatológiai feltárás annak ellenőrzésére, hogy mennyire volt vagy

---

4 Mesterséges emlős kromoszómát Hadlaczky Gyula és kutatócsoportja hozott létre az MTA SZBK Genetikai Intézetében (Szegeden), majd mesterséges emberi kromoszómát is kifejlesztettek. Ezek a képletek sejt-, ill. később már állatgenerációk (egerek) hosszú során is stabilaknak bizonyultak. Igen nagy méretű (amilyen pl. a VIII-as véralvadási faktoré is), nemkülönben igen nagy számú gén hordozására és továbbadására is alkalmasak. Emlős fajok között is átültethetők.

5 Ismeretes, hogy e sorok írásának idején a hemofíliások kezeléséhez szükséges VIII-as (illetve a IX-es) faktort donorok vérének plazmájából állítják elő. Közismert, hogy számos HIV, hepatitis C és egyéb vírusfertőzés átvivői voltak az ilyen készítmények még az előtt, mielőtt e vírusokat egyáltalán felfedezték, de sajnos az után is. Nagy azoknak a hemofíliásoknak a száma, akik nem az alapbetegségük, hanem az annak kezelése során elszenvedett valamilyen vírusfertőzés áldozatai lettek.

nem volt megalapozott a genetikai diagnózis. Ezzel párhuzamosan egyre több esetben történik hasonló feldolgozás spontán abortumokból is.[6] (Vetélések [és halvaszületések] okaként igen gyakran állapítanak meg génikus vagy kromoszómális rendellenességet.) Így ismereteink rohamosan gyarapodnak, az új tudásanyag befogadása bizonyos alapokat mindenképpen igényel.

A Drosophila lárva fejlődésének génikus szabályozása

Már nagyon régen izgatta a kutatókat annak a rejtélye, hogy miképpen is lesz egyetlen megtermékenyített petesejtből, a zigótából egy bonyolult szerkezetű és működésmegosztású, differenciált sejtek millióiból, de akár milliárdjaiból is álló, különböző specializálódású szervekre és szövetekre tagozódó szervezet; totipotens sejtből pluripotens alakokon át magasan differenciált és specializált sejt. Ebben a vonatkozásban nem csak az ontogenezis lépéseinek feltérképezése, anatómiai és szöveti változások egymásutánjának precíz leírása, hanem mindezek oki meghatározottságának, a megfelelő gének helyesen időzített be- és kikapcsolásának feltárása jelentett és jelent mind a mai napig nagy kihívást. Az embrió fejlődésének génikus szabályozásáról szerzett ismereteink túlnyomó többsége a *D. melanogaster*en mint modellen végzett vizsgálatokból származik. (Nagyon sok adathoz jutottak a kutatók a *Caenorhabditis elegans* nevű nematoda tanulmányozásával is, amelynek kifejlett példányai 959 (!) sejtből állnak, és ezek mindegyikének fejlődésgenetikai sorstérképe megrajzolható. Az emlősök egyedfejlődését legjobban az egérre vonatkozó megfigyelésekből ismerjük.) Ahhoz képest, hogy az ízeltlábúak és a gerincesek között az evolúciós távolság nagy, meglepő felismerésnek bizonyult, hogy

---

[6] Nem szabad elfelejtenünk, hogy az embriógenezisben fellépő rendellenességeknek lehetnek olyan külső okai is, amelyek következményei utánozni tudják a génállomány hibájából létrejövőket. A külső ártalom nem a gén(eke)t érinti, hanem valamilyen fehérje (fehérjék), ill. egész rendszer(ek) működését zavarja meg, késlelteti, vagy függeszti fel. A genotípus ettől nem változik meg. Ilyen esetekben ***fenokópiá***(k)ról beszélünk. Mindenekelőtt rá kell mutatnunk az anyai szervezetet érő vírusfertőzések, fizikai és kémiai ártalmak kóroki jelentőségére. Az utóbbi körbe tartoznak – egyebek között – bizonyos gyógyszerek esetleges hatásai (l. 6. fejezet, farmakogenetika). A szomorú nevezetességre szert tett ún. Contergan ügyben megfigyelt (*thalidomid embryopathia*nak nevezett) rendellenességek közül egyeseknek van génikus hátterű megfelelője. Ennek az enyhe hatású nyugtatószernek nem volt káros hatása az előzetesen elvégzett állatkísérletekben, egyetlen emberi mellékhatásának pedig a „Contergan bébi"-k bizonyultak, a szert szedő terhes nők egy kisebb hányadában (és csakis akkor, ha a készítmény az embrió fejlődésének egy meghatározott periódusában volt jelen, ebben az esetben viszont stádium-függően, azaz más-más időpontú hatás esetén más-más rendellenességet okozva).

a muslica lárvák egyedfejlődését irányító gének közül soknak a homológját sikerült emberben is megtalálni, és ezek a gének a kétszárnyúakban megfigyeltekhez hasonló szerepet játszanak az embriogenetikai kutatások számára hozzáférhető csirkékben és egerekben.

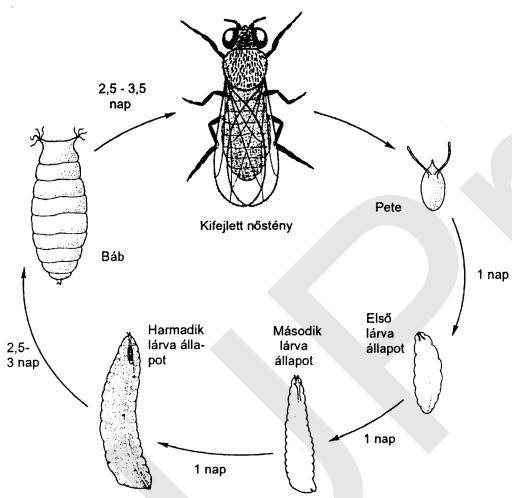
MORFOGÉNEK

Az állati zigóta barázdálódása során csak osztódik, és egészen a morula (szedercsíra) stádiumig nem növekszik. Ebben az állapotban sejtjei még pluripotensek. Mi dönti el, hogy mivé fejlődnek, differenciálódnak? Más megfogalmazásban: milyen folyamatok szűkítik be fokozatosan potenciáljukat az egyedfejlődés során a kezdeti mindenre alkalmasság állapotából a differenciáltságukat megjelenítő struktúrák és funkciók egyedi és egyetlen kifejeződési képességére? Autonóm génikus programjuk, vagy külső környezeti tényezők? A válasz: mindkettő! A megtermékenyítés aktiválja a fejlődésgenetikai programot, ugyanakkor ez nem teljesen autonóm, hanem az abban kódolt lehetséges utak közül történő választásban pl. pozícionális hatások játszanak döntő szerepet: az, hogy hol helyezkedik el az adott sejt az embrióban, ill. az embriókezdeményben. A pozícionális különbségek megjelennek a morula stádiumban, kifejezettebbek a blastulában (hólyagcsíra), a *gastrula* (bélcsíra) állapotban pedig a külső szemlélő számára is nyílvánvalóakká válnak. Azokat a fehérjéket, amelyek, ill. amelyek grádiensei közvetlenül határozzák meg egy sejt differenciálódási folyamatát és befolyásolják további sorsát, ***morfogén***eknek nevezték el. (Ne tévesszük össze a morfogént a génnel! Természetesen a morfogéneket is gének kódolják, ezek közül az alábbiakban még találkozunk eggyel-kettővel.) Azonosítottak más anyagokat is, amelyek gradiensei bizonyos differenciálódási folyamatokat irányítanak. (Pl. a cAMP a *Dictyostelium discoideum* nyálkagomba esetén). Magasabbrendűekben pl. a retinsav a *Hox* gének aktivitását (l. alább) szabályozó molekula. Itt is a sejtek pozíciója dönti el a szabályozó anyag jelenlétére adott választ. (Ennek a regulációnak a mechanizmusa még nagyon kevéssé ismeretes.) Kezdetben spontán mutánsok izolálásával, tanulmányozásával és célzott keresztezésével vizsgálták a fejlődés egyes lépéseit, később ez kiegészült indukált mutációk létrehozásával, napjainkban pedig már az irányított mutagenizálás lehetősége is adott.

DUPLICATE

ANYAI HATÁS, ZIGOTIKUS GÉNEK, HOMEOTIKUS GÉNEK

Mint már említettük az embrió fejlődésének génikus szabályozásáról szerzett ismereteink túlnyomó többsége a *Drosophila melanogaster*en mint modellen végzett vizsgálatokból származik. Ez az élőlény a fejlődésgenetikai vizsgálatok kedvelt kísérleti állata. Az ecetmuslica a Dipterák közé tartozó szelvényezett testfelépítésű élőlény. Teste három fő testtájra tagozódik, a fejre, torra és a potrohra. A szelvényezettség már a petéből kikelő lárva testén is felismerhető, összevethető a kifejlett egyedével, ami megkönnyíti a fejlődés folyamatának tanulmányozását. A kifejlett egyed teste a lárva epidermiszének speciális függelékeiből – az imaginális korongokból – jön létre a báb belsejében lejátszódó teljes átalakulás során (8.1. ábra)

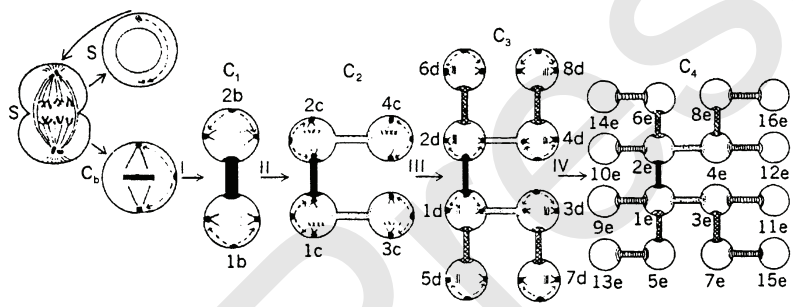


8.1. ábra. *A* D. melanogaster *fejlődésének vázlata.* A folyamat a petéből a lárva állapotokon keresztül az imágóig tart.

Ahhoz, hogy megérthessük a *Drosophila* embrió fejlődésének genetikai szabályozását, röviden érdemes áttekinteni magának az embriogenezisnek a folyamatát, sőt az azt megelőző folyamatokat is, az oogenezist, a petesejt kialakulását. A fejlődési folyamat ugyanis jóval a megtermékenyítés előtt elkezdődik. Az anya szervezetében gének százainak aktivitása szükséges a petesejt létrehozásához. Maga a petesejt egy sajátos belső struktúrával rendelkező speciális sejt, benne az RNS molekulák és fehérjéik nem véletlenszerűen, hanem *dorso-laterális* és *antero-posterior* tengelyek mentén, lokalizáltan helyezkednek el. Maga az ovum, nem tekinthető önálló sejtnek sem, nagyon sok stimulust kap az őt körülvevő dajka- és follikuláris sejtektől. A petesejtek a *Drosophila* petefészkében a petecsövekben fejlődnek ki az őscsírasejtekből. A petecső csúcsi részében a őscsírasejt mitótikusan osztódik, az egyik utódsejt – a citoblaszt - tovább osztódik mitótikusan és egy 16 sejtből álló cistát alakít ki, amelynek egyik sejtjéből meiotikus osztódással oocita lesz, a többi 15 pedig dajkasejtként funkcionál (8.2. ábra).

BUPress

Ezt a 16 sejtes cisztát szomatikus eredetű follikuláris sejtek veszik körül. A ciszta sejtjei nem különülnek el teljesen egymástól, a dajkasejteket és az oocitát citoplazmahidak kötik össze, ezeken keresztül a citoszkeleton mentén motor fehérjék segítségével nagy mennyiségű RNS molekula, fehérje szállítódik a dajkasejtekből a képződő petesejt citoplazmájába. A follikuláris sejtek is hozzájárulnak a pete differenciálódásához, kémiai szignálok segítségével részt vesznek a pete *antero-posterior*, valamint *dorso-ventrális* tengelyeinek kialakításában. Az oogenezis végén a follikuláris sejtek kiválasztják a petesejt védőburkait, a korion- és vitellinmembránt. Végül a dajka- és follikuláris sejtek degenerálódnak, a leendő oocita megkezdi az első meiotikus osztódást, de megáll a metafázisban a későbbiekben az uterusban megtermékenyül és befejezi a megkezdett meiotikus osztódást.



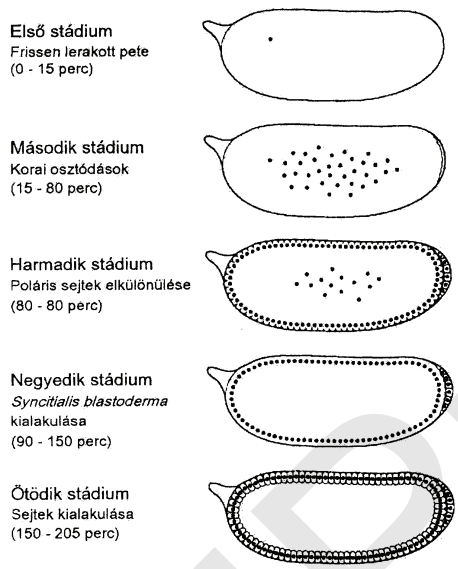
8.2. ábra. *A pete kialakulásának folyamata* Drosophilában. Az egymást követő osztódások után az „**1e**" jelű sejt lesz a petesejt. A sejteket összekötő citoplazma hidakon keresztül a géntermékek átjuthatnak egyik sejtből a másikba, a sejtek szabályozási szempontból is szoros kölcsönhatásban vannak egymással.

Az embriogenezis típusát nézve a *Drosophila*áé szinciciális speciációt mutató embrió. A speciáció az a folyamat, amely során az embrió sejtjei elkötelezetté válnak bizonyos fejlődési útvonal felé, determinálttá válnak a sejtek, eldől sorsuk. A speciáció kezdete még reverzibilis állapotot jelent, az elkötelezettség azonban már irreverzibilis stádium, a sejt sorsa végleg meghatározottá vált.

A *Drosophila* zigóta sejtmagja sorozatosan osztódik (hasadási osztódás), de a magok osztódását nem követi a citoplazma elkülönülése (szincícium jön létre, 8.3. ábra).

Ez a folyamat a 10. osztódási stádiumig tart (ekkor 512 mag van a citoplazmában) amikor az embrió hátulsó pólusánál, az ún. poláris granulumok területén néhány sejtmag körül kialakul a sejtmembrán, ezzel elkülönülnek az ún. poláris őscsírasejtek, amelyek később az állat ivarsejtjeivé differenciálódnak. Ebben a stádiumban tehát a sejtmagvak döntő többsége még szabadon van a citoplazmában, de megkezdik vándorlásukat a fel-

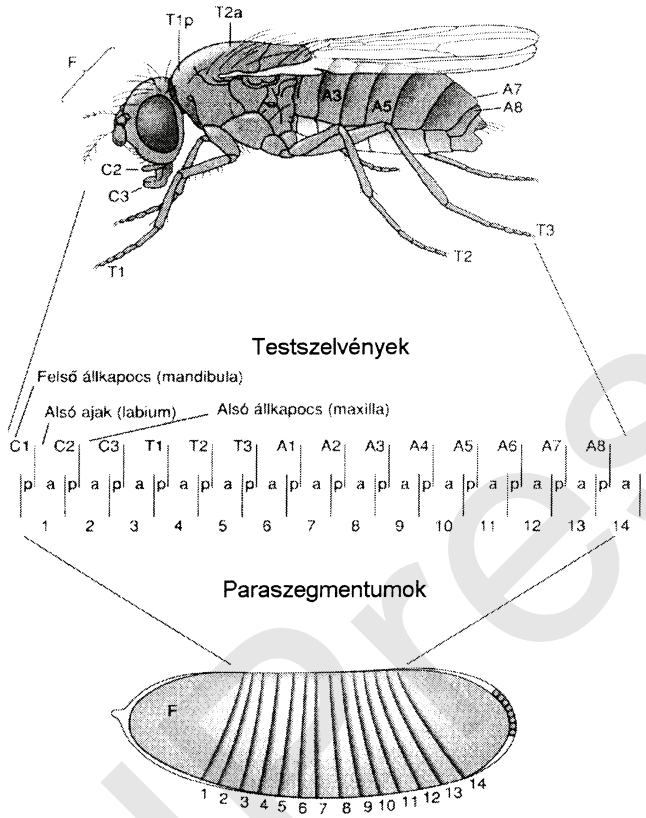
színi, ún. kortikális régió felé, kialakítva ezzel a szincíciális blasztodermát. A szincíciális blasztodermában sejtmagvak még mindig egy közös citoplazmában találhatóak, nem választja el őket egymástól sejthártya, így a citoplazmában lévő regulátor molekulák szabadon diffundálhatnak, vagy szállítódhatnak embrióban. Ez természetesen azt jelenti, hogy a regulátor molekulák közvetlenül kapcsolódhatnak a magvakban lévő DNS molekulákhoz. A differenciálódás kezdeti szakaszán tehát nem a sejtek között, hanem a sejten belül, annak bizonyos részei között alakulnak ki szabályozó jellegű kölcsönhatások. A kortikális régióban a magok tovább osztódnak és számuk megközelíti a 6000-et (13 osztódás) ekkor kialakul körülöttük a sejthártya, ezzel elkülönülnek egymástól a blasztomer sejtek és létrejön a celluláris blasztoderma. Ezt követően megkezdődik a gasztruláció, az embrió növekszik, majd ismét rövidül, a szegmentáció során kialakulnak a lárván jól megfigyelhető testszelvények, amelyek megegyeznek az imágóéval. Egy napos fejlődés után kikel a petéből a lárva, amely kétszer vedlik, majd bebábozódik. A bábból végül kikel a kifejlett egyed, az imágó. Az imágó külső szervei (lábak, szárny, csápok, stb.) a lárva speciális sejtcsoportjaiból, az ektoderma függelékeiből, az imaginális korongokból fejlődnek ki.



8.3. ábra. *A Drosophila embrió első – szincíciális – osztódásai.*

A differenciálódási folyamatot szabályozó gének termékei a korai embrióban sávok formájában figyelhetőek meg. Ezek a génaktivitási zónák az ún. paraszegmentumokkal kapcsolatosak, amelyek az egyik testszelvény hátulsó és a következő szelvény elülső részét foglalják magukban (mintha a testszelvényekhez képest el lennének csúsztatva). Tehát a génaktivitás morfológiai egysége a *Drosophila* korai embriójában a paraszegmentum és nem a testszelvény (8.4. ábra).

DUPress



8.4. ábra. *A kifejlett Drosophila és az embrionális paraszegmentumok közötti kapcsolat.* Felül a kifejlett állat, alul a korai embrió 14 paraszegmentuma látható. F–: fej-, T–: tor-, A–: potroh szelvények.

Az 1-14 paraszegmentumok az embrió kialakításában vesznek részt, beleértve a fej hátulsó részét, a tort és a potrohot. A fej elülső része (*acron*) és a potroh utolsó szelvényének nyúlványa, a faroknyúlvány (*telson*) más embrionális elemekből származik.

Akárcsak a többi bilaterális szimmetriájú állat a *Drosophila* embrió is két független tengely mentén szerveződik: az *antero-posterior* (A/P) és a *dorso-ventrális* (D/V) tengelyek mentén. Ez a két tengely tehát már a petében, a megtermékenyülés előtt kialakul. Az A/P tengely mentén az embrió először régiókra tagolódik, amelyekből kialakul a fej, a tor és a potroh. A korai nagy régiókra történő felosztás után megkezdődik a szegmentáció (szelvényezettség) kialakítása. Az embrió szelvényezett lárvává fejlődik, melynek szel-

DUPress

vényei fél szelvénnyel „elcsúsztak" a paraszegmentumokhoz képest (8.4. ábra). Az egyes szelvények megkülönböztethetőek egymástól felszíni mintázatuk alapján.

A differenciálódási folyamat genetikai analízise során kiderült, hogy az ecetmuslica testfelépítésének kialakításában szereplő gének olyan hierarchikus csoportokba rendezhetőek, amelyek különböző időpontokban és a test különböző régióiban hatnak, a génaktivitásoknak tehát van egyfajta térbeli és időbeli rendezettsége. Általában az is igaz, hogy egy korábbi szabályozó csoport génjei egy később ható géncsoport génjeit aktiválják, majd ezek termékei ismét egy következő csoport működését irányítják. Az egymásra épülés azonban nem kizárólagos, az egy csoporthoz tartozó gének szabályozzák a velük egy csoportban lévő más gének expresszióját is. Vannak olyan gének is, amelyek akár a több lépéssel később következő gének aktivitását is szabályozzák. A legtöbb esetben a szabályozó gének termékei transzkripciós faktorok, amelyek közvetlenül hatnak más gének átíródására. Ezek a transzkripciós faktorok általában nem egyenletesen oszlanak meg a petében, számos géntermékre koncentráció gradiens jellemző. Emellett a szabályozott gének aktiválása a transzkripciós faktorok koncentrációjának függvénye, ezért az aktiváció csak a gradiens egy meghatározott helyén következik be, ott, ahol a transzkripciós faktor koncentrációja éppen megfelelő. Az is jellemző, hogy egy-egy gén aktivitását nem csak egy transzkripciós faktor regulálja, hanem több faktor együttműködve, saját koncentrációjuk függvényében szabja meg a gén aktivitását. Ezt a jelenséget ***kombinatórikus szabályozás***nak nevezzük.

A génaktivitás hierarchiája

A Drosophila embriók fejlődését irányító gének két nagy csoportba oszthatóak: (1) az anyai hatású gének csoportjára és a (2) zigótikus gének csoportjára.

AZ ANYAI HATÁS ÁLTALÁNOS JELLEMZŐI

A legtöbb állatfajban a zigóta saját génjei nem azonnal fejeződnek ki. A korai fejlődést olyan faktorok szabályozzák, amelyek az anya szervezetében szintetizálódtak, és az oocitában tárolódnak. Ezek az anyai faktorok tulajdonképpen a petékben található mRNS-ek, amelyek a pete fejlődése, az oogenezis alatt keletkeznek, majd fehérjékkel komplexet alkotva a petesejt citoplazmájában tárolódnak. A fejlődés legkorábbi szakaszait tehát ezek az oocitában tárolt és a megtermékenyítés után fehérjévé transzlálódó mRNS-ek irányítják. A megtermékenyítést követően aztán a legtöbb faj esetében a zigótikus genom jóval azelőtt aktiválódik, hogy az anyai mRNS-ek degradálódnának, így

mind az anyai mind a zigótikus mRNS-ről átírt fehérjék megtalálhatóak az embrióban. Végül az anyai mRNS-ek lebomlanak és ezután már a zigótikus génekről átírt mRNS-ek veszik át a fejlődési folyamat irányítását.

Az élőlények nagyon különböző időpontokban állnak át a fejlődés citoplazmatikus (anyai) szabályozásról a zigóta saját genomja által kifejtett szabályozásra. A *Drosophila*-ban az első zigótikus transzkriptumok a 10. magosztódás után mutathatók ki. Ember esetében már a kettő-négysejtes stádiumban aktiválódnak az embrió saját génjei.

Az eukarióta sejtek belső tere nem egységes: a különböző régiók (kompartmentek) önálló funkciókkal bírnak, és ez természetesen azzal jár, hogy a különböző régiókban eltérő fehérjék működnek. Az anyai eredetű mRNS-ek lokalizációja is szigorúan determinált az embrióban. Az embrióban az anyai mRNS molekulák általában a rendezetten elhelyezkedő citoszkeleton mentén motorfehérjék segítségével szállítódnak, majd a célhelyen specifikus RNS-kötő fehérjékhez kapcsolódva rögzülnek a citoszkeletonhoz. A kötődés specifitását általában a mRNS 3' nem-transzlálódó (3' UTR szakasz) régiójának bázis szekvenciája biztosítja. A mRNS-ek lokalizációjának természetes következménye, hogy az RNS transzlációja is az embrió bizonyos területére korlátozódik. Ennek következtében az embrióban egy adott mRNS kifejeződve a kódolt fehérje lokalizált forrásaként szolgál. Az ilyen „lokalizált fehérje források" morfogén gradiensek kiinduló-pontjaiként szolgálhatnak.

AZ ANYAI HATÁS GENETIKAI BONCOLÁSA

Nyilvánvaló, hogy a petesejtek anyagainak szintézisét az anya genetikai állománya irányítja, azaz az anya genotípusa szabja meg az utód fenotípusának bizonyos jegyeit. Az anyai hatás tényezőit kódoló géneket mutációkkal tönkre lehet tenni. Amikor egy nőstény homozigóta egy ún. anyai hatású mutációra (itt *m/m*), akkor petéiből hiányzik az ép géntermék. Az anyai hatású mutációk legtöbbjének esetében az *m/m* nőstényektől látszólag csupa ép peték származnak, elkezdődik az embriogenezis, de megakad azon a ponton, ahol az illető komponensre szükség volna. Az embriók elpusztulnak, függetlenül a saját genotípusuktól. Végeredményben tehát az *m/m* nőstények sterilek. Egy jól ismert példa a *grandchildless*, az *unoka nélküli* (m) mutáns. A petesejt citoplazmájában nem képződnek poláris granulumok (és ennek következtében majd az utódban ősivarsejtek sem) azoknak a nőstényekben, amelyek homozigóták egy olyan mutációra, amely a poláris granulumok szintézisét meghatározó gének valamelyikében következett be. Az *m/m* nőstényeknek ugyan lesznek utódaik, de mivel az utódok sterilek, az *m/m* nőstényeknek nem lesznek unokáik. (A genetikusok az ép géneket a mutáns fenotípus alapján szokták elnevezni.)

A nőstények sterilitását okozó ún. nőstény-steril mutációk között nagyon sok olyan van, amely az anyai hatásban szerepet játszó molekulák valamelyikét kódolja. A mutáns fenotípus alapján következtetni lehet az ép gén szerepére. A genetikai boncolás azt jelenti, hogy genetikai módszerrel – mutációkkal - azonosítanak olyan géneket, amelyek valamely folyamat elemei. A gének szerepét megismerve a folyamat, mint egy kirakós

játék összeállítható, megismerhető. A különböző spontán vagy indukált mutációk közül az ún. funkcióvesztéses, (*loss of function,* ***lof***) és a funkciónyeréses (*gain of function,* ***gof***) gének különösen hasznosak a vizsgálatokhoz. Az előbbiek recesszívek, az utóbbiak domináns mutációk. Funkciónyerés lehet általában a túlzott expresszió, de a rossz időben és/vagy helyen történő génkifejeződés is vezethet *gof* mutációhoz. A funkciónyeréses mutációk zömét olyan bázispár- és ebből következően aminosav-cserék jelentik, amelyek úgy változtatják meg a fehérje funkcióját, hogy az akkor is működik, amikor erre nem volna szükség. Az ún. anyai hatású mutációk alapján megismerhető a korai embriogenezis szabályozásának mechanizmusa, a nőstény-sterilitás genetikai alapjai.

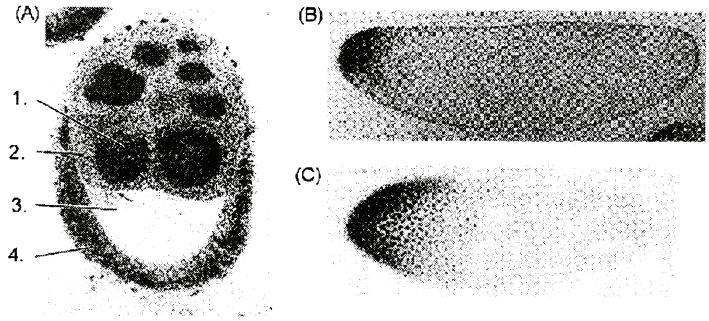
ANYAI HATÁSÚ GÉNEK

A *Drosophila* fejlődésének legkorábbi szakaszait tehát azok a „preformált," előre elkészített mRNS-ek irányítják, amelyek a dajkasejtekben képződnek az oogenezis idején. Kb. 50 anyai hatású gén vesz részt a két testtengely kialakításában és az alapvető pozícionális információ lefektetésében, amit aztán az embrió saját genetikai állománya értelmez. Miután ezeknek a korai anyai hatású géneknek a hatására különül el az embrió elülső és hátulsó vége, valamint a hasi és a háti oldala ezeket a géneket koordinátákat meghatározó géneknek – *coordinate gén*ek – nevezik. Itt most csak az embrió anterior/posterior (A/P) testtengelyének kialakításában résztvevő fontosabb géneket tárgyaljuk. A *Drosophila* embrióban az egyik legfontosabb anyai hatású gén a *bicoid* gén, az erről átírt mRNS az embrió elülső végében halmozódik fel. Amikor a *bicoid* mRNS átíródik, a keletkező fehérje eldiffundál a keletkezés helyéről, ezért a Bicoid fehérjének egy koncentráció gradiense alakul ki az embrió elülső és hátulsó vége között (8.5. ábra).

A Bicoid fehérje gradiens kulcsfontosságú az embrió A/P tengelyének kialakulásában. A *coordinate gén*ek közé tartozó *bicoid gén* mellet még három anyai hatású génnek van hasonló szerepe, a *nanos* gén az embrió hátulsó végének meghatározásáért felelős (nélkülözhetetlen a potroh szabályos fejlődéséhez), a *hunchback* és a *caudal* gének termékei szintén hozzájárulnak a testtengely kialakításához. A Hunchback és Caudal fehérjék pedig már a következő csoportba tartozó gének, – a *gap gének (rés gének),* – aktiválásában játszanak majd fontos szerepet.

Az anyai hatású gének alapvető szerepet játszanak, de megnyilvánulásuk csupán az első lépés az embriogenezisben. Géntermékeik más génekkel és azok termékeivel kölcsönhatásban – további génaktiválódásokkal járó lépések sorozatában – alakítják ki az embrió mintázatát.

Az embrió elülső és hátulsó végének elkülönülésekor a pete citoplazmájában elhelyezkedő sejtmagvaknak pozíciójuknak megfelelően értelmezniük kell a Bicoid fehérje koncentrációgradiensét és meghatározott térbeli és időbeli sorrendben működésbe kell hozni az embrióban működő zigótikus géneket. Ennek a folyamatnak kulcsfontosságú eleme a Hunchback fehérje. A hunchback mRNS-t a dajkasejtek helyezik el az embrióba, de egy idő után a zigótikus *hunchback* gén is átíródik, tehát az anyai eredetű fehérjét felváltja a zigótikus fehérje.

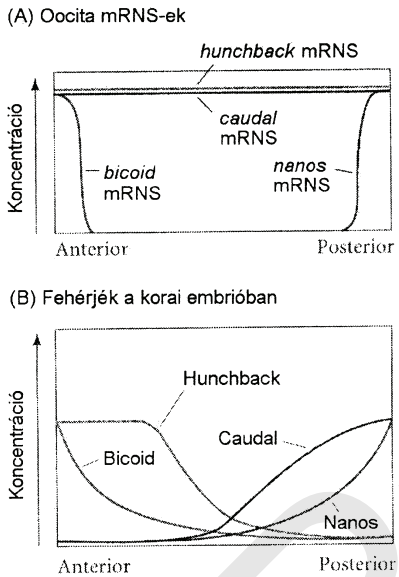


8.5. ábra. *A Bicoid fehérje gradiense a Drosophila embrióban.* (A) A Biocid fehérje a dajkasejtből jut be a petesejt citoplazmájába. (1: dajkasejt magja; 2: dajkasejt citoplazmája; 3: a petesejt citoplazmája; 4: folllikuláris sejtek. (B) A Bicoid mRNS az embrió anterior végén lokalizált (sötét terület). (C) A Bicoid fehérje gradiense az embrióban. A sötét festődésből jól látható, hogy a fehérje koncentrációja az anterior végen a legnagyobb. Az, hogy a fehérje foltokban helyezkedik el arra utal, hogy a Bicoid fehérje a sejtmagban található.

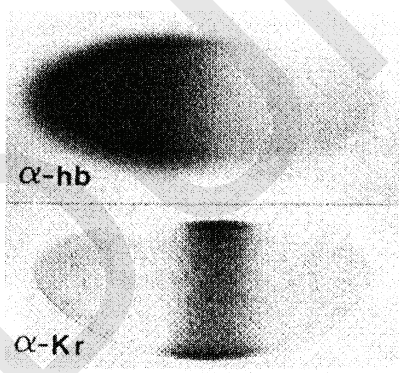
A *hunchback* gén tehát már zigótikus gének első csoportjába az ún. *gap gének, rés génnek* közé tartozik. Ez utóbbiak elnevezése arra utal, hogy e gének mutációi következtében olyan embriók keletkeznek, amelyek testéből nagyobb részek, embrionális struktúrák hiányoznak, rések vannak a testen ott, ahol az illető génnek működnie kellett volna. Érdekes módon a hunchback mRNS nincs helyhez rögzítve, egyenletes eloszlást mutat az embrió teljes hosszában. A hunchback fehérje viszont már az embrió anterior végtől kezdődően egy csökkenő koncentrációjú gradienst alkot és a fehérje már nincs jelen az embrió hátsó harmadában (8.6. ábra).

E gradiens kialakulásáért a Bicoid és a Nanos fehérjék felelősek. Emlékezzünk, a Bicoid fehérje főleg az embrió anterior végén lokalizált. Maga a fehérje egy transzkripciós faktor, tehát képes más gének aktivitását szabályozni. A Bicoid fehérje egyik célgénje maga a zigótikus *hunchback* gén, a Bicoid fehérje koncentrációtól függő módon aktiválni képes a *hunchback* gén átíródását úgy, hogy a gén 5' vége előtti enhancer szakaszokhoz tud kötődni. Az embrióban az anterior vég felől kezdődően a bicoid fehérje csökkenő gradienst alkot, ezért egy bizonyos távolságban már a bicoid koncentrációja nem elegendő a *hunchback* aktiválásához, megszűnik az anterior végtől távol lévő sejtmagvakban a *hunchback* expressziója. A Hunchback fehérje keletkezését még egy tényező szabályozza, a Nanos fehérje. Ez az embrió posterior végén található fehérje más fehérjékkel együttműködve az anyai és zigótikus eredetű hunchback mRNS 3' át nem íródó végéhez (3' UTR régió) kötődve megakadályozza, hogy a mRNS fehérjébe átíródhassék. Ezeknek a hatásoknak a következtében a Hunchback fehérje csak az embrió anterior felében keletkezik és egy éles határvonalat követően már nem található meg az embrióban. A Bicoid fehérjének azonban még van egy másik fontos funkciója. Nagy koncentrációban meggátolja az embrió hossztengelye mentén egyenletes eloszlásban jelenlévő caudal mRNS transzlációját (a Bicoid fehérje is a mRNS 3' UTR végéhez kötődve

gátolja annak átíródását). Ahol tehát a Bicoid koncentráció magas az embrióban, ott a caudal fehérje koncetrációja alacsony és fordítva, azaz a két fehérje gradiens pontosan fordítottja egymásének (8.7. ábra).



8.6. ábra. *Az anyai hatású gének termékei által létrehozott anterior-posterior irányú mintázat kialakulásának modellje.* (A) A *bicoid*, *nanos*, *hunchback* és *caudal* gének mRNS-ei a dajka sejtekből jutnak át a petesejtbe. A bicoid mRNS az anterior-, a nanos mRNS a posterior végen rögzül. (B) A transzlációt követően a Bicoid fehérje eldiffundál a posterior vég felé, a Nanos fehérje pedig az anterior felé. A Nanos fehérje meggátolja a posterior végen a hunchback mRNS átíródását, a Bicoid fehérje pedig a caudal mRNS átírását gátolja az anterior végen. Ezeknek a hatásoknak megfelelően a Hunchback és Caudal fehérjék is ellentétes pólusokon találhatók.



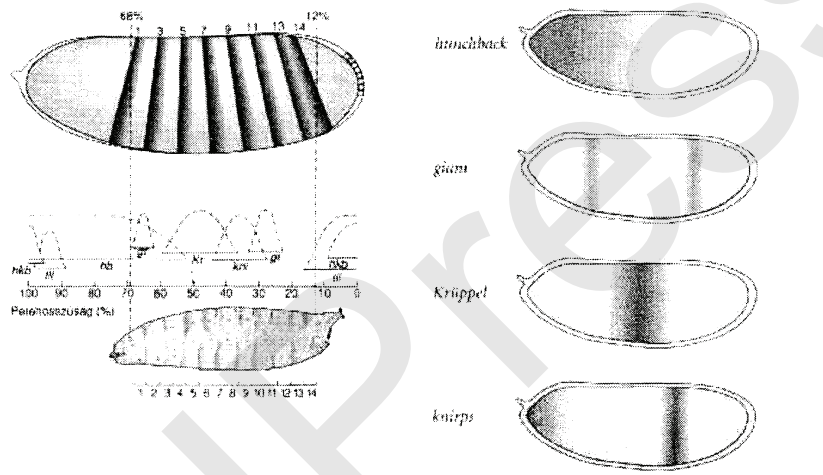
8.7. ábra. *A Hunchback és Krüppel fehérjék koncentrációgradiensének összehasonlítása.*

A caudal fehérje maga is transzkripciós faktor, a poszterior vég kialakításához szükséges *rés* gének - pl. a *knirp* és *giant* aktivátora. Innentől kezdődően tehát a zigóta saját genomja veszi át az embrió differenciálódásának irányítását, de természetesen az anyai hatású gének termékei még befolyásolják a zigótikus gének aktivitását.

A fejlődés következő fázisában a *gap gének* szabályozzák a hierarchiában utánuk következő csoportba tartozó gének aktivitását, de egymás működését is befolyásolják. A

DUPLICATE

különböző *gap* gének termékei az embrió testén, éles határvonallal elválasztott zónákban mutathatóak ki. A zónák kialakulásáért a *koordinátor* gének és *gap* gének termékei együttesen felelősek. A Hunchback fehérje például három másik *gap gén,* a *krüppel*, *knirps* és a *giant* szabályozásában is szerepet játszik. Ezen gének mindegyike „értelmezi" a Hunchback gradienst. A Bicoid fehérje és kis koncentrációban a hunchback fehérje aktiválja a *krüppel* gént, de nagy koncentrációban a Hunchback már gátló hatású. Az embrió hátulsó felében a caudal fehérje aktiváló hatására megjelenő knirps fehérje is gátolja a *krüppel* gén átírását. Ezen hatások következtében az anterior végen a magas Hunchback koncentráció, a poszterior végen pedig a hunchback hiánya és a knirps fehérje megjelenése éles határok közé szorítja a *krüppel* gén aktiválását, a Krüppel fehérje kialakulását (8.8. ábra).



8.8. ábra. *A gap gének expressziója az embrió blasztoderma stádiumában.* (A) Felül az embrió, alul a lárva paraszegmentumai láthatók, a harang alakú görbék az egyes gének expressziójának erősségét és helyét jelzik. Néhány gén: gn: *giant;* hb: *hunchback;* Kr: *krüppel;* kni: *knirps.* (B) Az anyai hatású fehérjék hatására a gap gének loklizáltan, sávokban aktiválódnak.

Hasonló génkölcsönhatások miatt a hat *gap gén* mindegyike csak az embrió egy-egy zónájában aktiválódik, termékeik egymást követő sávokban jönnek létre és a továbbiakban ezek a géntermékek szabályozzák az embrió testrészeinek további differenciálódását. A 8.8. ábra hat *gap gén* expressziójának mintázatát mutatja. Látható, hogy az egyes gének csak az embrió testének egyes zónáiban aktívak.

A *gap gének* termékei transzkripciós faktorok, láthattuk, hogy ezek a fehérjék más *gap gén*ek expresszióját befolyásolják, de emellett a következő csoportba tartozó gének – az ún. *páros szabály gének, pair rule gének* – aktivitását is szabályozzák.

A PÁROS SZABÁLY GÉNEK

A *gap* gének termékei az embriót nagyobb régiókra osztják fel (fej, tor, potroh), a szelvényezettség első jele akkor alakul ki, amikor a 13. osztódási ciklus alatt aktiválódnak a *páros szabály (pair-rule)* gének. Ezeknek a géneknek az expressziós mintázata egészen meglepő, ugyanis a *coordinate* - és a *gap* gének termékeinek hatására a *páros szabály* gének alternáló sávokban expresszálódnak az embrió testén, ezek a sávok alakítják ki a paraszegmentumokat, a testszelvények előfutárait (8.8. ábra).

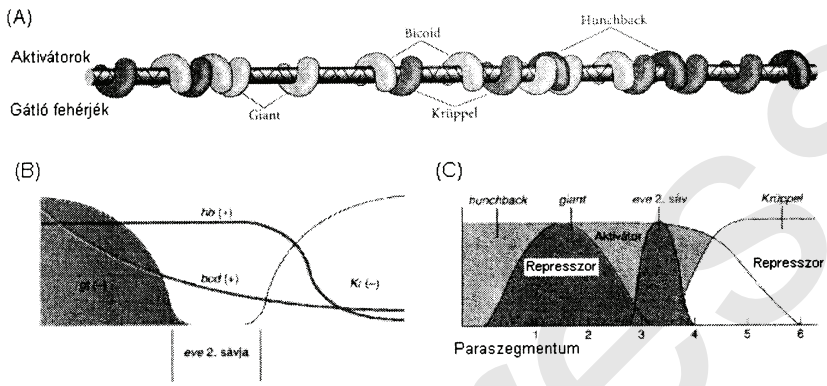
A *páros szabály* gének közös jellemzője, hogy az egyes gének mutációja következtében minden második testszelvény hiányzik.

A *páros szabály* gének kijelölik az egyes paraszegmentumokhoz tartozó sejtmagvakat (a sejtek csak ezután alakulnak majd ki) és tulajdonképpen ezzel kijelölik az azonos szegmenthez tartozó sejteket is. Az azonos paraszegmentumhoz tartozó sejtekben azonos páros szabály gének aktiválódnak. Az egyik ilyen gén például az *even-skipped* (*eve*), amely a páratlan paraszegmentumokat alakítja ki (*eve* mutánsokban hiányoznak a páratlan számú paraszegmentumok, mintha kiestek volna - skipped). Egy másik gén a *fushi tarazu* (*ftz*) a páros számú paraszegmentumokat alakítja ki és amint az várható, az *ftz* mutánsokban hiányzanak a páros paraszegmentumok. Az egymással szomszédos paraszegmentumok sejtjeiben tehát nem azonos páros szabály gének aktiválódnak és végül a páros szabály gének expressziója összesen tizennégy sávot (hét páros és hét páratlan számú sávot) alakít ki. Összesen nyolc ilyen gént ismerünk, a paraszegmentumban található minden egyes sejtsornak megvan a rá jellemző páros szabály gén expresszió „konstellációja", azaz jellegzetes kombinációja az aktív *páros szabály* géneknek.

Miként szabályozzák a *gap* gének a *páros szabály* géneket, hogy azok aktivitása ilyen sávszerűen jelentkezik? Ezt vizsgálva kiderült, hogy a páros szabály gének kategóriájába tartozó gének között is hierarchikus sorrend mutatható ki. Az elsődleges *páros szabály* géneket (ezek közé tartozik pl. az *eve*) közvetlenül a *gap* gének aktiválják (együttműködve a még mindig jelen lévő anyai hatású *coordinate* gének termékeivel), majd pedig az elsődleges *páros szabály* gének termékei szabályozzák a másodlagos *páros szabály* gének expresszióját (ide tartozik az *fsh*). Az elsődleges *páros szabály* gének alakítják ki a paraszegmentumok alternáló mintázatát és ezt a mintázatot finomítják tovább a másodlagos *páros szabály* gének. Hogyan szabályozódik a páros szabály gének expressziója? Vegyük példának az *eve* gént. Ez a gén hét sávban aktiválódik az embrió testén. Molekuláris vizsgálatok kimutatták, hogy az *eve* gén expresszióját minden sávban más és más enhancer régió szabályozza, azaz az *eve* gén előtti DNS régióban hét egymástól független regulációs modul szekvencia, enhancer szakasz található. Minden sávnak megvan a saját, a csak arra a sávra specifikus serkentő (*enhancer*) szakasza, ami kiváltja a gén expresszióját az adott sávban. A 8.9. ábrán az *eve* génnek a második sávban történő expressziójáért felelős enhancer régió látható.

Látható, hogy ez az enhancer régió számos transzkripciós faktor specifikus kötőhelyét tartalmazza. Hét kötőhelye van a Krüppel fehérjének, három-három a Hunchback és Giant fehérjéknek és öt a Bicoid fehérjének. Ezek a fehérjék koncentrációjuktól függő módon hatnak az *eve* gén átírására, a Krüppel fehérje és nagy koncentrációban a Giant fehérje gátolja az expressziót, a Hunchback és kis koncentrációban a Bicoid fehérje pedig aktiválja a gént. A serkentő és gátló fehérjék kötőhelyei gyakran átfedik egymást. Ennek alapján feltételezhetjük, hogy a Krüppel és Giant fehérjék gátolják a transzkripciót miközben versengenek a Bicoid és Hunchback fehérjékkel az ugyanahhoz a szakaszhoz va-

ló kötődésért. Minél magasabb a Krüppel és Giant fehérjék koncentrációja annál eredményesebb a kompetíció, ami megakadályozza a Bicoid és a Hunchback stimuláló hatását az *eve* génre. Ezek a fehérjék tehát koncentrációjuktól függő módon, együttesen (*kombinatórikus hatás*) végül is lehetővé teszik azt, hogy az *eve* gén pontosan a Giant és a Krüppel fehérjék koncentráció maximuma közötti régióban található sejtmagvakban és később az ott kialakuló sejtekben aktiválódjon (8.9. ábra).



8.9. ábra. (A) Az *eve* gén 2. sávjában az *eve* expresszióját szabályozó enhancer régió szerkezete a hozzá kötődő transzkripciós faktorokkal együtt ábrázolva. (B) Az *eve* gén 2. sávját szabályozó gének expressziós zónái. Az ábrán 4 gén termékének koncentrációgradiense látható (gi: *giant*, hb: *hunchback*, bcd: *bicoid*, kr: *krüppel*). A + jel aktiváló hatást, a – jel gátlást jelent. (C) A Krüppel és Giant fehérjék hatása az eve 2. sávjának kiterjedésére.

A gén előtti szabályozó régió ilyen moduláris felépítése megmagyarázza azt a nagyon fontos jelenséget is, hogy az egyes gének hogyan képesek reagálni a morfogének koncentrációjára. Az a jellegzetesség, hogy az egyes fehérjéknek több kötőhelye is van egy enhancer régióban és amelyeknek ráadásul változó az affinitása is az adott fehérjéhez megmagyarázza azt a tényt, hogy az összes kötőhely miért csak az adott transzkripciós faktor egy adott koncentrációjánál telítődik. Ezt kiegészíti még a különböző aktiváló és gátló hatású transzkripciós faktorok közötti kompetíció is, mindezek a hatások azt eredményezik, hogy az egyes gének az embriónak csakis egy adott területén aktiválódnak.

Miután az elsődleges *páros szabály* gének expressziós mintázata kialakul a *gap gén*ek termékeinek hatására, ez a mintázat stabilizálódik az egymás közötti kölcsönhatások következtében. Ezt követően az elsődleges *páros szabály* gének termékei létrehozzák a késői, másodlagos páros szabály gének expressziós mintázatát, kialakul az embrióban a tizennégy paraszegmentum. Az egyes paraszegmentumokban található sejtmagvakban az aktív *páros szabály* gének egyedi és csak az arra a szegmentre jellemző kombinációja alakul ki és ezeknek a géneknek a termékei – amelyek szintén transzkripciós faktorok – aktiválják majd a következő csoportba tartozó gének transzkripcióját.

A SZEGMENT POLARITÁS GÉNEK

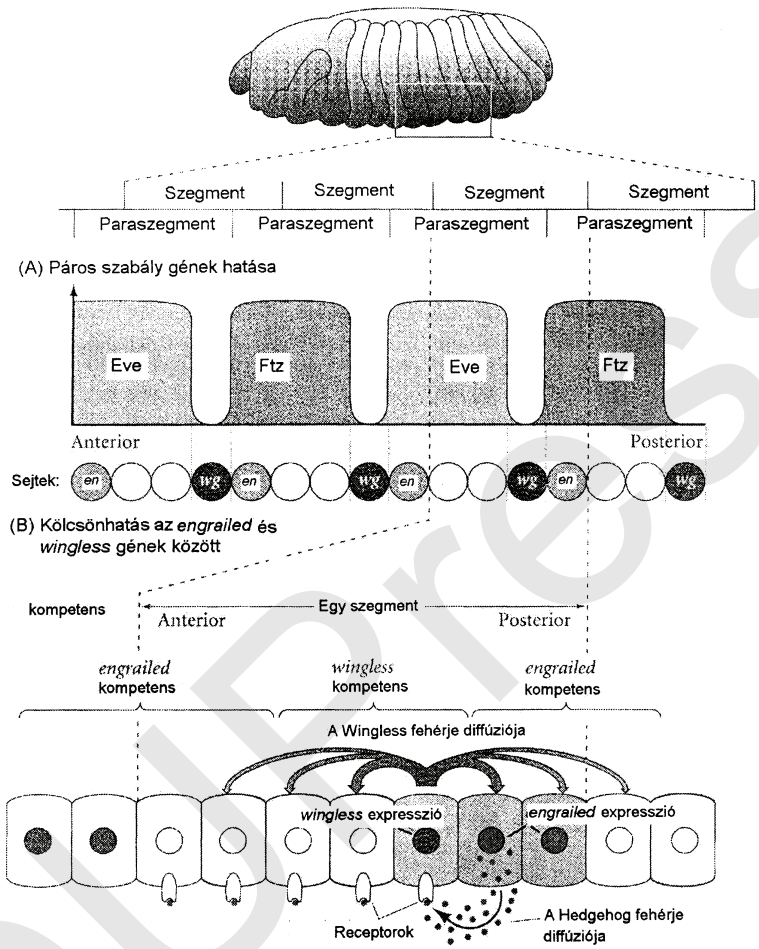
Az eddig megtárgyalt folyamatokra az volt a jellemző, hogy a szinciciális embrióban található szabad sejtmagvak a citoplazmában lévő szabályozó fehérjékkel léptek kölcsönhatásba. Miután kialakul a celluláris blasztula sejtrétege nincs tovább lehetőség az ilyen kölcsönhatásokra. A továbbiakban előtérbe kerülnek a sejtek közötti kölcsönhatások. A sejtek közötti szignalizációt a szegment polaritás gének termékei közvetítik, működésüknek két fontos következménye van. Egyrészt megerősítik a korábban kialakult szelvényezettségi mintázatot, másrészt pedig az egyes paraszegmentumokban belül meghatározzák az egyes sejtek további fejlődési útját. Termékeik kijelölik az egyes paraszegmentumok anterior és poszterior határát is.

A két kulcsgénje ennek a folyamatnak az *engrailed* és a *wingless* gének. Amint az a 8.10. ábrán látható a *wingless* gén azokban a sejtsorokban aktiválódik, amelyekben nincs *eve* vagy *fushi tarazu* expresszió.

A mellettük lévő sejtsorokban valamelyik *páros szabály* gén már aktív, ezekben a sejtekben (és ne feledjük, amelyeknek a szomszédja termel Wingless fehérjét) az *engrailed* gén aktiválódik. Ha egyszer kialakul az egymás melletti sejtekben ez az eltérő génexpressziós mintázat, akkor ezt a későbbiekben fenn is kell tartani, a sejteknek folyamatosan emlékezniük kell hol is vannak az embrióban és hogyan kell tovább differenciálódniuk. Ez természetesen azt jelenti, hogy egyfajta sejtmemóriának kell kialakulnia. Ennek a mechanizmusa ismert. A *wingless* gént expresszáló sejtek kiválasztják a Wingless fehérjét a környezetükbe, ahol az kötődik a szomszédos sejtek felszínén található receptorhoz (koncentráció függő hatás, csak a sejtek közvetlen szomszédságában elegendő a Wingless koncentráció a kötődéshez). A kötődés elindít egy szignalizációs folyamatot, amelynek következtében aktiválódik az *engrailed* gén. Az *engrailed* gént expresszáló sejtek is kiválasztanak egy diffúzibilis fehérjét ami kötődik a szomszédos sejtek felszíni receptoraihoz. A kötődés következménye a *wingless* folyamatos expressziója. Ez az egyszerű szabályozó kör folyamatosan fenntartja a két szomszédos sejt eltérő gén expressziós mintázatát, stabilizálódnak a paraszegmentumok határai. Ezen kívül a sejtekből kiválasztott szabályozó fehérjék szétdiffundálnak és koncentrációtól függő módon befolyásolják a paraszegmentumok bizonyos pontján lévő sejtek további sorsát, differenciálódását. Ennek következtében a paraszegmnetumokat felépítő sejtek elnyerik identitásukat.

A HOMEOTIKUS SZELEKTOR GÉNEK

Ha egyszer kialakultak a paraszegmentumok határai és a sejtek egy komparment elemeivé váltak a paraszegmentumban akkor a következő lépésben a sejtek létrehozzák az adott szegmentre jellemző testrészt, lábat, szárnyat, stb. Azt, hogy a paraszegmentumok kompartmentjeinek sejtjeiből milyen jellegzetes képletek fejlődnek, a ***homeotikus szelektor gének*** határozzák meg. Aktiválásuk egy meghatározott fejlődési útra tereli a sejteket, és folyamatos működésük biztosítja, hogy a sejtek meg is maradjanak a kijelölt fejlődési úton. Az állandó aktivitás a szelektor gének ismertetőjele és magyarázatot ad a sejtek determinációjára.



8.10. ábra. *Az engrailed (en) és wingless (wg) szegment polaritás gének átíródásának szabályozását bemutató modell.* (A) Az *en* és *wg* gének átírását páros szabály gének szabályozzák. A *en* gén azokban a sejtekben aktiválódik, amelyekben vagy az eve vagy a *Ftz* gének aktívak. Ezzel ellentétesen a wg azokban a sejtekben aktív, amelyekben az eve és *Ftz* gének inaktívak. (B) A génaktivitás mintázat fennmaradását sejtek közötti kölcsönhatások stabilizálják.

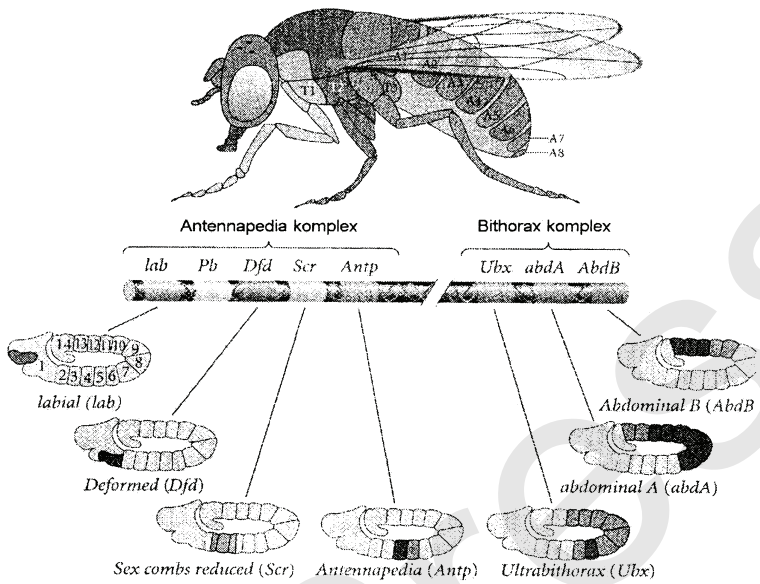
DUPress

A *homeotikus szelektor gének* abban is különböznek az eddig ismertetett génektől, hogy működésük nem szükséges ahhoz, hogy egy adott testtáj kialakuljon. Mutációjuknak nem az a következménye, hogy testtájak hiányoznak az embrióból, hanem az, hogy egy adott testtájon nem a megfelelő szerv fejlődik ki. Az egyik ilyen mutánsban – az *Antennapedia* (*Antp*) mutánsban – például csápok helyett lábak fejlődnek a fejen. Tehát azok a sejtek, amelyek rendesen a csápokat hozzák létre hibásan úgy determinálódtak, hogy lábak keletkezzenek belőlük. Más mutánsokban előfordul, hogy a szemek helyén szárnyak, a szájszervek helyén lábak jelennek meg. Ezeket a mutánsokat *homeotikus* mutánsoknak nevezzük, a ***homeózis*** kifejezés arra utal, hogy egy testtáj elveszítve saját identitását egy másik testtájnak megfelelően fejlődik. Az ilyen drasztikus változásokhoz sok gén aktivitása szükséges, mégis mindegyik esetben csak egyetlen génmutáció történik. Az ellentmondás magyarázata az, hogy a *homeotikus gének* genetikai kapcsolóként működnek, transzkripciós faktorokat kódolnak, amelyek sok más gén működését szabályozzák az embriogenezis folyamán. A *D. melanogaster* nyolc *homeotikus szelektor génnel* rendelkezik, ezek két csoportot alkotnak a 3. kromoszómán. Az első csoport az *Antennapedia komplex* (5 gén), a második pedig az *Bithorax komplex* (3 gén, 8.11. ábra).

A két komplexet kódoló régiót összefoglaló néven *homeotikus komplexnek* (*Hom-C*) nevezik. Érdekes módon ezek a gének expressziós sorrendjüknek megfelelően helyezkednek el a kromoszómán. Azaz, ahogyan haladunk a kromoszóma 3' végétől a 5' vége felé, az egymás után következő gének hatása az anterior vég felől egyre inkább az embrió poszterior vége felé nyilvánul meg. Ezt a furcsa jelenséget kolinearitásnak nevezzük, hogy ennek az elrendeződésnek mi a jelentősége az nem világos, mindenesetre a komplexek génjeinek áthelyezése más kromoszómákra nem befolyásolja működésüket. Hatásuknak megfelelően az egyes gének termékeit az embriónak csak egyes régióiban lehet detektálni (8.11. ábra).

A homeotikus szelektor gének expresszióját a *gap gének* –, a *páros szabály gének* – és a *szegment polaritás gének* termékei szabályozzák. A *homeotikus gének* előtt is tehát a fenti géncsoportok termékeire specifikus, többszörös kötőhellyel is rendelkező enhancer szakaszok találhatóak. Ezek az aktivátor szekvenciák mintegy integrálják az egyes paraszegmnetumok sejtjeiben található szabályozó fehérjék koncentrációi alkotta információt, és ennek megfelelően aktiválódnak a homeotikus gének. Például az *abdA* és *abdB* gének expresszióját (8.11. ábra) gátolják a hunchback és krüppel fehérjék, megakadályozva ezzel azt, hogy a potrohra jellemző struktúrák a fejen, vagy a toron fejlődjenek ki. A *homeotikus gének* expressziójának pontos határait egyrészt a *szegment polaritás gén*ek termékei szabják meg, másrészt az egyes *homeotikus gének* átíródását gátolják a tőlük poszterior régiókban működő más *homeotikus gének* termékei is (episztatikus gén kölcsönhatások). Mint tudjuk a *gap* –, a *páros szabály* – és a *szegment polaritás* gének termékei csak tranziensen vannak jelen a sejtekben, a homeotikus gének expressziós mintázatát – és ezzel az egyes testrészek identitását – azonban véglegessé kell tenni. A *homeotikus gének* aktivitását végül majd a kromatin konformációjának megfelelő kialakítása teszi stabillá.

ELTE PRESS



8.11. ábra. *A homeotikus gének expresszója Drosophilában.* Középen a bithorax és Antennapedia komplex génjei láthatóak. A géntérkép alatt és fölött az állat testének azon régiói láthatóak, amelyekben expresszóra kerül egy-egy adott gén (sötét terület).

Alul a blasztoderma stádiumban lévő embrióban ábrázoljuk a gén expressziót, felül látható, hogy a kifejlett állat mely struktúrái fejlődnek ki az embrió egyes régióiból.

A *homeotikus szelektor gének* termékei DNS-kötő doménnel rendelkező transzkripciós faktorok. Ha összehasonlítjuk ezeknek a géneknek a bázis sorrendjét, akkor azonnal észrevehető, hogy mindegyik gén rendelkezik egy 60 aminosavat kódoló 180 bázispárnyi hosszúságú szakasszal, amelyik egy helix-turn-helix típusú DNS-kötő motívumot kódol. A gének ezen szakaszai nagy hasonlóságot mutatnak egymással, ún. homológ szekvenciák. A génekben ezt a homológ 180 bázispárnyi szakaszt ***homeobox***-nak nevezzük, az általuk kódolt 60 aminosavnyi DNS-kötő motívumot pedig ***homeodomén***-nek. A *homeotikus szelektor gének* termékei tehát transzkripciós faktorok, amelyeknek célpontjai gyakran maguk is újabb transzkripciós faktorokat kódoló gének, így potenciális befolyásuk van számos más gén működésére. A szelektor gének tehát egy génaktivációs kaszkád csúcsán találhatóak, az általuk szabályozott gének – a *realizátor gének* – működése végül is különböző testrészek kialakulását eredményezik. Egy adott géncsoport aktiválódása a kompartmentet további részekre tagolja, amelyek ezáltal képessé válnak a megfelelő testrész kialakítására. A *homeotikus szelektor gének* termékei azonban gyakran nem egyedül, hanem más fehérjékhez kapcsolódva válnak képessé az egyes szegmentekben található sejtek sorsának meghatározására.

PURPOSS

A *Drosophila* fejlődésgenetikájában megismertek közül fel kell idézzük azokat a legfontosabb megállapításokat, amelyek minden bizonnyal bármilyen más, az itt szerepelt muslicánál magasabb fejlettségi szintet elérő állati szervezetre is igazak. A gének funkciójuk szerint hierarchikus sorba állíthatók. Működésük időrendje alakítja ki az egyszerűbbtől a bonyolultig vezető differenciálódási sorokat. A hierarchia magasabb szintjein állók szabályozzák az alacsonyabb rendbe sorolhatókat. Ugyanakkor ez utóbbiak egyrészt visszahatnak a magasabb osztályban szereplők működésére, másrészt azokkal és főleg az azonos hierarchikus szintbe tartozókkal kombinatórikus logikai rend szerinti kölcsönhatások részleteikben mindmáig felderítetlen bonyolult szabályozó köreit hozzák létre. Ez jelenthet egyirányú vagy kölcsönös aktiválást, gátlást, a pozitív és negatív visszacsatolások általában nem két, hanem majdnem mindig több gén szintjén realizálódó rendszerét. Mindezek térben elkülönülve, és különböző testtájakon eltérően lejátszódó folyamatokat is jelentenek. Tehát rendkívül elhibázott és primitív lenne úgy szemlélni az egyedfejlődés lépéseinek génikus szabályozását, hogy egy gén „bekapcsol" egy másikat, ez a harmadikat, miközben „kikapcsolja" az elsőt, és így tovább. Minden egyes determináló lépés különböző eredetű szignálok konvergenciája révén következik be, és maga is számos egyéb kritikus lépést befolyásol, nagy tér- és időbeli változatossággal. Ha ennek a rendnek akár a tér-, akár pedig az időbeliségét megzavarja valami, ami nemcsak a rendszer valamelyik gén-szereplőjének a mutációja lehet, hanem külső környezeti hatás is, ami pl. meglevő fehérjék funkcióját befolyásolja, függeszti fel, stb. (fenokópiát eredményezhet, teratogén [= különféle fejlődési rendellenességet létrehozó] lehet), akkor az ontogenezis leállása, torzképződés, vagy legalábbis olyan fejlődési rendellenesség fellépése lehet az eredménye, ami az egészséges élettel összeegyeztethetetlen.

Az embrionális fejlődés korai szakaszának szabályozása emlősökben

Az állati embrió fejlődése során a legelső megoldandó feladat annak a meghatározása, hogy hol legyen az állat feji és farki része, azaz az antero-posterior tengely kialakítása. Mint láttuk a Drosophila embrióban az A/P tengely kialakításáért az a molekuláris aszimmetria a felelős, ami a petesejt kialakulása során jön létre az anya szervezetében.

A gerinces embriók fejlődése során az A/P tengely kialakulásáért az embrió egy specifikus része – a megtermékenyítés után az embrió egyik oldalán kialakuló ú.n. organizátor - a felelős. Az organizátor termékei okozzák például a béka embrióban az embrió

PUFFER

felszínén létrejövő ektoderma velőlemezzé differenciálódását és abban az antero-posterior tengely menti mintázat kialakulását.

Emlős embriók esetében azonban kissé más a helyzet. Mivel az emlős embrió az anya szervezetén belül fejlődik ki, elsődleges fontosságú azoknak a képleteknek a kialakítása, amelyek majd segítik az embrió beágyazódását a méh falába és lehetővé teszik annak táplálását. Mire az egér embrióban felismerhetővé válik az A/P mintázat kialakulása, az embrió már több mint egy hetes. Ebben a stádiumban az embrió már stabilan beágyazódott a méhbe és számos extra-embrionális képlettel rendelkezik. Ezek körbezárják azt az egyrétegű epitéliumot - az epiblastot – amiből kifejlődik az embrió.

A legújabb kutatások azonban kicsit megváltoztatták elképzeléseinket az emlős embrió antero-posterior mintázatának kialakulásáról. Úgy tűnik, hogy az A/P aszimmetria elsőként az extra-embrionális viscerális endodermában alakul ki és nem az embrióban. Rögtön a méh falába való implantációt követően a viscerális endoderma egy disztális elhelyezkedésű kis sejtcsoportjában aktiválódik homeobox génekkel homológ *Hex* gén. Ezeknek a sejteknek érdekes módon csak anterior helyzetű utódsejtjei keletkeznek, ezért a *Hex* expresszió helye megváltozik, ezután már csak az embrió egyik oldalán lesz kimutatható. A *Hex* gén terméke aztán természetesen újabb gének expresszióját szabályozza, amelyek szükségesek az A/P mintázat kialakulásához. Eddigi feltételezéseinktől eltérően az extra-embrionális szövetek nem csupán az embrió táplálásához szükségesek, hanem a viscerális endodermában aktiválódó specifikus gének – a *Hex* mellett pl. a *nodal* és az *Otx2* gének is – termékei szükségesek az embrió normális differenciálódásának szabályozásához.

Ezek az eredmények arra utalnak tehát, hogy az emlős embrió fejlődésében fontos szabályozó szerepet játszanak az extra-embrionális szövetek és az epiblaszt sejtjei közötti molekuláris kölcsönhatások.

HOMEOTIKUS GÉNEK A MAGASABBRENDŰEKBEN

Molekuláris genetikai módszerekkel ma már könnyűszerrel megvizsgálható az, hogy bizonyos DNS szekvenciák megtalálhatóak-e az élőlények genomjában. A ***homeobox*** szekvenciájának megismerését követően néhány év leforgása alatt kiderült, hogy homológ szekvenciát tartalmazó gének minden megvizsgált soksejtű állat és természetesen az ember genomjában is megtalálhatóak. A ***homeobox***ra és az általa kódolt ***homeodomén***re nagyfokú evolúciós konzervatizmus jellemző, azaz a legkülönbözőbb fejlődési fokot képviselő fajokban az adott szakasz aminosav sorrendje nagyon hasonló. (Ismert olyan emberi és *Drosophila* homeodomén homológ, amelyek között egyetlen aminosav differencia van, jóllehet a *H. sapiens* evolúciója mintegy 500-600 millió évvel ezelőtt vált hatott el a *D. melanogaster*étől!) Nyilvánvalóan ezek a gének olyan fontos

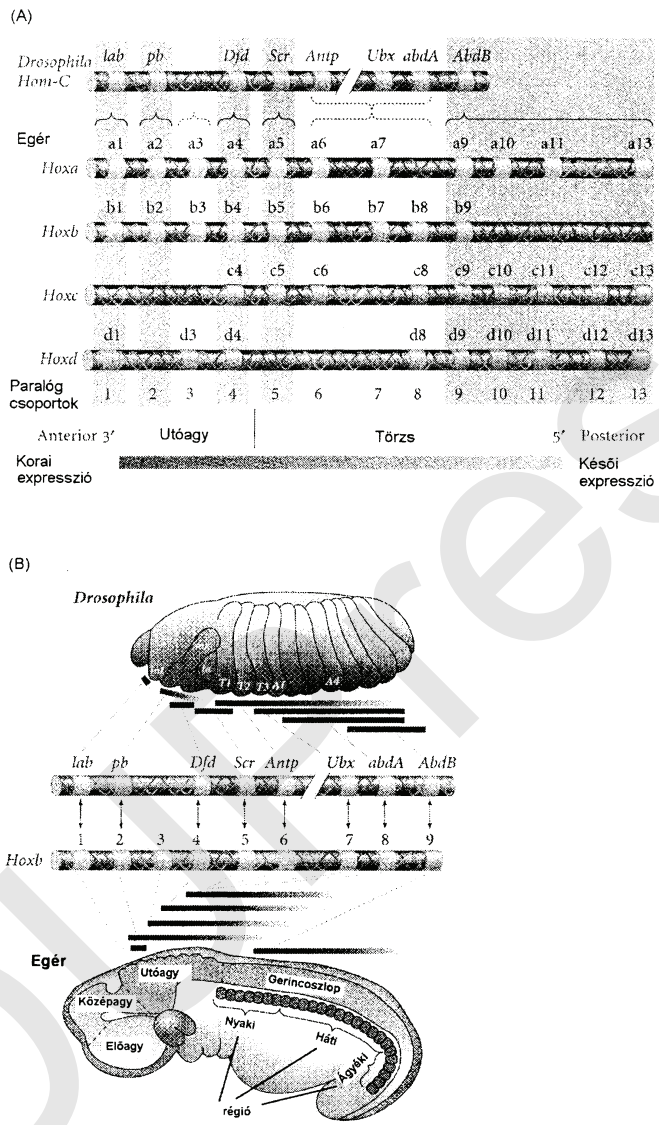
génszabályozó szerepet töltenek be az egyedfejlődés szabályozásában, ami változatlan formájú fennmaradásukat igényelte a törzsfejlődés folyamán.

Minden gerinctelen állat haploid genomonként egy homeotikus gén komplex-szel rendelkezik. (A szivacsokban egy-két homeotikus gén alkotja a komplexet.) Mire az evolúció során megjelentek a gerincesek, már haploid genomonként legalább négy homeotikus komplex jött létre ezek genomjában. Az egér és az ember genomjában 39 gén található a négy különböző kromoszómán elhelyezkedő homeotikus gén csoportban, amelyeket ***Hox/HOX gének***nek nevezünk az emlősök/ember genomjában (*Hoxa, Hoxb, Hoxc, Hoxd* komplexek). Az állatok közötti evolúciós kapcsolat egyik legfantasztikusabb bizonyítéka a *Hox* gének létezése. Nemcsak a gének mutatnak erős homológiát, hanem a komplexeken belül a gének sorrendje, és a gének expressziós mintázata is! (8.12. ábra.)

A kromoszóma 3' végén található gének az embrió anterior végén, az 5' vég felé eső gének pedig egyre inkább a poszterior vég felé aktiválódnak. (Sőt, a humán *HOXB4* gén tökéletesen helyettesíti a *Drosophila deformed* homeotikus génjét a *deformed* deficiens mutánsokban!) A 8.12. ábrán látható, hogy a *Drosophila Hom-C* komplex génjei és az egér *Hox* gének között azonosíthatóak a homológ gének (az azonos elrendeződésű homológ gének csoportját *paralóg csoport*nak nevezünk), de nem teljes a homológia, a magasabbrendűekben egy-egy csoporton belül is több gén található mint a *Hom-C* komplexben.

Ezek valószínűleg független génduplikációk során keletkeztek. Az emlősök genomjában található négy teljes *Hox* komplex kialakulását pedig kromoszóma duplikációkkal lehet megmagyarázni. Az is igaz, hogy az alacsonyabbrendűekben vannak olyan gének amelyeknek nincsen homológja a magasabbrendűekben (evolúciós szempontból fontos lehet egyes gének eltűnése).

Természetesen nem csak a gének bázissorrendje hasonló, hanem az élőlényekben betöltött szerepük is. Minden vizsgált gerinces embrióban a *Hox* gének a gasztrulációt követően aktiválódnak. Az egér embrióban a *Hox* gének az embrió antero-poszterior tengelye mentén a dorzális régiókban aktiválódnak, az utóagy anterior határától kezdődően a farok felé. A különböző testtájak sejtjeiben a *Hox* gének eltérő kombinációi aktívak és csakúgy, mint a *Drosophila*ban ezek az eltérő kombinációk felelősek a testtájak identitásának meghatározásáért. (Egy érdekes különbség, míg a *Drosophila* esetében a *homeotikus szelektor gének* nagyjából egyidőben, egyszerre aktiválódnak, addig emlősökben időrendbeli különbség is van az egyes *Hox* gének aktiválódásában!) Knock-out egér mutánsokban lehetséges tanulmányozni a *Hox* gének szerepét az emlős embriogenezis szabályozásában. Csak egy példa ilyen mutánsra, a *Hoxa-3* gén homozigóta mutáns genotípusa letális, az elpusztult állatok vizsgálatából kiderült, hogy a nyakcsigolyák fejlődése abnormális, valamint hiányzott a thymus, a pajzsmirigy és a mellékpajzsmirigy is ezekből a mutánsokból, de szív és a nagy erek fejlődési rendellenessége is része volt a letális fenotípusnak. Valószínűleg a *Hoxa-3* gén a craniális velőlemez sejtjeinek differenciálódását szabályozza. De *Hox* gének szabályozzák a törzsváz, a szomiták, a központi idegrendszer egyes részeinek (pl. rhombencephalon) és a végtagok differenciálódását is.



8.12. ábra. *Homeotikus gének Drosophilában és emlősökben.* (A) A Drosophila Hom-C csoport és az egér genom 4 Hox géncsoportja. (B) A Hom-C és a Hoxb csoportok génjének expressziós mintázatai. A Drosophila lárva alatti és az egér embrió fölötti vastag vonalak jelzik az állat testének azokat a régióit, amelyekben egy adott gén expresszióra kerül.

Dupress

Bizonyos atavizmusok magyarázatára is alkalmas a homeotikus gének mutációja, vagy működésének zavara. Ilyen atavizmus emberben pl. a fülkagyló mozgatásának képessége. A kettő helyett, ami főemlős sajátosság, többszörös emlőbimbó olyan rendellenesség, ami kifejezetten zavarja hordozóját. Bizonyos fejlődési rendellenességek ugyanebben a körben már kifejezetten hátrányos tünetekkel járnak: a kétszarvú méh (*uterus bicornis*) ronthatja a teherbeesés, mindenekelőtt pedig a terhesség normális kiviselésének esélyeit, a szív szeptum-defektusai (a négyüregűvé válás tökéletes befejezésének elmaradása) pedig rendkívül súlyos, sokszor életveszélyt okozó anatómiai rendellenességek. (A gerinces evolúcióban ismerjük a kettőtől a négyüregűvé válásig terjedő szívfejlődési sort.)

Csak az emlősökben találták meg a homeoboxoknak azt a változatát, amelyet az *oct* névvel illetnek. Az általuk kódolt aminosavsorrendben nem 60, hanem az ennek a szakasznak megfelelő helyen csak 21 aminosavnyi a homológia az ebbe a családba tartozó más fehérjékkel. (Az ***oct fehérjék*** megjelölése onnan származik, hogy egy rendkívül konzervatív oktamer szakaszhoz kötődnek a DNS-en, amit majdnem minden emlős gén közelében megtaláltak.) Az említetteken kívül újabban egyéb homológiákat is felfedeztek a magasabbrendűekben az először a *Drosophila*ban leírt, egyedfejlődést szabályozó génekkel[7].

Hox GÉN MUTÁCIÓ EMBEREN

Emberen előforduló öröklődő rendellenesség a *hand-foot-genital* (HFG) szindróma. A 8.13. ábra ennek végtag-tüneteit mutatja be. A 8.14. ábrán látható családfa tanúsága szerint az elváltozás domináns öröklődésmenetet mutat és mindkét nembeli egyének érintettek. Molekuláris genetikai vizsgálati módszerekkel megállapítható volt, hogy a szindróma kifejlődéséért a *Hox A* 13-as gén lokuszán előforduló mutáció felelős. A lokuszon 7 különböző allélt találtak, melyek közül a 6. számmal jelölt allél felelős a HFG szindrómáért (***multiplex allélia!)***. A 8.15. ábra mutatja, hogy a mutáció a homeobox fehérje (16.19. ábra) 3. α-helikális régióját kódoló DNS szekvenciában létrejött pontmutáció; a triptofán tripletjében a 3. pozícióban lévő guanin adeninre cserélődött, egy TGA triplet keletkezett, mely stop kodont juttat az mRNS láncába. Ezért a 6. allél terméke 20 aminosavval rövidebb lesz, DNS-kötő képessége csökken, ez felelős a kóros tünetek megjelenéséért.

---

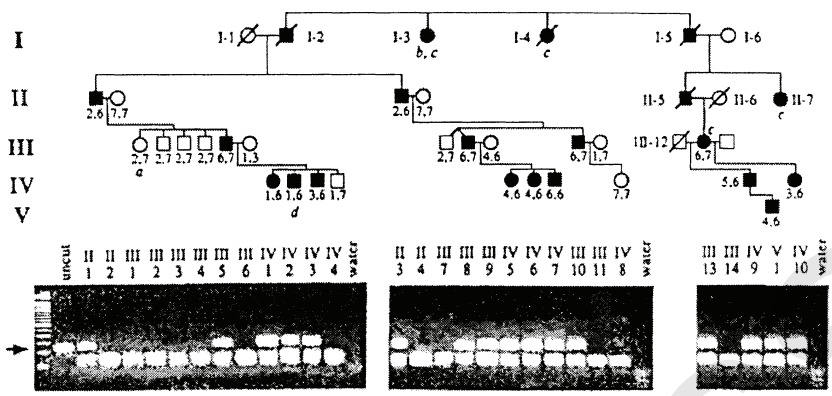
[7] A *D. melanogaster* egyes *gap* génjei által meghatározott cink-ujj-fehérjék rendkívül hasonlítanak a magasabbrendűekben megismert cink-ujj fehérjékhez. Bizonyos *pair-rule* gének ún. *paired box*-ainak a homológjai megvannak az egérben, ahol a csigolyaoszlop fejlődéséért felelősek (azaz végső soron ott is szegmentációért).

8.13. ábra. *Hand-foot-genital (HFG) szindróma.* Látható az ujjak – különösen a hüvelyk, ill. a láb öregujjainak – rendellenes fejlődése mind a kézen mind a lábon. Felül: a 8.14. ábra családfáján V-1-el jelölt beteg lábai. Középen és alul: a IV-3 beteg lábai és kezei. A végtag rendellenességek mellett nőkön jellegzetes a kétszarvú, vagy kettőzött méh jelenléte, férfiakon pedig a *hypospadiasis* (a húgycső kivezető nyílása a penis alsó felszínére tolódik). A hibás allél esetében tehát jellegzetes ***pleiotróp*** génhatással állunk szemben.

A testi tünetek vizsgálatán túl a diagnózis molekuláris szintű alátámasztását az ***RFLP módszer*** biztosítja (l.18. fejezet). A páciensek DNS mintáiból homeobox szekvenciák alapján szintetizált ***primer-pár*** segítségével egy 249 bp hosszú fragmentumot amplifikálnak ***PCR***-rel. Az amplifikált fragmentumokat *NIa*IV restrikciós endonukleázzal emésztik. A tünetmentes egyénekben található alléleket az enzim hasítja, a mutáns 6. allélt viszont nem (8.14. ábra).

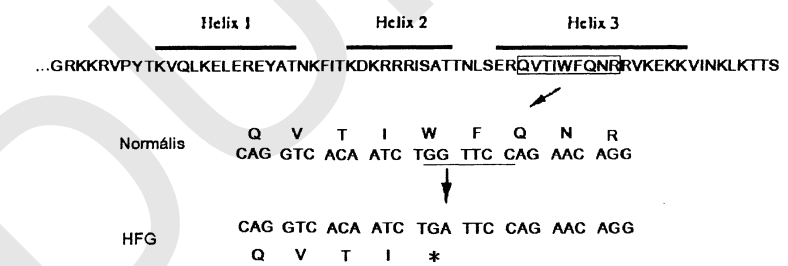
Az elektroforézis eredményei egyértelműen mutatják, hogy a tünetmentes egyének mintáiban a hasítás után csak két rövid fragmentum van jelen (110 és 139 bp, melyek egy vastag csíkba összeolvadva látszanak). A jelleghordozóknál viszont, akikben a 6. allél jelen van megtalálható a hasítatlan 249 bp hosszú fragmentum (természetszerűen a rövidebb fragmentumokkal együtt, mivel a páciensek heterozigóták).

DUPLASS



8.14. ábra. *Hox A 13. gén mutációjának (hand-foot-genital szindróma) öröklődése egy családban.* A ferdén áthúzott szimbólumok elhalt személyeket jelölnek. A szimbólumoktól balra álló számok a családtagok sorszámai a generációkon belül (nem mindenütt vannak feltüntetve). A szimbólumok alatti számok mutatják, hogy az egyes személyek hányas számú Hox A 13 allélt hordozzák.

Alul a családtagok DNS mintáiból PCR-rel amplifikált fragmentum NIaIV hasítása után elvégzett elektroforézis eredménye látható. Balról az első minta molekulaméret-marker: a leggyorsabban vándorló csík 100 bp, fölötte lévő 200 bp hosszú. Az "*uncut*" mintát az enzimmel nem hasították. A "*water*" jelű pályák a templát DNS nélküli kontroll PCR reakció eredményeit mutatják. A gél pályák fölött a családtagok generáción belüli sorszámai láthatók. (Vegyük észre, hogy a gél-pályák legtöbb esetben az illető családtag szimbóluma alatt találhatók. A III/9 személy leletei eltérnek a várttól, az elektroforézis tanúsága szerint ő hordozza a 6. mutációt, de klinikailag tünetmentes. Ennek a gén 100%-nál kisebb penetranciája lehet az oka.)



8.15. ábra. *Normális és mutáns Hox A 13. gén homeoboxának részleges DNS szekvenciája.* Felül a fehérje homeodoménjének aminosav-sorrendjét látjuk (egybetűs jelölési forma) a 3 α-helikális régió helyének megjelölésével. Az aláhúzott hexanukleotid az *Nla*IV enzim felismerőhelye. Alul egy normális és a mutáns allél bekeretezett részletéhez tartozó nukleotid sorrend található. A normális allél triptofán TGG tripletje TGA-ra változik, s a restrikciós hasítóhely is megszűnik.

DUPLICATE

Összefoglalásképpen a *Drosophila* fejlődésgenetikájában megismertek közül fel kell idézzük azokat a legfontosabb megállapításokat, amelyek minden bizonnyal bármilyen más, az itt szerepelt muslicánál magasabb fejlettségi szintet elérő állati szervezetre is igazak. A gének funkciójuk szerint hierarchikus sorba állíthatók. Működésük időrendje alakítja ki az egyszerűbbtől a bonyolultig vezető differenciálódási sorokat. A hierarchia magasabb szintjein állók szabályozzák az alacsonyabb rendbe sorolhatókat. Ugyanakkor ez utóbbiak egyrészt visszahatnak a magasabb osztályban szereplők működésére, másrészt azokkal és főleg az azonos hierarchikus szintbe tartozókkal kombinatórikus logikai rend szerinti kölcsönhatások részleteikben mindmáig felderítetlen bonyolult szabályozó köreit hozzák létre. Ez jelenthet egyirányú vagy kölcsönös aktiválást, gátlást, a pozitív és negatív visszacsatolások általában nem két, hanem majdnem mindig több gén szintjén realizálódó rendszerét. Mindezek térben elkülönülve, és különböző testtájakon eltérően lejátszódó folyamatokat is jelentenek. Tehát rendkívül elhibázott és primitív lenne úgy szemlélni az egyedfejlődés lépéseinek génikus szabályozását, hogy egy gén „bekapcsol" egy másikat, ez a harmadikat, miközben „kikapcsolja" az elsőt, és így tovább. Minden egyes determináló lépés különböző eredetű szignálok konvergenciája révén következik be, és maga is számos egyéb kritikus lépést befolyásol, nagy tér- és időbeli változatossággal. Ha ennek a rendnek akár a tér-, akár pedig az időbeliségét megzavarja valami, ami nemcsak a rendszer valamelyik gén-szereplőjének a mutációja lehet, hanem külső környezeti hatás is, ami pl. meglevő fehérjék funkcióját befolyásolja, függeszti fel, stb. (fenokópiát eredményezhet, teratogén [= különféle fejlődési rendellenességet létrehozó] lehet), akkor az ontogenezis leállása, torzképződés, vagy legalábbis olyan fejlődési rendellenesség fellépése lehet az eredménye, ami az egészséges élettel összeegyeztethetetlen.

Jellemzője még a differenciálódási folyamatnak, hogy az azt szabályzó gének termékei nagyrészt transzkripciós faktorok, amelyek koncentráció gradienst hoznak létre az embrióban. Az embrió különböző részein lévő sejtek sejtmagjai a transzkripciós faktorok által kialakított gradiensekre génbekapcsolással vagy génkikapcsolással válaszolnak. A specifikus géncsoportok aktiválódásának eredményeként a sejtek meghatározott fejlődési útra lépnek. Ahogyan egyre több és több gén kapcsolódik be, a szövet determinációja is egyre specifikusabbá válik.

Hosszú ideig megválaszolatlan kérdés volt, hogy az emlősök egyedfejlődésében milyen szerepet játszanak a szülői gének. Olyan típusú anyai hatásról, mint ami a dajkasejtek révén valósul meg a muslicában, nyilvánvalóan nem lehet szó. Míg gerinctelenekben ismert a szűznemzés (*parthenogenesis*), azaz egy egyed megtermékenyítetlen petesejtből való kifejlődése, alacsonyabbrendű gerincesekben ez kivétel, emlősökben pedig nem fordul elő. Az emlős embriófejlődéshez mind a két szülői genom szükséges, ezek úgy tetszik funkcionálisan nem egyenértékűek, szükségképpen az egyik hiánya nem pótolható a

másik kétszeres dózisával[8]. Emberi üszögterhességben (*mola hydatidosa*) nincs embriófejlődés, helyette extraembrionális szövetből álló abnormális (az anya egészségét komolyan veszélyeztető) sejtcsomó található a méh üregében. Erről megállapították, hogy a sejtek kromoszómái kizárólag apai eredetűek (valószínűleg úgy keletkezhet, hogy a petesejtben nincs pronucleus, az apai viszont megkettőződik a fertilizáció után, l. 11. és 16. fejezet)

Annak magyarázata, hogy miért nem helyettesíthetők az egy anyai és egy apai kromoszómából álló homológ párok két-két anyai, vagy két-két apai kromoszómával, részleteiben még nem eléggé ismert. Az kimutatható, hogy bizonyos gének, géncsoportok a spemiogenezis során, más gének, géncsoportok a petesejt érése során inaktiválódnak. Az inaktivált állapot a zigóta és a belőle fejlődő egyed sejtosztódásai során megmarad, az utódsejtek öröklik. A jelenséget „*imprinting*"-nek (bevésés) nevezzük. Az inaktivált gének csak az újabb ivarsejtképzéskor szabadulnak meg a gátlást programozó jeltől. A spermiumban és a petesejtben más-más gének, géncsoportok szabályozó DNS-szakaszain mutatható ki metiláció, ami a sejtosztódások során öröklődik úgy, hogy a szemikonzervatív replikációban keletkező új szál metilációja követi a templát mintázatát. A metilációról kimutatták, hogy gátolja a transzkripció indítását és kedvez a heterokromatinná kondenzálódásnak (l. a 11. és 16. fejezetekben is). Hogy az imprintingben mekkora szerepet játszik a DNS-metiláció, és milyen mértékben működnek közre más mechanizmusok is, nem tisztázott.

Rendkívül sok ismerettel gazdagította a fejlődésgenetikát a transzgén állatok létrehozásának technikája, egyes gének „célzott elrontása", stb. Erről az eljárásról az emlős sejtekbe való génbevitelről írott fejezetben szólunk részletesebben.

Az utóbbi évek kutatásai mutattak rá arra, hogy az egyedfejlődésben úgy tűnik, igen sok fajban nem csak a sejtek meghatározott irányú elkötelezettségének kialakulása és az így létrejövő szöveti és szervi specializácó adja az általunk megszületéskor látott végeredményt, hanem bizonyos sejtek megfelelő helyen és időben való programozott, génikusan determinált, fiziológiás elhalása is. Ezt a jelenséget ***apoptózis***nak nevezik, és nem csak az egyedfejlődésben, hanem egész életünk során jelentős szereppel bír. (Manapság vizsgálják pl. elmaradásának esetleges oki szerepét bizonyos tumorok kialakulásában, ill. célzottan indukált kiváltásától remélnek eredményeket egyes daganatok gyógyításában.)

---

[8] Egér zigóták manipulációjával létrehozható volt olyan diploid kromoszóma garnitúra, amelyben vagy csak az anyai, vagy csak az apai haploid genom volt meg két példányban. A csak nőstény eredetű embriónak nem fejlődtek ki az extraembrionális függelékei, a csak hím eredetű mesterséges zigótából pedig elégtelen embriófejlődés indult el. Mindkét eset közös végeredménye: magzat nem alakult ki.

Veleszületett fejlődési rendellenességek

Ezek irodalma óriási. Az ilyen kórállapot-féleségek száma sajnálatosan eléggé magas. Születéskori prevalenciájuk nagysága miatt, valamint a szülőket, a rendellenességben szenvedőket és a társadalmat egyaránt sújtó jellegük okán is érthető, hogy megkülönböztetett figyelemben részesülnek. Mind a testi, mind a mentális retardációnak, nemkülönben ezek kombinálódásának sok kórformája ismert. Ezek egyrészt jól azonosított entitásokba oszthatók (*dongaláb, nyúlajak és/vagy farkastorok, pylorus stenosis, csípőízületi hipoplázia* [ami majd manifeszt csípőficamhoz vezethet], velőcsőzáródási rendellenességek [angolul: *neural tube defects*], amilyen a *spina bifida, anencephalia* stb., hogy csak néhány ismertebbet emeljünk ki e helyen), másrészt lehetnek rendkívül bizarrak, „eddig soha senkiben nem látott" megjelenésűek. Az egyedfejlődés lépéseinek bonyolultsága és ugyanakkor precíz összehangoltságának az igénye kézenfekvő magyarázatot ad létrejöttükre: bármi zavarja is meg ennek a sokszorosan összetett rendszernek a harmóniáját, az kóros végeredményhez vezethet, ide értve egy szükséges lépés „egyszerű" késlekedését is.

E jegyzetben külön tárgyaljuk bizonyos kromoszómarendellenességek fejlődésgenetikai következményeinek egyes ismertebb példáit. Itt is fel kell azonban hívnunk a figyelmet ezen összefüggések fontosságára.

A fent megnevezett kórformákat ma általában a multifaktoriális meghatározottságú rendellenességek között tartják számon, az érintett szerv(ek) fejlődését irányító poligénes rendszer (l. 9. fejezet) megzavarása révén. (Ennek oka lehet mutáció, de lehet külső noxa [ártalom] is. Ez utóbbi vonatkozásban ne feledjük: az anyai szervezet egésze, ill. abból a magzatba átjutó anyagok úgyszintén külső tényezők a fejlődő egyed számára [l. az 5. lábjegyzetben, ebben a fejezetben]). Ismeretesek azonban egyértelműen monolokuszos öröklődésűnek bizonyuló veleszületett fejlődési rendellenességek is. (Ezek konkrét magyarázata általában hiányzik.) Ugyanakkor láthattuk a *Drosophila* fejlődésgenetikájába adott rövid betekintésben, hogy hierarchikus rendben elhelyezkedő különböző génosztályok játszanak szerepet, és egy osztály egyetlen tagjának mutációja is, akár funkcióvesztéses, akár funkcionyeréses formában, súlyos rendellenességet hozhat létre (antenna helyett láb, „púpos" vagy „nyomorék" fenotípus, stb.). Joggal tételezhető fel egyúttal a poligénes rendszer működésének megzavarása is, akár annak egy nagyobb hatású (pl. homeotikus gén) lokuszán bekövetkezett mutáció, akár pedig génkölcsönhatások révén, ide értve pl. valamely metabolit hiányát vagy ellenkezőleg, valamely köztitermék kóros felhalmozódását ill. patológiás végtermék keletkezését csakúgy, mint a szabályozó gének rendszerének diszharmóniáját.) Említettük már a fenokópiákat: külső ágensek hatásai képesek utánozni egyes génikus defektek fenotípusos következményeit (vélhetően valamilyen gén hatásának a megzavarásával, ide értve a genotípustól a fenotípusig vezető út valamelyik késői [utolsó] lépését is).

A nemi fejlődés

Bizonyos vonatkozásaiban többet tudunk a szexuális fejlődésről, mint a humán fejlődésgenetika egyéb területeiről, így indokolt ennek a kérdéskörnek elkülönített tárgyalása. Annál is inkább így van ez, mivel kétneműségünk egyben a genetika realizálása is: az utód egyedfejlődése mindig két különnemű személy ivarsejtjeinek egyesüléséből indul ki. A keletkezett zigóta vagy a hím vagy a női differenciálódás útját járja be, jelentős, vagy legalábbis a közvélekedés által erősen számon tartott, morfológiai és egyéb különbségeket eredményezve. Ugyanakkor a szív, máj, stb. fejlődése mindkét nemben hasonló sémákat követ.

Az ivaros szaporodás általános biológiai és evolúciós jelentőségének megtárgyalása nem ennek a fejezetnek a feladata. El kell tekintenünk annak a nagyon fontos kérdésnek részletesebb megvizsgálásától is, ami a tenyésztett háziállatok gazdaságosságának nemtől függő voltára vonatkozik. (Tejéért tartott szarvasmarha, vagy tojásfarmon nevelt baromfiállomány lényegesen nagyobb hányada kell nőivarú legyen.) Nem tartozik ide annak taglalása sem, hogy a szexualitásnak milyen jelentősége van napjainkban és volt a távoli múltban is az emberi civilizációban. (Csak utalásszerűen: beavatási szertartások, a házasságkötés ceremóniái, termékenységi rítusok; politeista vallások férfi és női, ill. hermafrodita istenségei[9]; a női és férfi szerepek, magatartásminták elkülönítése a társadalmi közgondolkodásban és az ezeknek való megfelelés késztetésének kialakítása a nevelés során stb.) A nemi fejlődés és érés esetleges zavarai, rendellenességei komoly gondot okoznak nemcsak az érintett egyénnek, hanem szüleinek (és közelebbi környezetének) is.

A nemi kétalakúságnak a növényvilágban megjelenő formái említésétől eltekintünk. Az állatvilágban ez már az evolúciós törzsfán olyan alacsony helyet elfoglaló fajokban észlelhető, amelyeknél fejtettebbekben is megfigyelhető még hímnősség. Kialakulásának meghatározásában többféle mechanizmus szerepelhet: lehet egyértelműen génikusan determinált, de ismert környezettől (pl. hőmérséklettől vagy a populáció aktuális nemi arányaitól) függő nemi fejlődés, sőt nemváltás, nemcsak alacsonyabbrendűekben, de gerincesekben is. (Az említettekre példákat a halak, hüllők és madarak körében is találunk.) Sejttanilag emlősökben mindig a női a homogamétás nem, a hímek jelentik a heterogamétás formát: a petesejtek kromoszómakészlete egyféle, míg a hímivarsejteknek kétféle (X, ill. Y kromoszómát hordozó) változata van. Madarakban ez fordítva jelenik meg: a

---

[9] Hermaphroditos a görög mitológiai intersex Hermesnek (a kereskedelem és a tolvajok istenének) és Aphroditének (a szerelem istennőjének) volt a gyermeke. Benne harmónikusan egyesült a női és férfiúi jelleg. Nevéből származik az interszex egyedeknek a ma is sok nyelvben használatos ***hermafrodita*** elnevezése.

kakasoknak azonos (ZZ), míg a tyúkoknak eltérő (ZW) nemi kromoszómái vannak. Az emlős X kromoszóma génállományát tekintve rendkívül konzervatívnak bizonyult az evolúcióban.

Az ember nemi differenciálódásának egymásra épülő és egymást időben követő, a megelőzőt feltételező szintjeit a következők szerint osztályozhatjuk:

kromoszomális nem

gonadális nem

genitális nem

másodlagos nemi jellegek

pszichoszomatikus nem

KROMOSZOMÁLIS NEM

A megtermékenyülés pillanatában dől el: ha X-et hordozó spermium egyesül a petesejttel 46,XX kariotípusú, azaz nőnemű, míg Y-t tartalmazó spermium általi megtermékenyítés révén 46,XY kromoszómaképletű, hímnemű zigóta keletkezik (8.16. ábra). Az egyedfejlődés első 7 hetében ez a különbség még nem realizálódik, a differenciálatlan gonádtelep mindkét nemben teljesen egyforma. Ugyanakkor kialakul mind a Wolff-, mind pedig a Müller-cső. Megjelenése után kezdetben a külső nemiszervek telepe is egyforma (8.16. ábra). Azaz a már észlelhető szervtelep kialakulás korai szakaszában az embrió tulajdonképpen még bármelyik neművé differenciálódhat(na). A döntő változás akkor történik meg, amikor az Y kromoszómán levő *SRY* (*sex determining region Y* [8.17. ábra, l. még a 10.19. ábrát is], korábbi megjelölése szerint: *TDF* [*testis determining factor*]) hatására a gonádredők belső területe here irányú elkötelezettségűvé válik és herékké differenciálódik. Ez kb a 7. embrionális héten kezdődik el.

Az Y kromoszóma hosszú karjának nagyobbik hányadát ma úgy ismerjük, mint génikusan üres területet[10]. A hosszú kar proximális részén, valamint a rövid karon működő gének vannak. Ezek közül a rövid kar disztális darabja az X kromoszóma rövid kar terminális részével homológ lokuszokat tartalmaz: ***pszeudoautoszomális régió*** (PSAR). Ezek (10.19. ábra) a meiózisban egymással (vég a véghez állásban) szinapszist képeznek. Közvetlenül e mellett helyezkedik el (a centromer irányában) az *SRY* lokusz. Az Y kro-

---

[10] Ezt támasztja alá az a megfigyelés, hogy ez a *quinacrin* festés után erősen fluoreszkáló szakasz (Y-kromatin, l. 10. fejezet), ill. legalábbis annak igen jelentős része, következmények nélkül elveszhet.

moszóma megléte (természetesen a benne kódolt, vad típusú, normálisan működő heredeterminálő faktorral) feltétlenül szükséges, de önmagában nem elégséges a hím irányú differenciálódáshoz. Mellette autoszomális és X-hez kötött gének is szerephez jutnak. (Újabban az Y hosszú kar disztális végén is azonosítottak egy pszeudoautoszomális régiót.)

Azt mondhatjuk, hogy a női jellegű nemi differenciálódás automatikus, míg a hím irányúnak több olyan kritikus pontja van, amelyben valamilyen határozott szignálnak meg kell nyilvánulnia ahhoz, hogy ezt a női irányú automatizmust legyőzve fejlődjön az Y által determinált módon az embrió. Ezek közül az első a fent említett, és ez akkor is bekövetkezik, ha az *SRY* lokusz transzlokálódott egy másik kromoszómára.[11] Ha nincs jelen a kariotípusban Y kromoszóma (normálisan 46,XX esetben, de tulajdonképpen ez figyelhető meg a 45,X vagy 46,Xi(X) kariotípusú Turner szindrómások esetén is), vagy az *SRY* hatása elmarad (pl. mutációja miatt), a 12. embrionális héten a gonádredő külső részeiből ovariumok fejlődnek. (Emlékeztetünk arra, hogy a here irányú elkötelezettség kb. a 7. héten manifesztálódik, azaz marad elég idő arra, hogy ez elnyomhassa a női fejlődési potenciált.) Hogy a petefészek kialakulásáért milyen gének felelősek, és ezek hatását hogyan nyomja el az *SRY*, vagy más, általa aktivált gén(ek), részben még nem ismert, másrészt nem is tartozik tárgyalásunk körébe.

GONADÁLIS NEM

A herék már fejlődésük során megkezdik hormontermelő tevékenységüket, nevezetesen: (a Leydig-sejtek) tesztoszteront és (a Sertoli-sejtek) egy Müller-cső inhibitor molekulát (*anti-Müllerian hormone* = AMH[12]) termelnek. Az utóbbi hatására visszafejlődik a páros Müller-cső (amiből nőkben a tuba uterina, uterus és a vagina felső szakasza keletkezik [8.16. ábra]). Ez az egyedfejlődésben a második olyan lépés, amelyben a hím irányú fejlődés szupremációja megnyilvánul a női jellegű differenciálódási automatizmus fölött. Ugyanebben az irányban hat a tesztoszteron is (ennek fontos effektusa a Wolff-cső

---

[11] Hosszú ideig megoldatlan problémát jelentett a kutatók számára a 46,XX kariotípusú férfiak léte. Ezek valamennyien Klinefelter szindrómában szenvednek, ami azonban nem zárja ki az Y kromoszóma említett hatásának érvényesülését (l. 47,XXY). Emlékeztetünk arra, hogy az *SRY* lokusz közvetlenül a PSAR régiót követi (centromérikus irányban) az Y kromoszómán. Mára a 46,XX férfiak létének magyarázatát abban találták meg, hogy a PSAR-tól proximálisan lejátszódó illegitim rekombináció (l. 10.19. ábra) révén az *SRY* átkerülhet az X-re, és így megnyilvánul a fenotípusban Y kromoszóma hiányában is.

[12] (Másik neve: *Müllerian inhibiting factor* = MIF.) Génje a 19-es kromoszóma rövid karján helyezkedik el. Hiányában (autoszomális recesszív állapot) a „perzisztáló Müller cső" szindróma I-es típusa jelenik meg, a belső nemiszervek fejlődési hibáival. Ugyanennek a II-es típusa az AMH-receptor (úgyszintén autoszomális) génjének defektusa következtében jelentkezik.

prosztatává, ondóhólyaggá és ondóvezetékké alakulásának meghatározása). A kezdetben – mint fentebb említettük – úgyszintén differenciálatlan külső nemiszervek férfiassá alakulásának irányítója a dihidrotesztoszteron[13]. Mindezek a folyamatok a negyedik terhességi hónap végére olyan stádiumba jutnak, hogy a magzat neme egyértelműen megállapítható, és nem csak az ivarmirigyek azonosításával (amire *in vivo* természetesen nincs mód), hanem a külső genitáliák ultrahangos *in utero* vizsgálatával is, legalábbis ami a penis kimutatását illeti.

Mindezekhez tartozik még az a tény is, hogy az embrió és a magzat az anyai szervezetben, azaz női hormonális környezetben fejlődik. A fiú magzatnak meg kell küzdenie ezzel a hatással, biztosítania kell a saját kromoszómális nemi identitásának megfelelő differenciálódást és hormonális állapotot. (Emlékeztetünk itt azokra a hormonális zavarokra, amelyek külső vagy belső eredettel a felnőtt szervezetet érik és jelentős, kóros elváltozásokat okoznak. Fiú magzatokban ilyenek normális fejlődés esetén nem lépnek fel.)

GENITÁLIS NEM ÉS A PSZICHOSZOMATIKUS NEM FEJLŐDÉSE

Amikor a magzat megszületik, nemét értelemszerűen a külső nemiszervek vizsgálatával határozzák meg. Ezzel tulajdonképpen nagyrészt eldőlt a pszichoszomatikus nemi determináció kérdése is. Ennek alakulásában igen nagy jelentőségű a nevelés, a szülők, a szűkebb családi és a tágabb társadalmi környezet által támasztott elvárások a megfelelő nemi azonosulás és szerep felvételére. A névadás[14], nem szerint választott ruházat (már pólyás korban is eltérő színek: rózsaszín, ill. kék) jelzi a külvilágnak, hogy milyen nemű csemetével áll szemben. Másképpen szólítják meg a fiú és másképpen a leány csecsemőt ill. kisbabát (a fiúnak már ilyenkor sem illik sírnia stb.) és a tanulási folyamatban a számtalan azonosság mellett másért kap dícséretet a kisfiú, mint a kislány. Kb. 18 hónapos korra kialakul a gyermekben nemi identitásának a fogalma.

Természetesen az eltérő nemű gyermekek jellegzetes viselkedés-mintái és azok fejlődése alapvetően génikus kontroll alatt állnak, erről azonban nincsenek megbízható ismereteink. Tény, hogy spontán kezdenek el érdeklődni másféle játékok iránt, és 5–6

---

[13] A legkevésbé sem tartozhat tárgyalásunk körébe a nemi hormonok és hatásaik részletezése, de annyit itt is hangsúlyoznunk kell, hogy a szteránvázas hormonok tulajdonképpen egymás közeli kémiai rokonai, amelyek egymásba átalakulhatnak, családokat alkotnak. Ez is szerepet játszik egyes szexuális fejlődési rendellenességek kialakulásában, következményeiben, megjelenésében (l. még alább is).

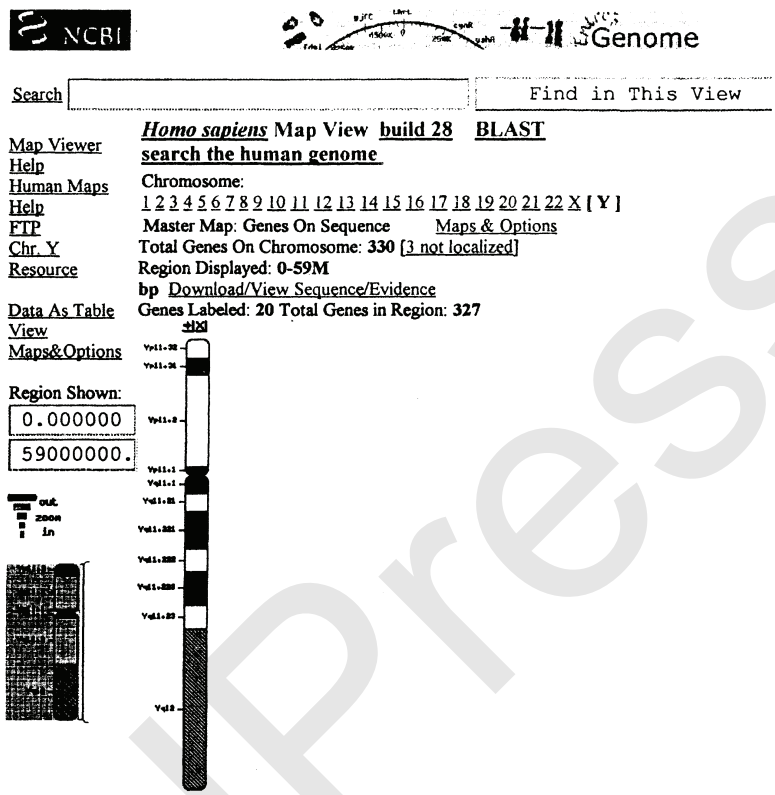
[14] Ez egyúttal a „**jogi nem**" meghatározása is, e szerint anyakönyveznek valakit nőnek vagy férfinak.

éves korukra az azonos nemű gyermekek társaságát kedvelik inkább. 12–13 éves korra már kitűnik a lányok jobb verbalitása és nagyobb alkalmazkodóképessége, míg a fiúk térbeli tájékozódása és matematikai érzéke múlja felül a másik nemét, valamint agresszívebbek – mindez természetszerűleg statisztikai átlagok tükrében.

MÁSODLAGOS NEMI JELLEGEK

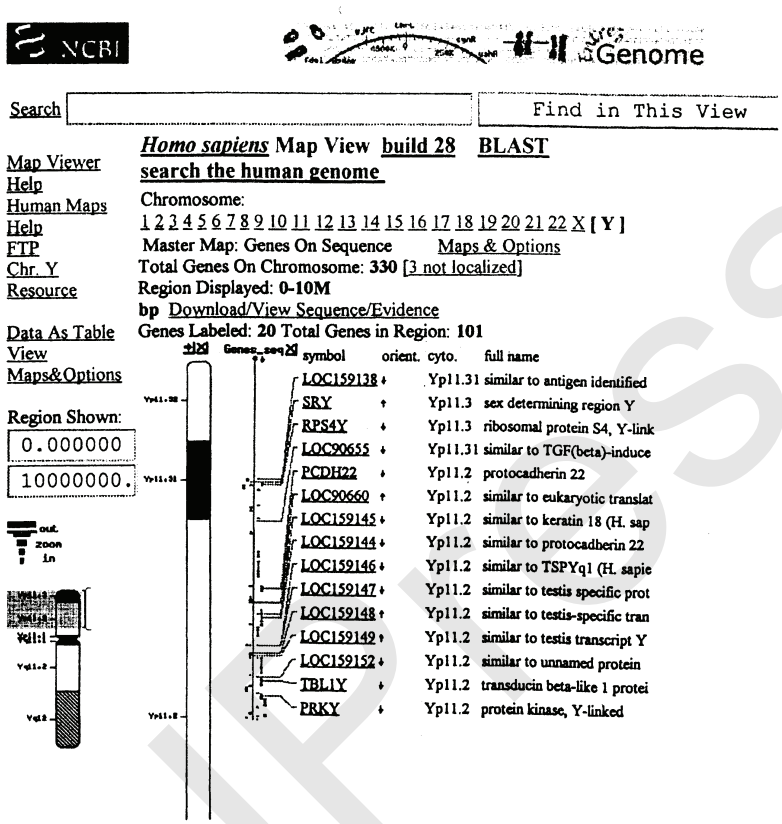
A pubertás általában 10-15 éves kor között kezdődik. Nyilvánvalóan génikus kontroll alatt áll, a hormonokat szintetizáló enzimek és a hormonreceptorok génjeinek működéséről ezt nem kell itt külön bizonyítani. Nyomatékosan felhívja a génikus faktorokra a figyelmet a pubertás eltérő idejű jelentkezése a különböző rasszokban és populációkban. Ugyanakkor nem elhanyagolhatóak a környezeti tényezők sem, elég ha itt az azonos népességben az utolsó 100 évben bekövetkezett akcelerációra utalunk, mely idő alatt a génállomány érdemben biztosan nem változhatott meg.

DUPress



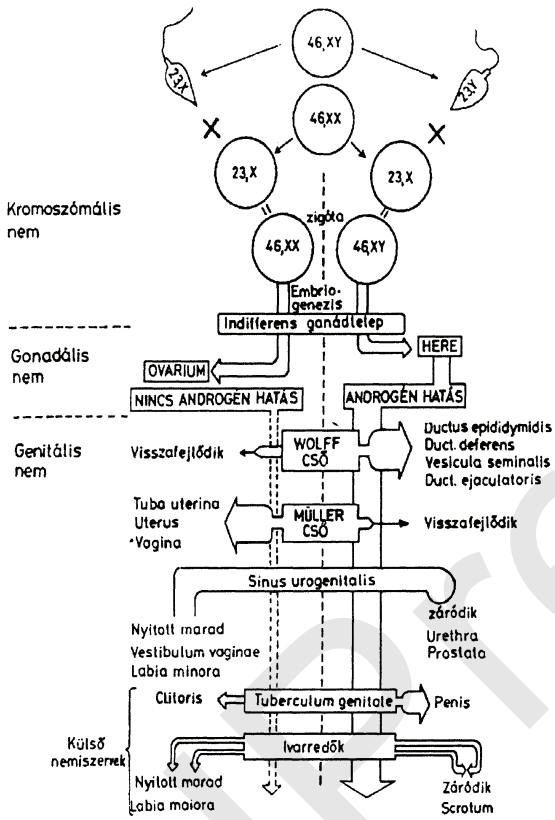
8.17. ábra. *Az Y kromoszóma vázlata, ahogyan az az internetről letölthető* (http://www.ncbi.nlm.nih.gov). Ez a kép különböző nagyításokban jeleníthető meg (Balrat: teljes kromoszóma; jobbra (l. a túloldalon): az első 10 millió bázispárt tartalmazó részlet. [A számolás a rövid kar terminális végétől indul, s tart a hosszú kar telomerje végéig.]). A fejlécben, ill. a bal oldalon jelzi a bemutatott régiót, a nulladiktól a jelzett bázispárral bezárólag, valamint az e területben aktuálisan jelzett, ill. összesen azonosított gének számát. Megadja a teljes kromoszóma vázlatát, a kinagyított terület feltüntetésével, majd a megfelelő lokuszok elhelyezkedése látható (a nemzetközileg elfogadott szimbólumokkal), egy adott területen. A reprodukcióban az „orient." fejléc alatti nyilak a gén transzkripciójának irányát mutatják. A „cyto." a hagyományos sávidiogram szerinti elhelyezkedést jelöli. (A reprodukció erősen átdolgozott, montírozott. A gének nevének vége több helyen lemaradt.) A további információk lekérése különböző beállításokban a megfelelő címre kattintással lehetséges.

DUPress



A pubertás alatti nemi fejlődés és a felnőttkori nemi működések hormonális szabályozásának kérdéseivel az élettan, és nevezetesen az endokrinológia foglalkozik. Itt csak annyit kell megállapítanunk, hogy ezek is, csakúgy mint a fentebb már említett környezeti és génikus hatások, hozzájárulnak a ***pszichoszomatikus nem*** kialakulásához és rögzüléséhez.

DUPLICATE



8.16. ábra. *A nem kromoszomális meghatározása és a méhen belüli fejlődés néhány alapvető lépése.* (A részleteket illetően az embriológiai tanulmányokra utalunk.)

A nemi fejlődés zavarai

Az eddig leírtak a normális fejlődés vázlatát jelentik, genetikai szempontból. Számos nemi fejlődési rendellenesség ismert, közöttük olyanok is, amelyek génikus okai azonosíthatóak voltak. A nemi kromoszómák számbeli és szerkezeti rendellenességeit és ezek fontosabb következményeit a citogenetika megfelelő fejezetében tárgyaljuk. Ebben a fejezetben a valódi és a pszeudo-hermafroditizmust említjük, természetesen a klinikai szintű leírás igénye nélkül.

DUPress

VALÓDI HERMAFRODITIZMUS

(Hermaphroditismus verus, ovotesticularis intersexualitas.) Mind férfi, mind női gonáddal rendelkezik az érintett egyed. A külső genitáliák megítélése lehet rendkívül bizonytalan. Gyakrabban fordul elő az ilyen egyedekben oogenesis mint spermiogenesis. Írtak le olyanokat is, akik teherbe estek és szültek, ez azonban valóban irodalmi ritkaság, túlnyomó többségük steril.

Egyszerű lenne ennek az állapotnak a magyarázata, ha mindezek a személyek 46,XX/46,XY kimérák volnának, az eddigi vizsgálatok azonban ezt nem igazolták (többségük 46,XX kariotípusú, kevesen 46,XY kromoszómakészletűek)[15]. Néhány esetben autoszomális meghatározottság volt kimutatható, ami aláhúzza azt a fentebbi állítást, hogy a normális nemi fejlődésben autoszomális gének is szerepet játszanak.

PSZEUDOHERMAFRODITIZMUS

Szemben a megelőző bekezdésben tárgyalt rendellenességgel, itt vagy petefészekkel, vagy herével rendelkezik az érintett egyed, külső nemiszervei viszont éppen ellentétesek a gonád által feltételezettel (vagy ugyanebben a körben abnormálisak, ami nem ritka). Ennek megfelelően történhet a besorolás az *ovarialis* ill. a *testicularis intersexualitas* kategóriába. Az ide tartozó rendellenességeket a *gonad dysgenesis* névvel is illetik. A részletesebb felosztás ismertetésétől és a klinikai formák tételes felsorolásától eltekintünk.

Egy kórformával kell itt kissé mélyebben foglalkoznunk, a *testicularis feminisatio*-val. Ez ugyanis betekintést enged abba a mechanizmusba, amiről a normális nemi fejlődés kapcsán a fentiekben szóltunk. A Morris szindrómára, ill. angol nevén *complete androgen insensitivity syndrome*-ként (CAIS) megfogalmazott állapotra mindenekelőtt a 46,XY kariotípus mellett kifejlődő, hangsúlyozottan nőies fenotípus a jellemző. Ez jelenti egyrészt a nőies proporcionáltságú alkatot, másrészt a serdülés idején a normális emlőfejlődést. Megtekintésre a külső nemiszervek nőiesek, azonban a hüvely vakon végződik. A közösülésnek nincs akadálya. A Müller-csőből fejlődő képletek hiányoznak (az AMH kifejti hatását), így méh sincs. Már ebből is következik, az ovariumok hiányától függet-

---

[15] Kétségtelen ugyanakkor, hogy az esetleges kiméraság lehet időleges, az egyedfejlődés elejére korlátozódó, a 46,XY kariotípusú sejtek elvesztésével. Másrészt a korábbi technikákkal szolid szöveteket nem tudtak kariotipizálni, hanem csak *in vitro* tenyészetbe vihetőket. Komoly gátat szab a vizsgálódásoknak azok invazív jellege: nem lehet indokolt mondjuk egy petefészek-biopszia csak azért, hogy megtudjuk, milyen nemi kromoszómák vannak az egyes sejtekben (mely citogenetikai diagnózisnak utóbb praktikus [gyógyító] következménye amúgy sem lenne).

lenül, a primer amenorrhoea (ami az érintetteket orvoshoz szokta vinni). A belső nemi mirigyek herék, amelyek valahol a hasüregben[16], esetleg a *canalis inguinalis*ban helyezkednek el. A tesztoszteron szint magas.

X kromoszómához kötötten öröklődő recesszív jellegről van szó. A betegség az X hosszú karján (a centromerhez közel) elhelyezkedő androgén receptor gén hibájára vezethető vissza. Molekulárisan több formája lehetséges: a fehérje hormonkötő-képességének defektusa, a DNS-hez kapcsolódásra való alkalmasság elvesztése, ill. a receptor aktiválásához szükséges disszociációs lépés elmaradása. Nem zárható ki az említettek esetleges nem teljes hibája sem, ami a klinikai tüneteket színezheti. Alkalmasint ez utóbbinak megfelelően létezik a rendellenességnek egy inkomplett változata is: *incomplete androgen sensitivity*, más néven *partialis androgen insensitivitas* (PAIS), amit korábban Reifenstein szindrómaként emlegettek, és amelyre a tesztoszteron iránti érzékenység bizonyos szintű kifejeződése, valamint a külső nemiszervek átmeneti karaktere a jellemző.

Említettük a fentiekben, hogy vannak a nemi fejlődésnek autoszomálisan meghatározott lépései is. Ezek zavarai úgyszintén különféle interszex állapotokat hozhatnak létre.

A szteránvázas hormonok szintézise koleszterinből történik. Akár valamelyik köztitermék, akár pedig pl. a tesztoszteron előállításáért felelős enzim hiánya ugyanúgy vezethet a hormonhatás elmaradásához, amint azt a megelőzően említett receptor-defektnél láttuk, csak nem X-hez kötött, hanem autoszomális recesszív öröklésmenettel. Mindezek a különböző kórformák (46,XX magzatok maszkulinizációja, 46,XY embriók feminizációja, a mellékvesekéreg túlműködésének következményei, stb.) és a mögöttük álló molekuláris mechanizmusok a részletes endokrinológiai tanulmányok keretébe tartoznak inkább, mintsem a genetikához.

Utalnunk kell ezen a helyen is arra, hogy a szteroid nemi hormonok (sőt az egyéb szteránvázasok) metabolizmusára jellemző az egymásba való átalakulás. Erre a fentiekben a tesztoszteron–ösztrogén összefüggésben már példát is bemutattunk. Valamelyik ilyen hormon túltermelése, vagy ellenkezőleg, szintézise útjának beszűkülése pl. egy másik túlműködésének képében is jelentkezhet. Így megemlíthetjük, mint nemi fejlődési zavart, a fiúkban jelentkező *pubertas praecox*ot is, aminek oka lehet a kortizon és aldoszteron irányú útról a megfelelő intermedierek átterelődése az androgének bioszintézisébe. Ismeretes az is, hogy a női mellékvesekéreg is termel androgéneket, és a női szervezet ezek túltermelésére virilizációval válaszol a felnőttkorban is. (L. még: szteroidokkal való doppingolás, testépítés.) Ugyanaz a hormonális zavar, amely a fent említett

[16] A nem a herezacskóban elhelyezkedő testisek malignus elfajulásra hajlamosak. Ez mindenképpen indokolttá teszi testicularis feminisatioban a lokalizálásukat és preventív műtéti eltávolításukat. Ha korán – a pubertás előtt – megszületik a diagnózis és megtörténik a kioperálás, ösztrogén kezelésben kell részesíteni a gyermeket. Ezeknek a betegeknek a nemi beállítódása egyértelműen női, s az emlőfejlődés hormonális hátterét a tesztoszteronból képződő ösztrogének biztosítják. Ha a tesztoszteront termelő mirigyeket kiirtják, elégtelen lesz a női nemi hormonális hatás, következésképpen a másodlagos nemi jellegek kialakulása is.

korai serdülést eredményezi kisfiúkban, leány magzatok külső genitáliái masculinisatiojához vezet, akár olyan fokban is, ami újszülöttkori téves nemi besorolásukat és ennek megfelelő elnevezésüket és anyakönyvezésüket eredményezheti. Lehet azonban a hormonhatás forrása anyai is (mellékvesekéreg daganat, orvosi hormonkezelés, stb.), s ez úgyszintén okozhatja a leánymagzat általában csak átmeneti, a megszületés után visszafejlődő virilizációját.

A fentiekben felsorolt rendellenességek természetesen alapvetően befolyásolják a pszichoszomatikus nem kialakulását és rögzülését[17]. Említettük pl., hogy a *testicularis feminisatio*-ban szenvedők egyértelműen nőként határozzák meg magukat, csakis női szerepvállalást mutatnak és erre is készülnek. Ez különös felelősséget ró a diagnózist felállító orvosra, a heréket eltávolító sebészre, a szubsztitúciós hormonterápiát végző endokrinológusra, vagy a nőgyógyászati gondozást végzőre, meg az itt nem említettekre, ide értve a hozzátartozókat is. Bármi, ami a pszichoszomatikus beállítódást egy ilyen esetben megkérdőjelezi, rendkívül komoly pszichés traumát okozhat.

Teljesen más problémakört jelent a pszichoszomatikus nemi beállítódás olyan kiépülése, aminek hormonális és/vagy anatómiai alapjai nincsenek, ill. pontosabban: nem felel meg ezeknek. Ide sorolható a ***transzvesztitizmus***, ami szinte kizárólag férfiakat érint. A transzvesztita egyének szeretnek női szerepet játszani, női ruhákba öltözni; általában ingadoznak a női és a férfi identitás között. Mást jelent a ***transzszexualizmus***. Az ebbe a körbe tartozók férfiúi anatómiájuk ellenére nőknek érzik magukat, ill. fordítva, nőként férfinak. Gyakran átoperáltatják magukat az ellenkező neművé, és ebben a szerepben megtalálják helyüket az életben. Mindezek génikus alapjai még ismeretlenek.

Ugyanúgy feltáratlan még a ***homoszexualitás*** genetikája is. Ebben az esetben ismeretesen a normálisan fejlett, a kromoszómális nem szerinti külső és belső nemiszervek, az ezeknek megfelelő pszichés nemi beállítódás és szerepvállalás ellenére a genitális szexuális érdeklődés az azonos neműekre irányul. Vannak (voltak) társadalmak, amelyekben ezt normálisnak fogadják/ták el (l. pl. az ógörög történelmet), másutt heves intoleranciával találják magukat szemben a homoszexuálisok, ill. ez a problémakör tabunak számít. A férfi homoszexualitásra vonatkozóan legújabban egy X-hez kötött génnek tulajdonítanak oki szerepet. Azonban ez még csak hipotézis. Ha igazolódik is a mostani feltételezés, az máris bizonyos egypetéjű ikrek vizsgálatából, hogy egy gén önmagában nem lehet magyarázata ennek a beállítódásnak, hanem egyéb gének és/vagy környezeti tényezők is befolyásolják a jelleg kialakulását.

---

17 Tudásunk mai szintjén eldönthetetlen az a probléma, hogy vajon a kisfiúkban és kislányokban azért alakul-e ki kétféle viselkedési forma, mert különbözőképpen nevelik őket, vagy azért, mert eleve eltérő a kezelésük a kezdetektől másféle viselkedési mintáik miatt.

Összefoglalás

(*1*) Az emberre vonatkozó fejlődésgenetikai ismereteink még rendkívül hézagosak, a legújabb asszisztált reprodukciós technikák (*in vitro* fertilizáció [IVF]) és a prenatális (valamint preimplantációs) genetikai diagnosztika azonban egyszerre követelik, serkentik és segítik gyarapodásukat.

(*2*) Relatíve jól ismert a *Drosophila* embriók fejlődésének génikus szabályozása. Ebben az első lépéseket az anyai hatás génjei determinálják. Ezek a gének a petesejtet körülvevő dajkasejtekben aktívak, és vagy a róluk átírt mRNS-ek, vagy az ezekről másolt fehérjék kerülnek át és halmozódnak fel jellegzetes helyen és módon a petesejtben, meghatározva annak polaritását.

(*3*) A morfogének olyan fehérjék, amelyek grádienst hoznak létre a pete hossz- vagy has-háti tengelye mentén, és így determinálják a különböző elhelyezkedésű sejtmagok további sorsát. Az anyai hatás génjeinek fehérje termékei általában más gének szabályozásában, bekapcsolásában vagy represszálásában játszanak szerepet. Az anyai hatás génjeit összesen négy csoportra osztják. Bármelyik gén mutációja jellemzően torz fejlődést eredményez. A torzok fenotípusa alapján nevezték el a géneket.

(*4*) Az embrió fejlődését meghatározó másik csoport, a zigótikus gének szintén négy osztályba sorolhatók. Ezek egyrészt a szegmentációt irányítják, másrészt meghatározzák az egyes testrészek végleges kifejlődését (pl. a szárny, láb, csáp, szem, stb.). Ez utóbbiak a homeotikus gének csoportját alkotják.

(*5*) A testtájak kialakításáért felelős ú.n. rés (*gap*) gének expresszióját gátló és aktivátor transzkripciós faktorok kombinációja szabályozza. Ezeket a transzkripciós faktorokat anyai- és zigótikus gének kódolják.

(*6*) A test szelvényezettségének kialakulásáért felelős elsődleges páros szabály gének aktivitását az anyai coordinate gének és a rés (*gap*) gének termékei szabályozzák. A páros szabály gének paraszelvény specifikus átíródását külön-külön, egyedi enhancer régiók szabályozzák.

(*7*) A páros szabály gének termékei (transzkripciós faktorok) szabályozzák a szegment polaritás gének periodikus mintázatot mutató expresszióját.

(*8*) A szegment polaritás gének egymás átíródását szabályozva, sejt-sejt kölcsönhatások segítségével rögzítik a szegmentek határait és a szegmenthez tartozó sejtek identitását.

(*9*) A homeotikus gének és az általuk meghatározott fehérjék rendkívül konzervatívnak bizonyultak az evolúcióban. Szerepük magasabbrendűekben is ismert, és lényegében ugyanaz, mint a *Drosophila*ban kimutatott: más, az egyedfejlődésben és differenciálódásban szerepet játszó géneket kontrollálnak. A különböző homeotikus génekben

DUFlex

egymáshoz nagyon hasonló, 180 bp hosszúságú homeoboxokat írtak le, amelyek a 60 aminosavnyi homeodoméneket kódolják az általuk determinált fehérjékben. Ennek a szakasznak jelentősége van a fehérje DNS-hez kapcsolódásban.

(*10*) A homeotikus gének általában komplexekbe szerveződve vannak jelen a genomban. Magasabbrendűekben több ilyen komplex is van (HoxA, HoxB, stb.). Ezek nukleotid szekvenciája és kifejeződésük szabályozása nagymértékben hasonlít a *Drosophila*ban leírtakhoz. Emberben is ismert olyan fejlődési rendellenesség (HFG szindróma) amelynek Hox gén mutáció az oka.

(*11*) Az egyedfejlődést irányító gének funkciójuk szerint hierarchikus sorba állíthatók. Működésük időrendje alakítja ki az egyszerűbbtől a bonyolultig vezető differenciálódási sorokat. A hierarchia magasabb szintjein állók szabályozzák az alacsonyabb rendbe sorolhatókat. Ugyanakkor ez utóbbiak egyrészt visszahatnak a magasabb osztályban szereplők működésére, másrészt azokkal és főleg az azonos hierarchikus szintbe tartozókkal kombinatórikus logikai rend szerinti kölcsönhatások részleteikben mindmáig felderítetlen bonyolult szabályozó köreit hozzák létre.

(*12*) A veleszületett fejlődési rendellenességek lehetnek számbeli vagy strukturális kromoszóma-anomália következményei, valamint mono- és poligénes eredetűek, amennyiben génikusak. Értelemszerűen a homeotikus gének mutációi vagy működészavarai is vezethetnek fejlődési rendellenességekhez.

(*13*) A nemi fejlődést alapvetően a kariotípus határozza meg = kromoszomális nem: ha van Y kromoszóma, akkor férfi-, míg ennek hiányában női irányt vesz a folyamat. Az utóbbi automatikusnak mondható, a fiú embriókban és magzatokban ezt a spontán női tendenciát kell a megfelelő fejlődési mechanizmusoknak legyőzniük. Alapvetőnek tartják az Y rövid karján levő *SRY* lokusz szerepét. Ez azonban nem jelenti azt, hogy a normális nemi fejlődésben ne lenne szükség mindkét nemben autoszomális és X kromoszómán elhelyezkedő génekre is.

(*14*) A nemi fejlődés további lépései a gonadális, genitális nem kialakulása, a másodlagos nemi jellegek, valamint a pszichoszomatikus nem kifejlődése. Bármelyik folyamatában léphet fel zavar, így anatómiai (pl. hermafroditizmus) és lelki beállítódási (pl. transzszexualizmus) nemi rendellenességekkel egyaránt találkozhatunk.

(*15*) A kromoszomális nemmel ellentétes küllemű fenotípust eredményez a *testicularis feminisatio*, ami X-hez kötött recesszív elváltozás; a *SRY* által meghatározott here-fejlődés ellenére elmarad a férfivá alakulás, mert a tesztoszteron receptor hiányzik.

DUPress

Kérdések

(*1*) Néhány különleges rendellenességet írtak le a szakirodalomban: férfiban találtak petevezetőt és méhet. A jelleg autoszomális recesszív öröklődésűnek tűnt. Mivel magyarázhatjuk ezt?

(*2*) Úgyszintén a szakirodalomból ismert egy beltenyészett dominikai populációban a férfi pszeudohermafroditizmus gyakori előfordulása. A 38 ismertté vált eset közül 18-at egyértelműen leánynak tartottak a születéskor és így is nevelték őket. A pubertas idején azonban megnőtt a phallusuk, mélyült a hangjuk, testformájuk férfiasabb lett. Mindannyiukban az 5-alfa-reduktáz enzim hiányát mutatták ki, ami a tesztoszteronnak dihidrotesztoszteronná átalakításához szükséges. Hogyan értékelhetjük mindezt?

(*3*) Klinefelter szindrómás beteg kariotípusa 46,XX-nek bizonyul. Rosszul végezték el a kromoszóma-vizsgálatot, vagy lehet más magyarázatot találni a esetre?

(*4*) Hogyan hat a Bicoid és a Nanos fehérje a rés-gének köré tartozó *hunchback* gén átíródására és a Hunchback fehérje koncentráció gradiensének kialakulására?

(*5*) Az *Antp* (antennapedia) mutánsban a fejen az antenna helyén lábak találhatók. A fenotípust analizálva igaz-e a kijelentés, hogy egy adott homeotikus gén episztatikus (v. domináns) anterior irányú szomszédjaira nézve?

Válaszok

(*1*) Az AMH (vagy MIF) (*anti-Müllerian hormone*) hiánya.

(*2*) Az 5-alfa-reduktázt kódoló gén (autoszomális) hibája rendkívül ritka. Heterozigótákban a vad típusú allél elegendő aktivitású enzimet képes létrehozni, csak homozigóta recesszívekben jelentkezik az enzim hiánya, és ezt követően azon szervek fejlődési zavara, amelyek a nemi fejlődésben nem tesztoszteron, hanem dihidrotesztoszteron-függők. Ezek a külső nemiszervek. A beltenyészetben, rokonházasságok révén vált gyakorivá a homozigóta recesszív genotípusú gyermekek születése. (46,XX kariotípus mellett az enzimhiány semmiféle rendellenességet sem okoz.)

(*3*) Több magyarázat képzelhető el. A legegyszerűbb: 47,XXY/46,XX mozaicizmus, az egyik sejtvonalból elveszett az Y, és pont ebből történt a kariotipizálás. Előfordulhat azonban az is, hogy az apai meiózisban a TDF régió illegitim crossing over révén átkerült az Y-ról az X kromoszómára, és ez a transzlokációt hordozó X jutott a spermiummal a petesejtbe.

PUPress

(*4*) A Bicoid fehérje a ***hunchback*** gén pozitív regulátora, aktiválja az átírást, a Nanos fehérje viszont gátolja a hunchback mRNS transzlációját.

(*5*) Igen, normális fejlődés esetén egy posterior homeotikus gén terméke gátolja az anterior helyzetű szomszéd homeotikus gének transzformációját. Ezzel meggátolva azt, hogy anterior struktúrák alakulhassanak ki posterior testtájon.

DUPress

DUPress

9. FEJEZET

MENNYISÉGI JELLEGEK ÖRÖKLŐDÉSE

Poligénes öröklődés és multifaktoriális meghatározottság

Heritabilitás

Ikervizsgálatok

A küszöb modell

Az emberi viselkedés genetikája

Értelmi képességek öröklődése, az intelligencia mérése

DUPress

Poligénes öröklődés és multifaktoriális meghatározottság

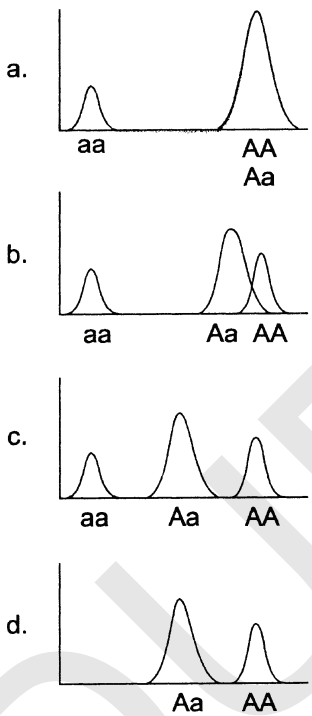
A mendeli (klasszikus, formális) genetika olyan ***minőségi (kvalitatív) jelleg***ek öröklődésének szabályszerűségeivel foglalkozik, amelyek populációs megjelenése diszkontinuus (a vizsgált egyedek az adott tulajdonság alapján egymástól jól elhatárolható osztályokba sorolhatók), és általában két – néha több –, de mindenképpen egymást a fenotípusban kölcsönösen kizáró bélyeget jelentenek. Más megfogalmazásban azt is mondhatjuk, hogy a népességben fellelhető egy adott fenotípusos tulajdonság vagy megvan egy egyedben vagy nincs. Ezekről azt sikerült igazolni, hogy egy lokusz egy allélpárja (vagy többszörös alléliája) jelenti a génikus hátterüket. Ennek megfelelően a kvalitatív bélyegeket manapság monogénes, vagy pontosabb kifejezéssel: ***monolokuszos meghatározottság***únak írják le. Azokat a géneket, amelyek valamilyen minőségi bélyeget dominánsan (vagy recesszíven), általában egyetlen fehérje (enzim, szabályozó protein, receptor, transzport-, struktúrfehérje, stb.) működése (avagy annak hiánya) révén határoznak meg, „nagyhatású", szakszóval: ***maior gén***eknek nevezzük.

Közbevetőleg meg kell jegyezzük: Tartoznak természetesen ebbe a kategóriába olyan fenotípusos jegyek is, amelyek kialakulásában több lokusz alléljei játszanak szerepet, valamilyen génkölcsönhatási mechanizmus alapján létrejövő végeredményt adva. E jellegek komplexitása adandó alkalommal sokkal nagyobb fokú lehet, mint a kifejezetten és szigorúan monolokuszosaké, de ezzel együtt is a szűken vett „minőségi bélyeg" kategóriájában maradnak.

Ismeretes volt azonban már a genetika tudományának korai évtizedeiben működő vizsgálók – így maga Mendel – előtt csakúgy, amint mindennapos laikus tapasztalatokból is, hogy nem csak minőségi bélyegek vannak, hanem mennyiségiek is. Ez utóbbiak megfigyelése vagy alkalmas kísérleti objektumokon való tanulmányozása révén – az előbbiekhez hasonlatosan – arra a következtetésre kellett jutniuk az azokat vizsgálóknak, hogy génikus elem úgyszintén szerepet játszik a kialakításukban, anélkül, hogy a Mendel-szabályok érvényesülésének a legcsekélyebb jelét is lehetne észlelni az öröklődésükben. Ezek populációs megoszlása kontinuus, nem sorolhatók osztályokba, hanem általában Gauss görbével leírható folytonos eloszlást mutatnak. Az ilyen megoszlásról már maga Gauss megállapította, hogy leginkább kis hatású, egyenként alkalmasint nem is megfogható és analizálható tényezők állnak kialakulásának hátterében.

Az említett és egyéb megfigyelések és megfontolások alapján kialakult az a kép, hogy az ilyen ***mennyiségi jelleg***ek génikus meghatározásában több (alkalmasint sok) „kis hatású", ún. ***minor gén*** játszik szerepet, amelyek egy ***poligénes rendszer*** tagjai, azaz – a fent említett minőségi bélyegek génikus meghatározottságával szemben – itt ***po-***

lilokuszos hatás érvényesül. Ugyanakkor számos kísérleti megfigyelés amellett szól, hogy a kvantitatív jellegek kialakulásában sokkal nagyobb szerepet játszanak környezeti tényezők, mint a monolokuszos bélyegekében, így az általánosan elterjedt ***„poligénes öröklődés"*** kifejezés lassacskán átadta a helyét a valóságot jobban megközelítő ***„multifaktoriális meghatározottság"***-nak. (Szoktak multifaktoriális öröklődésről is beszélni, ez azonban talán kevésbé szerencsés és szabatos kifejezés.) Ezzel azt hangsúlyozzuk, hogy a génikus és a környezeti tényezőknek egyaránt szerepet tulajdonítunk a fenotípus kialakításában[1].



Beltenyésztett állatok testsúly megoszlása, avagy Johannsen jól ismert kísérleteinek eredményei, amelyek beltenyésztett bab növények szemsúlyának eloszlását találták Gauss-görbével leírhatónak, arra utalnak, hogy az egymással elvileg teljesen azonos genotípusú egyedek között is - relatíve - nagyfokú varianciával találkozhatunk. Ugyanakkor a környezeti hatásokat ebben a vonatkozásban eléggé tágan értelmezzük, nem csak a külső, hanem a belső környezetet is értjük rajta, nem feledve el azt sem, hogy ez utóbbi nem kis mértékben úgyszintén az aktuálisan vizsgált egyed genotípusának a függvénye.

9.1. ábra. *Hipotetikus enzimaktivitási görbék lehetséges változatai a népességben.* Az ordinátán az egyedek gyakorisága, az abszcisszán az enzimaktivitási értékek vannak feltüntetve. Teljes dominancia esetén előfordulhat, hogy a homozigóta domináns és heterozigóta genotípusú egyedek egy osztályt alkotnak (a). Sokkal gyakoribb azonban, hogy a homozigóta dominánsok nagyobb enzimaktivitási értékeket mutatnak átlagosan, mint a heterozigóták, de a két görbe annyira átfed, hogy az enzimaktivitás meghatározása révén nem dönthető el teljes biztonsággal a genotípus (b). A homozigóta domináns, heterozigóta és homozigóta recesszív genotípusokhoz tartozó enzimaktivitási értékek jól elkülöníthetők is lehetnek egymástól. Ilyen esetekben van reális esély a heterozigóták fenotípusuk alapján történő kiszűrésére (c). Az utóbbi populációs megoszlásnak olyan változata is lehetséges, amelyben a homozigóta recesszívekben semmiféle enzimaktivitás sem mutatható ki (d). Ez természetesen ugyanúgy előfordulhat az (a) és (b) részben bemutatott dominancia-viszonyok esetén is!

---

[1] Sohasem szabad mereven értelmeznünk a magunk által alkotott kategóriákat. Közismert példája egy monolokuszos jelleg – alkalmasan választott – környezeti feltételek általi megváltoztathatóságának a fenilketonuria (PKU) fenilalanin-szegény diétával való sikeres kezelése. Ugyanakkor tudunk olyan polilokuszos meghatározottságú jellegekről (pl. az emberi ujjak bőrlécrajzolata), amelyek kialakulásában eddig semmiféle környezeti tényező hatását sem sikerült igazolni, azaz itt valóban poligénes, nem pedig multifaktoriális a determináció.

Emlékeztetnünk kell itt arra, hogy természetesen a monolokuszos jellegek is mérhetőek általában. Legegyszerűbb példaként utalunk rá, hogy ha egy adott enzimet vizsgálunk a népességben, a kapott aktivitási értékek grafikus ábrázolásával minden bizonnyal haranggörbét (vagy ahhoz nagyon hasonló eloszlást) kapunk. Azt is tapasztalni fogjuk azonban, hogy a dominancia és recesszivitás viszonyaitól függően egy, két vagy három ilyen görbe írja le az egész populáció enzimaktivitási értékeit, és ezek egymástól általában jól elkülöníthetők, az egyedek osztályokba sorolásának és ezen az alapon való megkülönböztetésének nincs akadálya (9.1. ábra).

Mind a humán, mind pedig a növény- és állatgenetikában számos példáját ismerjük az olyan kvantitatív bélyegeknek, amelyeknek pl. az egészség ill. kóros állapot meghatározásában van kritikus szerepük, avagy rendkívül fontos gazdasági mutatókat jelentenek. A folytonos eloszlású mennyiségi jellegek közé tartozik pl. az emberi testmagasság, élettartam, intelligencia, vérnyomás, stb. csakúgy, mint a tehenek tejhozama (és a tej zsírtartalma), vagy a búza szemsúlya és sikértartalma. A példák felsorolása szinte korlátlanul folytatható.

Az alkalmazott mérési vagy meghatározási módszer függvényében a *„continuus"*-nak nevezett jellegek mellett szoktak *„meristicus"*-akról is beszélni; az előbbieket valamilyen módon (alkalmas mértékegységgel) mérik, míg az utóbbiak közé a megszámlálhatókat sorolják. Pl. az emberi testmagasság centiméterben, a hektáronkénti kukoricatermés tonnában adható meg, míg az emberi ujjbegyek bőrlécei vagy a kukorica csövenkénti sorai és az egy sorban lévő szemek a darabszámukkal jellemezhetők mennyiségileg. Egy tyúkfarm állatainak évente lerakott tojásai számolhatóak, a tojások nagysága átmérőben vagy súlyban viszont mérhető, az össz-tömegük/év úgyszintén. Nem szabad elfeledkeznünk arról, hogy az emberi intelligencia, kreativitás, stb., vagy a humán szféra mellett pl. az állati viselkedés kutatói biometriai mérőszámokat dolgoztak ki egyes vizsgált jellegek számszerű kifejezésére.

Egyik legegyszerűbb ismert példa erre az utóbbira a patkányoknak az útvesztőben való eligazodási képességét kifejező szám: az „okos" állatok kevesebbszer tévednek a sajt megtalálásáig mint a „buták" az ismétlődő próbálkozások során, avagy más megközelítésben: hamarabb megtanulják a célhoz vezető helyes útvonalat. Az „okos" patkányok egymás közötti keresztezésével, és hasonlóan, a „buták" beltenyésztésével sikerült olyan állattörzseket létrehozni, amelyek között jelentős eltérés mutatkozott az említett tévedési számban, azaz a megfelelő eligazodás, a tájékozódás megtanulásának képessége is génikus hatások alatt áll. A környezet szerepére az utal, hogy a „buta" és „okos" patkányok tanulásához szükséges ismétlések számában mutatkozó különbségek átlagos körülmények között mutatkoztak jellemzőnek. A körülmények jelentős javításával a „buták" teljesítménye közeledett az „okosokéhoz", a körülmények jelentős romlása esetén fordítva változtak a teljesítmények.

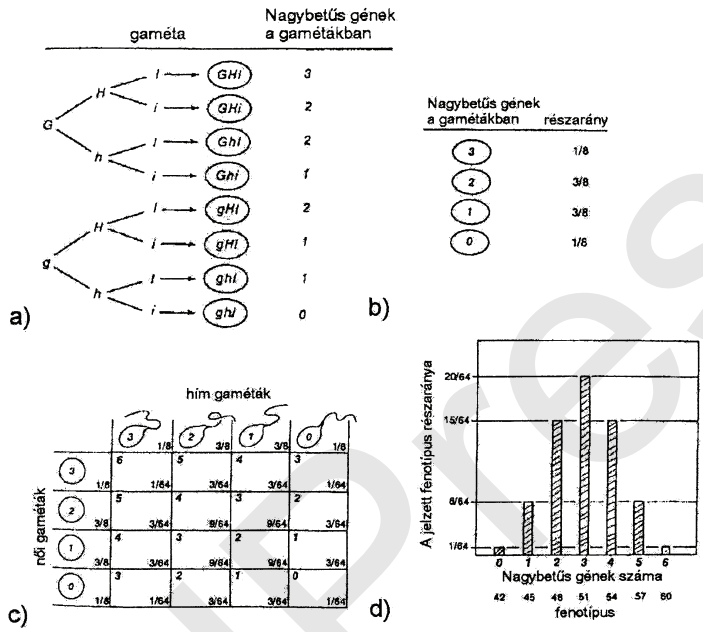
Milyen modellel írhatjuk le a poligénes jellegek génikus meghatározását? Erre eleddig a legjobban megérthető magyarázat annak a feltételezése, hogy a szóban forgó rendszerben szereplő lokuszok ill. ezek alléljei additíven fejtik ki hatásukat. Ez azt jelenti, hogy minden gén egy bizonyos, önmagában számunkra (egyelőre) megfoghatatlan és meghatározhatatlan, kicsiny mértékben járul hozzá a jelleg kifejlődéséhez. A vizsgáló csak a végeredményt látja, jelen ismereteink szintjén sem a lokuszok, sem az egyes lokuszokon található allélek száma nem mérhető fel. (Az egyes lokuszok alléljeire természetesen – elvileg – igazak a Mendel-szabályok, de a sok-génes rendszer együtthatásában ezek individuális észlelhetősége megszűnik.) Azt sem tudjuk tanulmányozni, hogy vajon mindegyik gén valóban additív módon viselkedik-e a rendszerben, avagy vannak olyanok, amelyek hatástalanok, ill. esetleg éppenhogy csökkentik a jelleg kialakulásának mértékét. Minél több additív hatású minor gén áll egy kontinuus jellegű tulajdonság hátterében, annál simább az annak populációs eloszlását leíró Gauss-görbe, aminek lefutását egyébként – a fentiek értelmében – a környezeti hatások is befolyásolják. (Minél kevesebb lokusz szerepel az adott rendszerben, annál inkább lépcsős megoszlásúvá válik a populáció, l. alább.)

9.1. táblázat *A poligénes öröklődés additív modellje.* Három, nem kapcsolt, egymással egyenértékű hatású lokuszt és mindegyiken két-két allélt feltételezve, ahol a *gghhii* genotípus fenotípusos megnyilvánulása 42 egység, és ehhez minden nagybetűvel jelzett allél plusz 3 egységnyit ad hozzá, az itt összefoglalt megoszlás jöhet létre. Vö. 9.2. ábra. Modellünkben mindegy, hogy – ha több van belőlük a genotípusban – a nagybetűvel jelölt gének azonos vagy különböző lokuszokhoz tartoznak-e.

Reprezentatív genotípus	*A nagybetűs allélok száma*	*Fenotípus*	*A különböző genotípusok száma (azonos fenotípusban)*
gg hh ii	0	42	1
Gg hh ii	1	45	3
GG hh ii	2	48	6
Gg Hh Ii	3	51	7
GG HH ii	4	54	6
GG HH Ii	5	57	3
GG HH II	6	60	1
			összesen=27

Az egyszerűség kedvéért vegyünk példának egy olyan jelleget, amelyet három, egymással nem kapcsolt lokusz kontrollál. Mindegyiknek két allélja van: *G* és *g*, *H* és *h*, ill. *I* és *i*, a lokuszok nem állnak kölcsönhatásban egymással, az allélek additív hatásúak. A külső és a génikus belső környezetet változatlannak tekintjük minden esetben. Tételezzük fel, a *gghhii* genotípus által meghatározott (mérhető) fenotípus 42 egységet jelent, valamint, hogy minden nagybetűvel jelölt allél további 3 egységet ad hozzá ehhez

az értékhez. Ennek alapján összefoglalhatjuk a lehetséges fenotípusokat az 9.1. táblázat szerint. Ebből például kiolvasható, hogy az a genotípus, amelyben két nagybetűs allél van, 48 egységgel azonosítható fenotípust eredményez. Modellünk szerint teljesen mindegy, hogy melyik lokuszon helyezkedik el éppen a szóban forgó, nagybetűvel jelzett két allél, a fenotípus ugyanaz lesz. Ennek megfelelően a lehetséges 27 féle különböző genotípus összesen 7 féle fenotípust hozhat létre.



9.2. ábra. *A poligénes additív modell egyszerűsített példája.* Két, háromszorosan heterozigóta, *GgHhIi* genotípusú egyedet keresztezünk egymással. A különböző genotípusokhoz rendelhető fenotípusos értékeket bővebben l. az 9.1. táblázatban, a szülőké 51. (a) Gamétaképzés. Alapfeltételezésünk szerint mindhárom lokusz bármelyik allélja egyenértékű a neki megfelelőekkel, a gamétákat a bennük található nagybetűs allélek száma szerint összevontan szerepeltetjük. (b) Így kerülnek be ezek a keresztezés lehetséges eredményének sakktábla módszerrel való levezetésébe. (c) Az ábra utolsó része az utódok lehetséges fenotípusai gyakorisági megoszlását mutatja. (d) Az utódok átlaga 51.

Vezessük le a szokásos módon két, háromszorosan heterozigóta egyed lehetséges utódainak megoszlását, azaz végezzük el a *GgHhIi* x *GgHhIi* keresztezést. A 9.2/a. ábra mutatja a lehetséges gamétákat. Mivel feltételezésünk szerint mindhárom lokusz bármelyik allélje egyenértékű a neki megfelelőekkel, így a gamétákat a 9.2/b. ábra szerinti összevonással, de természetesen részarányuk szerint szerepeltethetjük a keresztezés

sakktábla módszerrel való levezetésében (9.2/c. ábra), 8x8-as helyett 4x4-es táblában. A fenotípusok megoszlását a 9.2/d. ábra mutatja be grafikusan.

Megfigyelhetjük egyrészt, hogy az utódok átlaga megegyezik a szülőkével. Ez igaz akkor is, ha nem azonos, hanem eltérő fenotípusú egyedeket keresztezünk. Másrészt viszont az itt alkalmazott formából látványosan kitűnik, hogy a leszármazottak akár az egyik, akár a másik véglet irányában meghaladhatják a szülői értéket (minél extrémebben, annál kisebb számban). Kevés számú utód esetén, ami az emberi családokban általában jellemző, a véletlen játékainak megfelelően előfordulhat, hogy csak a szülői átlagtól - negatív vagy pozitív irányban - eltérő gyermekek születnek.

Tekintettel arra, hogy példánkban mindössze három lokusz szerepelt, az egyes fenotípusos osztályok jól elkülönülnek egymástól. Ha azonban tekintettel vagyunk arra, hogy az adott jelleg kifejlődését, annak mértékét a környezeti hatások is befolyásolhatják, akkor fel kell tételeznünk, hogy nagy valószínűséggel megjelennének a köztes értékek is (pl. a 42 és 45 között a 43 és 44, stb.), azaz a megoszlás folytonos és Gauss görbével lefedhető lenne. (Azt természetesen nem nagyon tudjuk vizsgálni, hogy pl. a 43 vajon a 42 „feljavítása" vagy a 45 „lerontása" révén jön-e létre.)

Bár az idő és az utánvizsgálatok kritikáját nem állta ki, igen tanulságos példa a multifaktoriális meghatározottságra az emberi bőrszín öröklődésének modellje. A Davenport hipotézis szerint ebben két lokusz két-két allélje venne részt[2]. Ennek megfelelően egy „tiszta fehér" és egy „tiszta fekete" házasságából csak mulatt gyermekek születhetnek, míg két ilyen mulatt utódai között ötféle árnyalat különíthető el, meghatározott arányban (9.2/a. táblázat). Azaz a kevés lokusz miatt a populációs megoszlás lépcsős, nem követi a Gauss-görbét (egyébként viszont arra a görbe rárajzolható). A két lokusz alléljait *A*-val és *a*-val ill. *B*-vel és *b*-vel jelölhetjük. Az eredeti feltételezés szerinti értelmezésben az *A* és *B* nem domináns, az *a* és *b* pedig nem recesszív, hanem az utóbbiak minimális hozzájárulást adnak a bőr pigmentációjához (hiszen a „fehér" sem albínó!), míg a nagy betűvel jelzettek többet. Ebből vezethető le a 9.2/a. táblázatból kiolvasható megoszlás.

Családvizsgálatok (9.2/b. táblázat) megerősíteni látszottak az elképzelést. Példánk ugyanakkor abból a szempontból is tanulságos, hogy mindannyiunk, akik a hazai éghajlati viszonyok között élünk, közös tapasztalata bőrszínünk szezonális megváltozása, nyári lebarnulásunk. Ez egyértelműen környezeti hatásra bekövetkező jelenség, ugyanakkor „beépített" kontrollja is van az összehasonlításhoz: a napfénynek ki nem tett bőrterület. Egyúttal emlékeztetni kell ezen a helyen arra a további köznapi megfigyelésre is, hogy míg - akár nagyjából hasonló tavaszi „fehérség"-ből kiindulva és azonos insolatiót feltételezve is - egyesek nagyon gyorsan lebarnulnak, mások legfeljebb „leégnek", bőrük pigmentációja alig-alig fokozódik a napozás hatására. Ebből az adódik, hogy a genotípus befolyásolja az adott környezeti hatás effektusának mértékét.

---

[2] A bőrszín öröklődésének vizsgálata olyan populációban történt amelyekben nem voltak előítéletek a különböző színűek szabad párválasztásával szemben, azaz ebből a szempontból véletlenszerűnek tekinthető a házasodás. A bőrszín sötétségét a „fehér" és a „fekete" két szélső értéken és az ezek közé eső tónusokat úgy határozták meg, hogy gyorsan forgattak egy korongot, amelyen fehér és fekete szektorok különböző arányban váltakoztak egymással, és ehhez hasonlították a vizsgált személy napfény hatásának biztosan ki nem tett bőrfelülete színét. Az eredményt a korong fekete szektorai százalékos részarányában fejezték ki.

Ma már úgy tudjuk, hogy az itt leírt modell túlságosan egyszerűsítő[3]; kis egyedszámot felölelő tanulmányokon alapszik, ezért a statisztikai tesztek próbáját nem állja ki. Valószínűbb - egyebek között éppen az egyedileg különböző mértékű lebarnulás jelenségének vizsgálatából is -, hogy a sejtbiológiai és biokémiai rendszer sokkal bonyolultabb. Amerikai feketéken végzett mérési adatokat a modell alapján számított értékekkel összevetve adódott, hogy feltehetően 4-6 lokusz alléljei vesznek részt az emberi bőrszín meghatározásában. A sötétebb árnyalatért felelős allélek nagy betűvel való jelölése jogos abban az értelemben, hogy azoknak (vagy közülük egyeseknek) valóban van bizonyos fokú dominanciájuk. Ez utóbbi elv szerint, de az eredeti hipotézis jelölési rendszerénél maradva: az *AaBb* genotípusú egyén sötétebb színű lenne mint az *AAbb* vagy *aaBB*. (Ez megfelel a - különösen növényi genetikából ismert - heterózis hatásnak.) Ugyanakkor utalnunk kell itt arra is, hogy a normális pigmentáció kialakulásának alapmechanizmusai sem kellőképpen tisztázottak mind a mai napig. Ebben ugyanis - állítólag - több lokusz szerepel mint azok, amelyet az albinizmus kutatásából ismeretesek, és amelyek episztatikusak a poligénes rendszerrel szemben (l. 6. fejezet).

9.2. táblázat. *Davenport hipotézise a bőrszín génikus meghatározottságáról.* (a) Elméleti beosztás. (b) Mulatt házaspárok családvizsgálataiból kapott adatok. Itt a szülők minden esetben „tiszta fehér" és „tiszta fekete" egyén házasságából származtak.

a./

Reprezentatív genotípus	*A nagybetüs allélok száma*	*Fenotípus Feketeség %-a*	*Rövid leírása*
aa bb	0	0-11	Fehér
Aa bb	1	12-25	Világos
AA bb	2	26-40	Közepes
AA Bb	3	41-55	Sötét
AA BB	4	56-78	Fekete

b./

Gyermekek fenotípusa	*A gyermekek száma*	
	Megfigyelt	*Várt*
Fehér	3	2 (1/16)
Világos	10	8 (4/16)
Közepes	13	12 (6/16)
Sötét	5	8 (4/16)
Fekete	1	2 (1/16)
Összesen	**32**	**32 (16/16)**

Más poligénes rendszerek legújabb kori vizsgálata is azt az elvet látszik alátámasztani, hogy az azokban szereplő lokuszok nem feltétlenül additíven egyenértékűek, hanem egyes lokuszokon lehetnek olyan – domináns (?) – allélek, amelyek nagyobb befolyást gyakorolnak az adott jelleg kialakulására mint az egyéb résztvevő gének. Nem zárhatjuk

[3] A bőrszín meghatározásának modern eljárásai nem a fentebb leírt, meglehetősen egyszerű összehasonlítási módszert használják, hanem spektroszkópos analízist alkalmaznak.

ki (bár bizonyítani is nehéz) az egyes lokuszokon a különböző fokú többszörös alléliát a fenotípus mértékére eltérően ható génváltozatokkal, a génkölcsönhatások, kapcsoltság, episztázis, vagy a rendszerben szereplő maior gén és módosító gének hatását sem.

Vannak olyan jellegzetességek, amelyek első megközelítésben kifejezetten környezet által meghatározottaknak tűnnek. Ilyen pl. a fertőző betegségekben való elhalálozás. Dán kutatók azonban kimutatták egy retrospektív tanulmányban, hogy gyermekként adoptált személyek esetén a fertőző betegség által okozott halálozás nagyobb korrelációt mutatott a biológiai szülők infectio következtében történt elhalálozásával, mint az örökbefogadókéval, jóllehet a környezeti hatások sokkal inkább az utóbbiakkal mintsem a megelőzőekkel voltak közösek. Ebből arra a következtetésre jutottak, hogy a fertőzések iránti fogékonyságban alapvető szerepet játszik a génikus háttér. (Itt az immunrendszer működésének örökletes tényezőire kell gondolnunk.)

A Humán Genom Program (HGP) eredményei alapjaiban változtatták meg felfogásunkat a poligénes rendszerek minor génjeiről. Ezek megjelölésére bevezették a *„Quantitative Trait Locus"* (QTL) fogalmát. Kiderült ugyanis, hogy a humán genomban a gének száma jóval kisebb, mint azt korábban jósolták, és ezek között már nincs hely ún. „valódi" minor géneknek. Sokkal inkább arról van szó, hogy egy-egy poligénes jelleg génikus hátterét olyan lokuszok adják, amelyek alléljei ellátják a „szokásos" maior gén funkciójukat, és vagy ezek jelennek meg egy multifaktoriális meghatározottság keretei között több (sok) más génnyel együtt is, vagy a vonatkozó allélek pleiotróp hatásai (amelyek jelenlegi eszköztárunkkal ilyen értelemben még feltárhatatlanok). Mindazon lokuszok, amelyek egy-egy mennyiségi bélyeg kialakításában is részt kapnak, megfelelnek a QTL fogalmának.

Hogyan lehet megtalálni ezeket a géneket, ill. hogyan lehet az ismert lokuszokat hozzá rendelni egy-egy poligénes jelleghez? Pillanatnyilag még csak indirekt módon. Először azt vizsgálják, hogy az adott jelleghez milyen DNS polimorfizmusok rendelhetők, majd azt, hogy az így azonosítottak mely adott génekhez kapcsoltak.

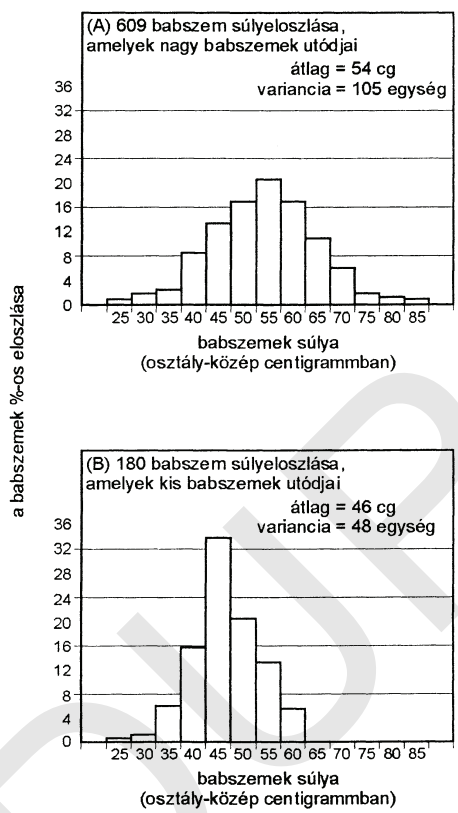
Ezen megfontolások a legkevésbé sem zárják ki, hogy ne csak a HGP által eddig azonosított gének játszhassanak szerepet egy-egy poligénes rendszer kialakításában, ami ilyen vagy olyan mennyiségi bélyeget, vagy küszöb tulajdonságot (l. alább) determinál. A HGP azonosítási technikája pillanatnyilag csak a fehérjekódot hordozó szekvenciákra terjed ki. Nincs okunk feltételezni, hogy ne fedeznének fel még számos olyan, szabályozó jellegű DNS-szakaszt, amelyek a QTL gének expressziójában (jelentős) szerepet játszhatnak, s mint ilyenek, jelennek meg majd minor génekként újonnan kialakuló genomképünkben.

Heritabilitás

Milyen módszerrel vizsgálható az örökletesség mértéke, más megfogalmazásban: hogyan közelíthető meg a génikus és a környezeti tényezők („nature and nurture") hatásosságának részaránya egy-egy jelleg kialakulásában? Ehhez először valamilyen matematikailag is megfogható formában kell leírni a vizsgált problémát. A

$$V_P = V_G + V_E$$

egyenlet azt fejezi ki, hogy a fenotípusos variabilitás a génikus és a környezeti hatásokból adódó variabilitás összege. A matematikai statisztika azonban a V-t pontosabban is meg tudja fogalmazni és ezáltal számszerűen meghatározhatóvá tenni: a variancia fogalmának bevezetésével. Ennek nagysága tulajdonképpen azt fejezi ki, hogy a vizsgált csoport tagjainak egymástól való különbözősége (*diverzitása*) milyen fokú. Minél szélesebb a mutatott értékek szóródása, vagy minél extrémebb egyedek is találhatók a vizsgált populációban, annál nagyobb a variancia értéke. Erre mutat be egy példát a 9.3. ábra. (A továbbiakat illetően a megfelelő biometriai tankönyvekre utalunk.)



9.3. ábra. *Példa a varianciára.* Babszemek súlyeloszlásának hisztogramja Johannen ma már klasszikusnak számító beltenyészéses kísérletéből. A vízszintes tengelyen az egyes (5 cg-ot átfedő) súly-osztályok középértékei vannak feltüntetve, a függőlegesen az egy-egy osztályba tartozó babszemek százalékos aránya. A nagyobb súlyú szülői generáció 55-65 cg-os babszemeket jelentett, a kisebb 15-25 cg-osakat. A variancia statisztikai módszerekkel számolható a feltüntetett adatokból (nem a két szélső érték különbségét, hanem a szórásnégyzetet jelenti!). A kisebb magokból származó populáció kisebb átlagértéket mutat, de az eltérés a másikhoz képest nem jelentős. Ugyanakkor ennek a csoportnak a varianciája jóval kisebb, ami nemcsak száítással mutatható ki, hanem a hisztogramból ránézésre megállapítható. Egy lehetséges magyarázat: a nagyobb szemsúlyt lehetővé tevő genotípus mellett jobban érvényesülhetnek a csökkentő hatású környezeti tényezők. Ugyanakkor optimális külső viszonyok mellett sem korlátlan a növekedés lehetősége, hanem többé-kevésbé az adott genotípusnak felel meg.

DUPLEX

A $V_P = V_G + V_E$ kifejezés elfogadása azonban annak hallgatólagos feltételezésén alapul, hogy a különböző környezeti tényezők azonos módon hatnak bármilyen genotípus mellett. Más megfogalmazásban az is mondható, hogy e kifejezés szerint a genotípusos és a környezeti variancia egymástól teljesen független. Nagyon könnyű azonban belátni, hogy ez korántsem igaz minden esetben, sőt...! Közismert pl. a dohányzás jelentősége a szív- és érrendszeri betegségekből adódó halálozásban. Gondos statisztikai elemzés kimutatta, hogy ennek a károsító környezeti tényezőnek a szerepe sokkal nagyobb az olyan esetekben, ahol a családi anamnézisben volt ischaemiás szívbetegség (pl. szívizom infarktus). Ugyanakkor kiderült az is, hogy a kardiovaszkuláris halálozási ráta sokkal nagyobb az ilyen személyekben, mint ha a dohányzás vagy a családi terheltség mint kockázati tényező külön-külön szerepelnek. Azaz nagyjából azonosnak tekinthető környezeti ártalom hatásossága függ a genotípustól.[4] Ma nem rendelkezünk még olyan módszerekkel, amelyek a különböző meghatározottságok és hatások egymástól függetlenített vizsgálatát tennék lehetővé.

A variabilitiás okai pontos definiálhatóságával kapcsolatos bizonytalanságok elfogadása mellett és ellenére – jobb megközelítés hiányában – a multifaktoriális jellegek öröklet esség ének kifejezésére szolgáló, ún. szélesebb értelmezésű heritabilitást (*broad sense heritability*: H_b) a következőképpen határozzák meg:

$$H_b = V_G/V_P$$

ami a fenti kifejezésből adódóan így írható le:

$$H_b = V_G/(V_G + V_E).$$

Tételezzük fel, hogy $V_G = 0$! Ekkor a H_b értéke 0, ami azt jelenti, hogy a vizsgált jelleg heritabilitása, öröklet essége nulla, minden változatosság, amit erre a bélyegre vonatkozóan az adott populáció tagjai között észlelhetünk, csakis a környezeti hatásokra vezethető vissza. Másik szélsőséges feltételezésünk legyen az, hogy $V_E = 0$! Ebben az esetben a $H_b = 1$. Minden változatosság, amit tapasztalunk, csakis és kizárólag a genotípusok különbözőségén alapszik, a jelleg kialakulását csakis génikus tényezők befolyásolják.

Példáink szerint a H_b értéke 0 és 1 közötti értékeket vehet fel. Nulla az öröklet esség értéke, ha a vizsgált jelleg kialakulásában génikus tényezők egyáltalán nem, hanem

---

[4] A genotípus és a környezet kovarianciájának példájaként szokták említeni a muzikális tehetséget mutató gyermekek speciális, magas színvonalú zenei képzést szolgáló iskoláztatását. Csak olyan gyermekeket irányítanak igen fiatalon konzervatóriumba vagy egyéni művészképzésre, akikben korán felfedezték a kiemelkedő képességet, ők viszont azután minden segítséget megkapnak tehetségük kibontakoztatásához olyan színvonalon, ami egy átlagos zeneiskolában vagy zenei középiskolában is teljesen ismeretlen.

csak környezeti hatások érvényesülnek, míg $H_b = 1$ esetén csakis a gének determinálják a látott fenotípust. A fent leírtak értelmében ezek a szélső értékek a valóságban, reális populációkban kifejezetten ritkaságként fordulnak elő, főleg a kizárólagos génikus meghatározottság, de elvileg természetesen ez sem kizárt. Hangsúlyozzuk, hogy itt és most a poligénes determinációjú jellegekről van szó! Természetesen van mód és lehetőség a monolokuszos meghatározottságú fenotípusok örökletessége mértékének meghatározására is, e helyen nem tárgyalt módszerekkel.

A szűkebb értelmezésű heritabilitás (narrow sense heritability: H_n) meghatározásánál (aminek az értéke természetesen ugyanúgy 0 és 1 között változhat) figyelemmel vannak arra az összefüggésre, ami a következőképpen írható le:

$$V_G = V_A + V_D + V_J,$$

ahol V_A az additív variancia, a V_D a domináns komponensre, míg a V_J az interakciókra (kölcsönhatásokra) utal. Ezek külön-külön való meghatározása embernél – mai eljárásainkkal – csak kivételes esetben lehetséges, így a szűkebb értelmezésű heritabilitás

$$H_n = V_A / V_P$$

kérdéseivel itt nem kívánunk foglalkozni. (Bizonyos esetekben az állat- ill. növénynemesítők nagy hasznát veszik a H_n meghatározásának, hiszen ez utalhat pl. a tartási ill. termesztési körülmények optimalizálásának szükségességére tovább már nem javítható genotípus mellett, stb.)

Kérdés ezek után, hogy az ember esetén milyen módszerrel szerezhetünk ismereteket egy-egy tulajdonság, mindenekelőtt az orvosi érdekességű jellegek örökletességéről, azaz a génikus és a környezeti tényezőknek az adott fenotípus kialakulásában játszott szerepe részarányáról.

Ikervizsgálatok

Közismert, hogy örökléstani tanulmányokra (a cito- és molekuláris genetikát kivéve) a *Homo sapiens* az egyik legalkalmatlanabb faj: nagyon hosszú a generációs ideje, kicsi az utódok száma, lehetetlen a genetika hagyományos kísérleti módszereinek alkalmazása, sőt az egyszerű megfigyelés és leírás is sok akadályba ütközik, nem is beszélve az elégségesen nagy számú minta összeállításáról. Az itt felsorolt és a nem is említett nehézségek miatt bizonyos vonatkozásokban a multifaktoriális meghatározottságú humán jellegek génikus hátterét illetően ismereteink talán még gyermekcipőben sem járnak.

PUPress

Legtöbb információval az eddigiekben az ikervizsgálatok szolgáltak, ezekről egy kissé bővebben kell szólnunk.

Az ikrek lehetnek egypetéjűek: egy petesejt és egy spermium egyesüléséből fejlődő ***monozigóta*** (***MZ***), ill. kétpetéjűek: két, egymástól független, de azonos időben bekövetkezett megtermékenyítésből származó ***dizigóta*** (***DZ***) párok. Mivel az MZ ikrek egyetlen zigóta kettéválása révén keletkeznek, genotípusuk tökéletesen azonos egymással. Ennek megfelelően mindig azonos neműek is. A DZ párok génjeikben csak annyira hasonlítanak egymáshoz, mint a közönséges, különböző időben született testvérek, így egyaránt lehetnek azonos és különböző neműek, statisztikai átlagban alléljeik fele egyezik meg az ikertestvérükével. Ami mégis alapvetően megkülönbözteti őket a nem egyszerre született testvérpároktól, az az igen nagyfokú környezeti azonosságuk. Már a fogantatás pillanatától pontosan ugyanabban a külső, *in utero* anyai környezetben fejlődnek, és posztnatális életüknek legalábbis az első szakaszában majdnem tökéletesen azonos hatások érik őket, azaz ebből a szempontból jól összevethetők az MZ ikrekkel.

Mindazon jellegeikben, amelyek egyértelműen és kizárólagosan génikus meghatározottságúak, az MZ ikertestvérek egymással megegyezőek, azaz ***konkordáns***ok. Ugyanezen jegyekre vonatkozóan a kétpetéjűek lehetnek azonos genotípusúak és úgyszintén konkordánsok, de lehetnek eltérőek is, azaz ***diszkordáns***ok. Ahol viszont a fenotípus kialakításában nagyobb szerephez jut a környezet, ott az egypetéjűek is mutathatnak diszkordanciát. Ebből a megfontolásból kiindulva vállalkozhatunk bizonyos multifaktoriális determinációjú humán jellegek heritabilitásának közelítő meghatározására ikervizsgálatok segítségével. Ezekhez természetesen csak az azonos nemű DZ párok adatai használhatók fel, csak azok informatívak! A konkordancia és diszkordancia alkalmasint könnyebben és egyértelműbben meghatározható lehet a varianciánál.

A tágabb értelmezésű heritabilitásra a fentiekben leírt képlet az ikervizsgálatokban a következő formában szerepeltethető:

$$H_b = \frac{V_G}{V_G + V_E} = \frac{(V_{DZ} - V_{MZ})}{(V_{DZ} - V_{MZ}) + V_{MZ}} = \frac{V_{DZ} - V_{MZ}}{V_{DZ}}$$

Az MZ ikrek varianciája – genotípusuk azonossága miatt – kizárólag a környezeti hatásokra vezethető vissza, ezért helyettesíthető ez a V_E helyére. Ugyanakkor a DZ párok varianciája két tényezőből származik, a környezeti megegyezik (legalábbis durva megközelítésben, l. a fentiekben említett problémákat) a monozigótákéval, a génikus ettől eltér, ennek megfelelően a V_G értékre ad jó közelítést a V_{DZ}-ből a V_{MZ} kivonása.

A variancia bizonyos esetekben relatíve jól kifejezhető, erre mutat be példát a 9.3. táblázat. Más esetben csak a konkordáns és diszkordáns párok megszámolása a járható út.

A fenti helyett ilyenkor a következő képletet használják:

$$H_b = \frac{\text{MZ konkordancia \%} - \text{DZ konkordancia \%}}{100 - \text{DZ konkordancia \%}}$$

9.3. táblázat *Ikrek és testvérek összehasonlítása három mennyiségi jellegben.* Az adatok mindenütt a páron belüli eltérések átlagát fejezik ki.

	MZ ikrek		*DZ ikrek*	*Testvérek*
	Együtt felnőttek (50 pár)	*Külön felnőttek (9 pár)*	*(50 pár)*	*(50 pár)*
Magasság	1.7 cm	1.8 cm	4.4 cm	4.5 cm
Súly	176 dkg	449 dkg	454 dkg	471 dkg
Stanford-Binet IQ	5.9	8.2	9.9	9.8

Értékes felismerésekhez juthatunk a külön nevelt egypetéjű ikrek adatainak feldolgozásával is. Ezekben az esetekben a teljesen azonos genotípus eltérő környezeti feltételek mellett létrehozott fenotípusos variációit figyelhetjük meg. (Értelemszerűen meglehetősen ritkák az ilyen párok az amúgy sem túl nagyszámú MZ-k között, hiszen örökbe adás, nevelőszülőkhöz kerülés esetén is igyekeznek az ikertestvéreket nem elválasztani egymástól.)

Sohasem szabad elfelejtenünk, hogy – a fentiekből, a reprezentatív ikerpárok számának igen alacsony voltából is következően – a humán ikervizsgálatokból meghatározott heritabilitási értékek megbízhatósága eléggé gyenge. Ennek fel- és elismerése azonban nem az elvetésüket, hanem a kritikus értékelésüket és használatukat kell jelentse. Eltérő környezeti feltételek esetén, más-más populációkban ugyanannak az örökletes jellegnek a ***H_b értékét*** nem ugyanannyinak fogjuk találni, ami tükrözheti a populációk génállománya közötti különbséget ugyanúgy, mint a gének kisebb vagy nagyobb szerepét a fenotípus meghatározásában eltérő feltételek mellett.

DUPress

A küszöb modell

Számos olyan humán kvalitatív bélyeget, pontosabban szólva kóros jelleget ismerünk, amelynek orvosi jelentősége nagy, örökletes volta nem kétséges, de génikus háttere nem közelíthető meg a mendeli genetika felől: a reprezentatív családfák sem az autoszomális, sem az X-hez kötött öröklésmenetet nem mutatják, akár domináns vagy recesszív, akár intermedier génhatással próbáljuk is megmagyarázni a génikus hátteret. Ezek családi ismétlődése alatta marad akár a monolokuszos domináns, akár a recesszív

9.4. táblázat *Példák olyan multifaktoriális eredetű rendellenességekre, amelyek kialakulása a küszöb-modell szerint magyarázható.* Zárójelben szerepel ha az adott rendellenességnek monolokuszos öröklődési formája is ismert. (AD= autoszomális domináns, AR= autoszomális recesszív). Az „izolált" kifejezés azt jelenti, hogy nem egy szindróma résztünetéről van szó.

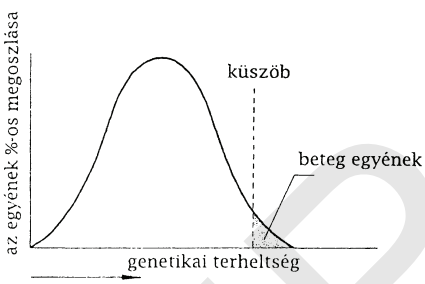
Gyakori izolált fejlődési rendellenességek	***Gyakori (elsősorban felnőttkori) krónikus betegségek (izolált előfordulás esetén)***
Cheiloschisis (nyúlajak)	Tüdő asztma
Cheilognathopalatoschisis (nyúlajak + farkastorok)	Epekő
Hernia diaphragmatica	*Coeliakia*
Hirschsprung-betegség (*megacolon congenitum, colon aganglionosis*)	*Colitis ulcerosa*
Hypospadiasis (AD)	Demencia
Oesophagus atresia (AD)	Depresszió
Szájpadláshasadék	*Diabetes mellitus*
Pylorus stenosis (AD,AR)	Epilepszia
Talipes (dongaláb, AD)	Glaukóma
Veleszületett csípődysplasia (AD)	Pajzsmirigy túltengés
Veleszületett szívbetegségek (AD, AR)	Magas vérnyomás betegség
Velőcsőzáródási rendelleneségek	Isémiás szívbetegség
Anencephalia ± spina bifida	Lepra (fogékonyság a betegség iránt)
Spina bifida ± hydrocephalus	*Psoriasis* (AD)
Encephalokele	*Psychosis maniacodepressiva*
	Reumás ízületi gulladás (AD)
	Szkizofrénia (AD)
	Sclerosis multiplex (AD,AR)
	Behtyerev kór (AD)
	Tüdőbaj (fogékonyság a betegség iránt)
	Gyomorfekély

öröklésmenet által kikövetkeztethetőnek, és a csökkent vagy változó penetrancia feltételezése sem ad kielégítő magyarázatot az ismétlődési kockázatukra. Ugyanakkor az egy

DUPress

családon belüli előfordulási valószínűség messze meghaladja a másokban meghatározható gyakoriságot, akkor is, ha nagyjából azonos környezeti feltételek között élő családokat hasonlítunk össze egymással. Ilyenek pl. a hipertónia betegség, a dongaláb, nyitott gerinc, anencephalia, stb. (l. 9.4. táblázat), amelyek tipikusan vagy megvannak valakiben, vagy nem. Ezek örökletes meghatározottságának magyarázatára született meg a poligénes additív génhatási hipotézis módosítása, amelyet ***küszöb modell***ként ismerünk.

Ez abból indul ki, hogy a jelleget alapvetően ebben az esetben is egy poligénes rendszer minor génjei befolyásolják, amelyek additív módon fejtik ki hatásukat, de ez a fenotípus csak egy bizonyos ***küszöbérték*** (az angol nyelvű szakirodalomban: *threshold*) felett nyilvánul meg. Ezeket az alléleket hajlamosító vagy ***rizikó gén***eknek nevezik, és minél több van belőlük a genotípusban, annál nagyobb a fenotípusos megjelenésük valószínűsége. Hogy a manifesztációs küszöb hol van, azt végső soron külső és belső környezeti tényezők határozzák meg, individuálisan. A modellt a 9.4. ábra mutatja be.



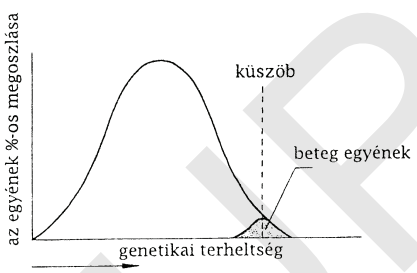
9.4. ábra. *A küszöb-modell egyszerűsített magyarázata.* Ezt az egyszerűsített ábrázolást azért mutatjuk be, mert az alábbiakban néhány bonyolultabb összefüggést ugyanezzel a módszerrel igyekszünk megvilágítani. A valóságot az 9.5. ábrán bemutatott modell közelíti meg inkább.

Vegyük példának az emberi vérnyomást! Egyszerűsítésül feledkezzünk meg most annak szakszerű meghatározásáról, a szisztólés és diasztólés nyomásról! Ha elég sok ember „átlagos" vérnyomását mérjük meg és tüntetjük fel az értékeket grafikus formában, a Gauss szerinti eloszláshoz meglehetősen közeli görbét fogunk kapni. Ez megfelel az additív génhatás fentebb leírt modelljének. Ugyanakkor klinikai tapasztalatok alapján megállapítható – meglehetősen önkényesen, de a szakértők széles köre által elfogadottan – egy olyan érték, ami alatt még normálisnak tekinthető a vérnyomás, ám fölötte már hipertóniáról beszélünk. (Egyszerűsített példánkban eltekinthetünk az alacsony vérnyomás, a hipotónia vizsgálatától is.) A hipertónia pedig betegség, tehát egy mérhető és kontinuus eloszlást mutató jelleg alapján az emberiség két részre osztható: magasvérnyomás betegségben szenvedőkre és nem hipertóniásokra. Azaz a folytonos eloszláson belül kiragadtunk egy értéket, mint küszöböt, és azt mondtuk, hogy akiknek a tenziója azt meghaladja, azok betegek, azokat megfelelő gyógyszerekkel kezelni kell, mert ha ezt

DUPress

elmulasztjuk, végzetes komplikációk léphetnek fel: szív-, veseelégtelenség, agyvérzés, szívinfarktus, stb.

Példánkban az említetteken kívül még számos további egyszerűsítést is tettünk. Tulajdonképpen csak az ún. *essentialis hypertonia*-ról beszéltünk, bár a magas vérnyomásnak vannak egyéb okai is. Ugyanakkor lehetőségünk nyílott a folytonos eloszlású alap és az arra helyezett „küszöb" viszonyának bemutatására. Mindennapi tapasztalataink arra tanítanak, hogy nem szabad ezt a küszöböt valamilyen módon fetisizálni vagy abszolutizálni. Sokkal inkább arról van itt szó, hogy az ún. génikus terheltség, a kóros vagy rizikó-gének száma egy bizonyos határ környékén már hajlamosít a betegség kialakulására, de a kórállapot létrejöttében tudott (vagy még nem azonosított) környezeti hatások is alapvető szerepet játszanak. Ebben a vonatkozásban közismert, hogy a feszült idegállapotot, stresszt fenntartó környezet jelentős vérnyomás emelő, a hipertónia inkább a túlhajszolt menedzserek mintsem a szemlélődő szántóvetők vagy erdészek betegsége. Így helyesebb a 9.4. ábrán bemutatott modellt módosítanunk, a valósághoz nyilván a 9.5. ábrán bemutatott helyzet áll közelebb. Természetesen, ha valakiben a génikus terheltség jelentősen meghaladja a küszöböt, környezeti hatásoktól függetlenül is kialakulhat a betegség.



9.5. ábra. *A küszöb-modell vázlata.* Az elvi manifesztációs küszöb körüli genotípusos rizikót hordozó egyének a környezeti hatások függvényében lesznek ténylegesen jelleghordozók, ami azt jelenti, hogy a kevéssel a küszöb elvi határa alatt maradókban is megfelelő hajlamosító, provokáló tényezők létrehozhatják a betegséget.

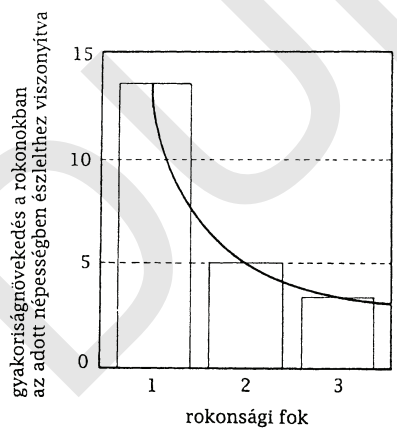
Más diszkontinuus eloszlást mutató kórállapotok, mindenekelőtt számos izolált fejlődési rendellenesség (l. 9.4. táblázat[5]) öröklődésének magyarázatára kiválóan alkalmasnak bizonyult a küszöb modell, jóllehet első megközelítésben nem látható meg minden esetben az a mennyiségi tényező, amely egy bizonyos határon minőségi változásba

[5] Azért hangsúlyozzuk az izolált jelzőt, mert nagyon sok fejlődési rendellenesség megjelenik összetett kórformákban, szindrómákban is, ahol az oki tényezőt nem, vagy legalábbis nem elsősorban a poligénes rendszer terheltségében kell keresnünk. Nyúlajak + farkastorok jellemző tünete pl. a 13-as kromoszóma triszómiájának, a Pätau szindrómának (ahol egyébként feltételezhetjük, hogy az extra kromoszóma jelenléte miatt az érintett rendszerbe tartozó gének is nagyobb számban és/vagy kiegyensúlyozatlan összetételben szerepelnek a genotípusban), de leírták autoszomális recesszív kórképhez társultan is (Váradi-Papp szindróma).

csaphatna át. Nyúlajaknál pl. azt tételezik fel, hogy a fejlődés a megkívántnál lassúbb, a medialis orrnyúlvány horogszerűen oldalra nyúló része és a felső állcsonti nyúlvány a szokásos összenövési idejében (ami az embrionális fejlődés 5-8. hetében esedékes) nem éri el egymást és nem forr össze. Utólag pedig, az arc szélesedésével erre már nem is nyílik lehetőség. (E helyen természetesen nem lehet feladatunk az egész fejlődéstani kérdéskör áttekintése, sem a lehetséges patológiás állapotoké. Nem ritka genetika tankönyvekben a nyúlajak és a farkastorok együtt említése, mivel igen gyakran valóban kombinálódnak, és ez a súlyosabb kórformát jelenti.)

Ikervizsgálatok is alátámasztják a szóban forgó rendellenességek poligénes meghatározottsági komponensét, egyben jelezve a környezeti faktorok nem elhanyagolható voltát is. Pl. egy statisztikai felmérés szerint a nyúlajak/farkastorok rendellenességben a DZ konkordancia 5%, míg ugyanez az MZ párokra 35%; szkizofrénia esetén DZ ikreknél 15%, míg MZ testvérekre 45% konkordanciát találtak. Figyeljük meg: a monozigóták között is több a diszkordáns pár mint a konkordáns, de az utóbbiak gyakorisága még így is hét-, ill. háromszorosa a dizigótákra kapott értéknek.

Mint fentebb már említettük, az itt tárgyalt kóros jellegekre vonatkozóan családvizsgálatokban nem sikerült a monolokuszos rendellenességekhez hasonló nagyságrendű előfordulást igazolni. Statisztikai tanulmányok viszont egyértelműen kimutatták bizonyos családok fokozott kockázatát egy-egy fejlődési rendellenesség, vagy a multifaktoriális determináció körébe tartozó szív és érrendszeri megbetegedés, szkizofrénia, stb. ismétlődésére. Ilyen esetekben szokásos, hogy nem az abszolút előfordulási gyakoriságot adják meg, hanem a tanulmányozott család tagjainak kockázatát a populációs átlaghoz viszonyítva. Erre mutat be példát a 9.6. ábra.

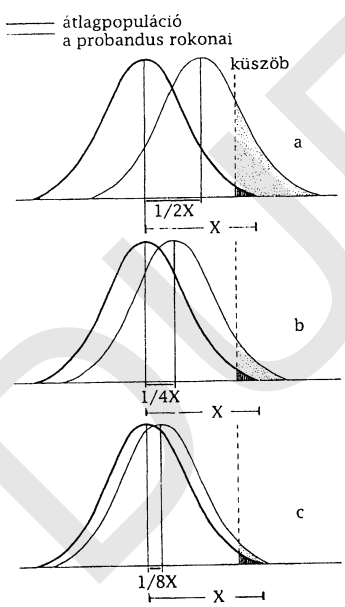


9.6. ábra. *Egy küszöb-modellel leírható örökletességű jelleg ismétlődési kockázata a közeli rokonok körében.* Elsőfokú rokonok: szülő, testvér, gyermek; bennük a közös gének aránya 1/2. (Ez a szülő és gyermek esetén biztosan igaz, testvéreknél [és távolabbi rokonoknál] csak valószínűségi érték [vagy statisztikai átlag]). Másodfokú rokonok: Nagyszülő, unoka, nagybácsi és nagynéni (szülő testvére), unokaöcs és unokahúg (testvér gyermeke), féltestvér. A közös gének aránya 1/4. Harmadfokú rokonok: dédszülő, dédunoka, első unokatestvér (szülő édestestvérének a gyermeke); a velük közös gének aránya 1/8. Látható az ábrából, hogy a kockázati tényező csökkenése a rokonsági fok függvényében nem azonos az ún. «családi közös génállomány" arányának változásával. Ennek magyarázatát l. a 9.7. ábrán.

DUPress

Hogyan értelmezhetők ezek az adatok a poligénes modell elfogadása esetén? Ha a *probandus* egy adott rendellenességben szenvedő személy, kóros génjeit csak olyan szülőktől örökölhette, akikben a küszöbértékhez meglehetősen közeli a génikus terheltség (vagy esetleg valamelyikük úgyszintén jelleghordozó), ami jelentősen felülmúlja (felülmúlhatja) ezeknek a kóros alléleknek a populációs átlag-gyakoriságát. A *probandus* testvérének a népességre jellemzőhöz képest jelentősen fokozott a kockázata, hiszen ugyanazon szülői génállományból származnak az ő génjei is, nem csekély tehát az esélye a küszöb elérésére[6]. Ugyanakkor ez az esély eléggé jelentősen elmarad pl. egy autoszomális recesszív kórkép 1/4-es ismétlődési kockázatától egy később születendő testvérben. (Ha mondjuk a példánkban meg nem nevezett rendellenesség populációs előfordulási gyakorisága 1/1000, akkor egy 15-szörös rizikó-növekedés még mindig csak 15/1000 valószínűségi esély, míg az 1/4 közös nevezőre hozva 250/1000-et jelent!) A másod- és harmadfokú rokonok is jelentős arányban részesülnek még az ún, „családi közös gének"-ből, de mivel nekik – elméletileg és átlagosan – csak génjeik 1/4-e ill. 1/8-a közös a probandussal, a küszöb elérésének esélye számukra jelentősen kisebb. Mindezen, génekre vonatkozó megfontolások mellett ne feledkezzünk meg a környezet esetleges provokáló szerepéről sem, ami egy adott család tagjait illetően lehet rendkívül hasonló vagy azonos is, és szerepét nem szabad alábecsülni a genotípus expressziójának meghatározásában.

A *probandus* első-, másod- és harmadfokú rokonai genetikai terheltségének elméleti eloszlási görbéit mutatja be a 9.7. ábra, annak illusztrálására, hogy a közvetlen rokonokban hogyan nő meg a küszöb átlépésének kockázata.



9.7. ábra. *Egy küszöb-modellel leírható örökletességű jelleg ismétlődési kockázata a közeli rokonok körében.* Jelölés a 9.4. ábrán alkalmazottak szerint. Görbe alatti területek: függőlegesen vonalkázott = jelleghordozók a népességben; pontozott = jelleghordozók a probandus megfelelő fokú rokonai között. a: első-, b: másod-, c: harmadfokú rokonok. A génikus terheltség görbéje szerinti átlag a családi közös gének arányában tolódik el a rokonokban a populációstól a probandus értékének irányában. Így a küszöbön – a normál eloszlásnak megfelelően – nem kétszer, hanem többször annyian jutnak túl az első- mint a másodfokú rokonokban.

[6] Ne felejtsük azonban, hogy nagyobb a valószínűsége a küszöb alatt maradásnak.

Minél kisebb egy rendellenesség populációs gyakorisága, annál nagyobb az érintett személy közvetlen rokonainak kockázat-növekedése a népességi átlaghoz viszonyítva. Ezt azzal magyarázzuk, hogy a rizikó-gének alacsony génfrekvenciája a populációban csak ritkán eredményez akkora koncentrációt egy-egy egyénben, ami a fenotípusos megjelenéshez szükséges, ha viszont valaki elérte a küszöbértéket, ez annak a jele, hogy családjában felhalmozódtak ezek az allélek, másban is manifesztálódhat a jelleg, ami az igen alacsony gyakorisági háttérhez viszonyítva (tehát nem abszolút számokban!) jelentkezik relatíve nagyobb kockázatként. Értelemszerűen e tétel megfordítása is igaz: nagy populációs gyakoriságú rendellenességek esetén a közvetlen rokonoknak a népesség átlagához viszonyított kockázat-növekedésének aránya kisebb.

Sikeresnek bizonyult a küszöb modell bizonyos további jellegzetességek megmagyarázásában is. Ismeretes több olyan multifaktoriális determinációjúnak tartható rendellenesség, amely az egyik nemben sokkal gyakoribb mint a másikban. (pl. csípőficam lányokban, *pylorus stenosis* fiúkban stb.) Ezekkel kapcsolatosan megfigyelték, hogy a ritkábban érintett nembe tartozó probandusok elsőfokú rokonainak akkor nagyobb a kockázata, ha ellenkező neműek (l. 9.5. táblázat). Ennek a jelenségnek a magyarázatát a 9.8. ábrából érthetjük meg.

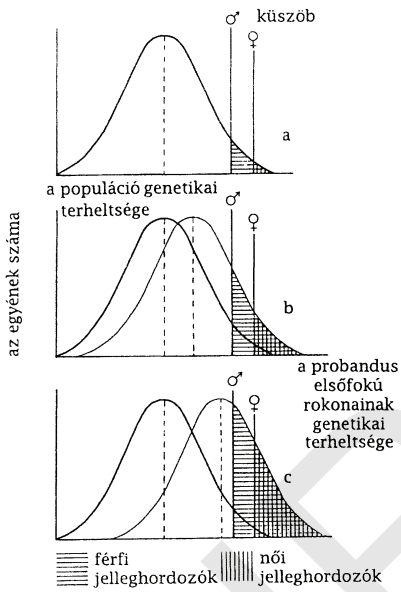
9.5. táblázat *Pylorus stenosis előfordulási gyakorisága a szülők ill. gyermekek nemének függvényében.*

	Gyermekek	
Probandus	fiú %	leány %
Apa	5.5	2.4
Anya	19.4	7.3
Populációs gyakoriság	0.5	0.1

A küszöb modellhez kapcsolódó új felismerések

Súlyos veleszületett fejlődési rendellenesség a *spina bifida* (nyitott v. hasadt gerinc), ami a VZR (velőcsőzáródási rendellenességek – helyesebben talán idegcső defektusok [*neural tube defects*]) körébe tartozik. Előfordulási gyakorisága eléggé magas (volt) ahhoz, hogy aggodalmat, félelmet keltsen azon terhes anyákban, akik családi anam-

nézisében ilyennel sújtott gyermek szerepelt. A prenatalis genetikai diagnosztika kidolgozása (ultrahang vizsgálat, AFP[1] szint meghatározás az anyai vérben) jelentősen csökkentette az ilyen rendellenességben szenvedő újszülöttek számát, de csakis művi terhességmegszakítás árán. Óriási áttörés volt ezek után az a felismerés, hogy fólsav adagolásával az esetek jelentős száma – mintegy 70%-a – megelőzhető.



9.8. ábra. *Nemi különbségek multifaktoriális kóreredetű rendellenességekben.* (A jelölési rendszer megegyezik a 9.4. ábránál alkalmazottal.) Alacsonyabb a küszöbérték a férfiakban, ezért körükben több a manifeszt kórforma (a). Az alacsonyabb küszöbű nembe tartozó jelleghordozók elsőfokú rokonainak átlagos génikus terheltsége kevésbé tér el a populációétól, mint a magasabb küszöbű nők rokonaié (b), ezért az utóbbiak között nagyobb az ismétlődés kockázata mint a gyakrabban érintett nembe tartozóké körében (c).

A vizsgálatok kiderítették, hogy a homocisztein → metionin átalakulásban kulcsfontosságú enzim (a metilén-tetrahidrofolát reduktáz) egy olyan, SNP (C677T) által determinált variánsáról (Arg223Val aminosavcsere) van szó, amely hőérzékeny (így aktivitása csökkent). Ha viszont a környezetében a szokásosnál nagyobb koncentrációban van a folát (ami a fólsavból keletkezik), ennek stabilizáló hatása van erre a fehérjére. Azaz ez a SNP (ejtsd: sznip) génikus hajlamosító tényező a *spina bifida* kialakulásában. (Ha homozigóta formában van meg az anyai genotípusban [és akkor természetesen megvan a magzatban is], az nagyobb kockázatot jelent, mint ha csak az anya heterozigóta. Természetesen nem maga az enzimvariáns, hanem a funkciócsökkenés miatt megnövekedett homocisztein szint a kóroki tényező. Ez az aminosav más betegségek kialakulásában is szerepet játszik.)

[1] α-foetoprotein. Mint neve is mutatja, magzati eredetű fehérje. Szintje jelentősen megemelkedik az anyai vérszérumban VZR és néhány egyéb magzati rendellenesség esetén.

A példa rámutat a genotípus – környezeti hatás összefüggésre is: a fólsav igencsak változó mennyiségben szerepel normál táplálkozásunkban. Akik a téli időszakban is sok friss zöldséget fogyasztanak (= tudnak fogyasztani, mert meg tudják fizetni), kisebb kockázatnak vannak kitéve a rendellenességes gyermek születését illetően. Ebből a felismerésből kiindulva vezették be a fólsav prevenciót számos országban: egyrészt az ún. magzatvédő vitamin kezelés keretében (amit a terhesség tervezett ideje előtt már három hónappal szedni kell), ami hazánkban is rendelkezésre áll, másrészt a kenyér (ill. liszt) fólsavas dúsításának kötelező előírásával (USA, Kanada, Nagy-Britannia, stb.). Ilyen kenyér Magyarországon is hozzáférhető.

A fólsav célszerű adagolása – mint említettük – mintegy 70%-kal csökkentette a nyitott gerinccel születettek számát, ahol ezt széles körűen bevezették. Ugyanakkor a maradék 30% keletkezése megelőzésének kérdése továbbra is megoldatlan, itt továbbra is a prenatális genetikai diagnosztika utáni művi terhességmegszakítás (orvosi indokból!) az egyetlen járható út. Ez egyben azt is jelenti, hogy a *spina bifida*-t változatlanul olyan multifaktoriális rendellenességnek kell tekintenünk, amelynek kóroki tényezői közül még több ismeretlen maradt.

Az emberi viselkedés genetikája

Újabban az angolszász szakirodalom a kvantitatív jellegek öröklődésével egy fejezetben szokta tárgyalni az emberi viselkedés bizonyos aspektusainak genetikai alapjait, különös tekintettel arra (is), hogy ide sorolják az értelmi képességek génikus meghatározottságának kérdéskörét. Sőt, alkalmasint a poligénes öröklődés bemutatása kerül a *„Behavioral traits"* fejezetcím alá.

Rendkívül érzékeny problémakörről van szó, hiszen emberi mivoltunk talán legfontosabb jellemzői ismételten kerülnek túlzó álláspontot képviselők vitáinak a homlokterébe, ahol az egyik fél a génikus determinációra, a másik pedig a környezet mindenhatóságára esküszik. Addig, amíg mondjuk „csak" a dohányzás vagy nem-dohányzás problémaköre okoz ellentéteket, a vita könnyen megtartható a tudományos folyóiratok hasábjain és zártkörű fórumok falai között. Mihelyt azonban arról esik szó, hogy értelmi képességeiket (avagy pozitív, netán negatív emberi adottságaikat) illetően az egyes rasszok (és alrasszok) egyenértékűek-e vagy sem, a vita gyakran kikerül a higgadt tudományos megközelítés keretei közül a napisajtó hasábjaira, átlép politikai síkra, társadalomszociológiai ellentmondások tárgyává válik, és rossz esetben utcai randalírozásokban folytatódik. Olyan „tudományos" megállapításoknak, amelyek szerint pl. bizonyos nép-

csoportok génikusan kódoltan tolvajok (a tolvaj itt még néhány más kriminális tulajdonsággal behelyettesíthető, pillanatnyi igények és elfogultságok szerint), fatális következményei lehetnek, nemcsak az érintett népességbe tartozókra, de az egész társadalom békéjére, biztonságára is.

Növeli a probléma nagyságát, hogy megfelelően alátámasztott, kiérlelt, meggyőző, széles körben elfogadott tudományos magyarázatokkal egyelőre nem rendelkezünk. Maguk a vizsgálómódszerek is rendkívül szubjektívek sok esetben, objektív, esetleg matematikai értékelés szinte csak kivételképpen létezik ezen a területen. Jelenleg csak azt tehetjük, hogy egyfelől elfogadjuk tudásunk és ismereteink erősen korlátolt voltát, másfelől megpróbálunk higgadt, az objektivitás igényével fellépő vizsgálatok eredményeiből nagyon mértéktartó és a józan kritika próbáját álló következtetéseket levonni, túlzások és túlértékelések nélkül.

A viselkedés egyik meghatározása: amit az emberek tesznek és ahogyan teszik azt. Ez így nagyon egyszerű, de ha belegondolunk abba a rendkívül bonyolult szerveződésű és működésű rendszernek, az idegi és hormonális szabályozásnak akárcsak a már ma ismert részleteibe, nem nehéz arra a felismerésre jutni: csak a külvilág fizikai ingereire adott válaszaink, annak génikus háttere is rendkívül komplex kell legyen, és ez viselkedésünknek csak egy, meglehetősen kicsiny szelete.

Ismeretes olyan viselkedési rendellenesség, amely monolokuszos és génjét, sőt az ez által meghatározott biokémiai zavart is azonosították már. Ez a Lesch-Nyhan szindróma, amely X-hez kötött recesszív betegség. A vad típusú allél a HGPRT (hipoxantin-guanin-foszforibozil-transzferáz) enzimet kódolja, ami a purin anyagcserében játszik alapvető szerepet (l. 6. fejezet ill. biokémia). Hogy ennek a mutáció következtében létrejövő hiánya hogyan okoz a hemizigóta fiúkban autoagressziót (öncsonkítást, ami az ajkaik és ujjaik súlyos sérülésével járó harapdálásából áll elsősorban) és még egy sor egyéb kóros elváltozást, az mindmáig felderítetlen.

Több példa van arra, hogy egy betegség kórokilag heterogénnek bizonyul. (Ilyenkor természetesen megkérdőjelezhető, hogy egy és ugyanazon kórképről van-e szó egyáltalán, de ennek tárgyalása nem e fejezet feladata. A modern medicinában igen sok esetben éppen a genetikai vizsgálatok mutatták ki, hogy egy-egy betegségnek mint entitásnak [önálló egységnek] a meghatározása korábban helytelen volt. Általánosságban megállapíthatjuk, hogy ha a genetikai analízis oki alapon – és nem a klinikai kép szerint – feloszt egy korábban egységesnek vélt betegséget több kórformára, annak nem a szétválasztás ténye maga, hanem a megbízhatóbb, pontosabb diagnózis, a helyes kezelési mód meghatározása és esetleg a megelőzés szempontjából van nagy jelentősége.) Ilyen a viselkedési rendellenességek között a *psychosis maniaco-depressiva.* Egy ámis populációban (l. 20. fejezet) ennek *maior* génjét (aminek 30 éves korra a penetranciáját 60%-osnak találták) azonosították és a 11-es kromoszómára lokalizálták. Sikerült egy hasonló hatású gént kimutatni egy izraeli populációban is, de ez X kromoszómához kötöttnek bizonyult, azaz nem azonos a 11-esen levővel. Más népességekben viszont sem ezt, sem azt a gént nem

tudták azonosítani a *psychosis maniaco-depressiva*-ban szenvedőkben. Vannak vélemények, amelyek szerint ez a kórkép is tulajdonképpen több lokusz kontrollja allatt áll.

Láttunk a fentiekben egy példát, amely szerint a szkizofrénia konkordanciaját MZ ikrekben 45%-osnak találták. Ugyanakkor más szerzők azt találták, hogy az 5-ös kromoszóma hosszú karján van egy domináns gén, ami szkizofréniára hajlamosít brit és izlandi családokban. Utánvizsgálók ezt a gént svéd betegekben nem találták meg. A hivatkozott konkordancia érték multifaktoriális determináltság mellett szól, hiszen egyetlen domináns allél esetén minden MZ párnak konkordánsnak kellene lennie a betegségre. Azonban ez a sarkos megfogalmazás is sántít valamelyest, mert a gén expresszivitása eltérő környezeti feltételek mellett lehet különböző. Erről természetesen nem megfeledkezve, mégis igen kevéssé tartható valószínűnek, hogy a szkizofrénia monolokuszos és nem pedig poligénes hátterű elmebetegség lenne.

Számos egyéb viselkedési rendellenességet írtak le, amelyekben monolokuszos meghatározottság, vagy legalábbis egy maior gén kiemelt szerepe vélelmezhető mint génikus háttér a családi halmozódásban.

> Ismeretesek bizonyos kromoszóma-rendellenességekhez társuló – nem minden esetben feltétlenül kóros vagy a közfelfogás által abnormálisnak tartott – viselkedési minták is. Utalunk itt pl. a Down szindrómások olyan általános személyiségi jegyeire, mint a barátságosság, jovialitás, zeneszeretet, stb. Meglehetősen jellemző a Turner szindrómások viselkedése is. (Emlékeztetünk arra, hogy már a mikroszkóppal látható strukturális kromoszóma-aberrációk esetén is számos gén érintett a rendellenességben, az aneuploidiákra ez – értelemszerűen – fokozottan igaz.)

A társadalmi beilleszkedés különféle zavaraiban is kimutathatók génikus komponensek. Súlyos társadalmi problémát jelent manapság az alkohol- ill. kábítószer-függőség kialakulása. Ezek egyszerre járnak az értelmi funkciók – valamint a fizikai állapot – leromlásával, és a viselkedés aszociális vagy egyenesen antiszociális megváltozásával. Könnyű lenne azt mondani például, hogy az egyik vagy a másik kifejezetten környezeti hatásra alakul ki: családi vagy egyéb társadalmi körben látott minták követése, stb. Az okok minden bizonnyal jóval bonyolultabbak.

> E helyen csak a genetikai megfontolásokból ismertetünk néhányat. Az alkoholizmusra vonatkozóan több tanulmány is megerősítette: kisgyermek korban, nem rokoni körben, nem részeges családok által örökbefogadottak között egyértelmű volt a biológiai szülő hatása későbbi alkoholizálásuk kialakulásában. Még olyan összefüggés is körvonalazódott, hogy minél nagyobb fokban volt alkoholista a biológiai szülő (tipikusan az apa), annál nagyobb volt a valószínűsége az alkoholizmus megismétlődésének utódában. Ikervizsgálatok is utalnak az alkoholizmus bizonyos fokú örökletességére. A végső szó kimondása e súlyos problémakörben még nyilván sokáig várat magára. A sok felvetés közül itt csak arra térünk ki, amelyik az aldehid-dehidrogenáz (monolokuszos determináltságú) esetleges jelentőségét vizsgálja. Az etanolt az alkohol-dehidrogenáz acetaldehiddé, majd ezt az említett enzim acetáttá oxidálja. Alacsony aldehid-dehidrogenáz

aktivitás mellett (ami pl. a keleti népekre eléggé általánosan jellemző) az alkoholfogyasztás kellemetlen melléktünetei kerülnek előtérbe az enyhébb (vagy súlyosabb) aldehidmérgezés következtében. Ez az anyagcseretípus tehát nem kedvez az alkohol-függőség kialakulásának.

Értelmi képességek öröklődése, az intelligencia mérése

Ahhoz, hogy valaminek az öröklődését vizsgáljuk, mindenekelőtt definiálnunk kell a jelleget, amelyről szó van. Egyértelmű, szabatos, jól elhatároló meghatározás nélkül azt sem tudhatjuk, miről beszélünk. Pontosabban: nem lehetünk biztosak afelől, hogy az adott fogalmon mindenki ténylegesen ugyanazt érti, mint mi. Az „értelmi képességek" tartalmi meghatározása mind a mai napig nem nyert egyértelmű megfogalmazást. Ide érthetjük azt is, hogy gyakran ezzel azonos értelemben használják az „intelligencia" és a „szellemi képességek" kifejezéseket. Angol nyelvű tankönyvek meglehetősen következetesen „intelligence"-ről (és annak génikus meghatározottságáról) szólnak. Tájékoztatásul idézzük az e tárgykörben legautentikusabbnak tekinthető Biológiai Lexikon (Akadémiai Kiadó, Budapest) szócikkeit.

Intelligencia [lat.]: a modern lélektan szerint egyéni sajátosság; *meglévő* ismeretek alkalmazási képessége új, ismeretlen körülmények között, újonnan felmerülő problémák megoldásában. Az ~ összetett: magában foglalja a helyzetfelismerő és -értékelő, a megszerzett ismereteket és tapasztalatokat mozgósító és alkalmazó képességet. Az ~ fogalma nem tartalmazza ezek szerint az ismeretek megszerzésére és megtartására való képességet (→*szellemi képességek*), jóllehet ezeken alapszik: tudáson és készségeken. Az ~ alapvetően → *genotípus*osan determinált, multifaktoriális öröklődésű tulajdonság, amelyet azonban a kedvező v. kedvezőtlen környezeti tényezők erőteljesen befolyásolnak (pl. oktatás, nevelés, a szellemi szférát érintő behatások: betegségek, alkoholizmus, stb.). A *szellemi tehetség* (zsenialitás) ugyancsak az ~ fogalomkörébe tartozó, multifaktoriális öröklődésű kiemelkedő képességet jelent. Pl. a *matematikai készség öröklődése* családi adatokból (pl. *Bernoulliak*, *Bolyaiak*) és ikervizsgálatokból ismert. Kifejlődésében természetesen környezeti tényezők is szerepet játszanak. Nem minden különleges szellemi képesség öröklődik, s ezek nem is sorolhatók az ~n alapuló készségek körébe.

Szellemi képességek: általában az ismeretek megszerzésére és megtartására vonatkozó képességek, mechanikus reprodukálással. (A különböző ismeretek célszerű, új körülményekhez alkalmazkodó felhasználási készsége már az →*intelligencia* körébe tartozik. Ugyanide sorolandók a különleges szellemi tehetségek.) A ~ öröklődése multifaktoriális meghatározottságú, mint ilyen, az egyedek szellemi képessége a népességben normál eloszlási görbét ad. Az öröklött adottságok kifejlődését erősen befolyásolják a többi gének: nagyon sok örökletes betegség, →*kromoszóma-rendellenesség* jár csökkent szellemi képességgel (→*gyengeelméjűség*). Az öröklött adottságok kifejlődését befolyásolják a környezeti hatások is: a nevelés, tanulás, gyakorlás, optimális táplálkozás, betegség stb.

Egy modern angol nyelvű tankönyvben az alábbi megfogalmazást olvashatjuk:

All of us have a general idea of the meaning of intelligence (a dictionary synonym is "mental acuteness") by which we sometimes judge ourselves and others. Most psychologists emphasize abstract reasoning ability, which includes thinking rationally, solving problems, understanding the basics of a complex situation, and responding effectively to new environments. These meanings are sufficiently broad and applicable to such a wide variety of human endeavors that no obvious yardstick for measuring intelligence immediately presents itself.

Wechsler szerint: „az intelligencia az egyénnek az az összesített vagy globális képessége, amely lehetővé teszi, hogy célszerűen cselekedjék, hogy racionálisan gondolkodjék, és eredményesen bánjék környezetével".

Akármelyik megközelítést választjuk is a fentiek közül (amelyek egyébként nem állnak messze egymástól), az mindenképpen nyilvánvaló, hogy nehéz azokat a kritériumokat megfogalmazni, amelyek alapján az intelligencia – vagy a „szellemi képességek" megjelölésű fogalomba tartozó adottságok – mérhető(k). Elsőként Binet és munkatársai 1904-ben dolgoztak ki módszert azoknak a gyengébb képességű gyermekeknek a kiszűrésére, akik speciális iskoláztatásra szorulnak. A Binet teszt verbális, numerikus és képi problémák megoldása elé állítja a vizsgált gyermeket, aki egyre nehezebb és nehezebb feladatokat kap.

Ma ennek a módszernek egy továbbfejlesztett változatát használják, a Stanford-Binet tesztet, valamint ismeretesek más eljárások is az értelmi képességek általános vagy egy-egy szűkebb területének felmérésére.

A Stanford-Binet (és néhány más) teszt eredményét IQ (intelligence quotient = intelligencia hányados) pontokban adják meg:

$$IQ = \frac{\text{a teszt alapján megállapított szellemi kor}}{\text{valóságos kor}} \times 100$$

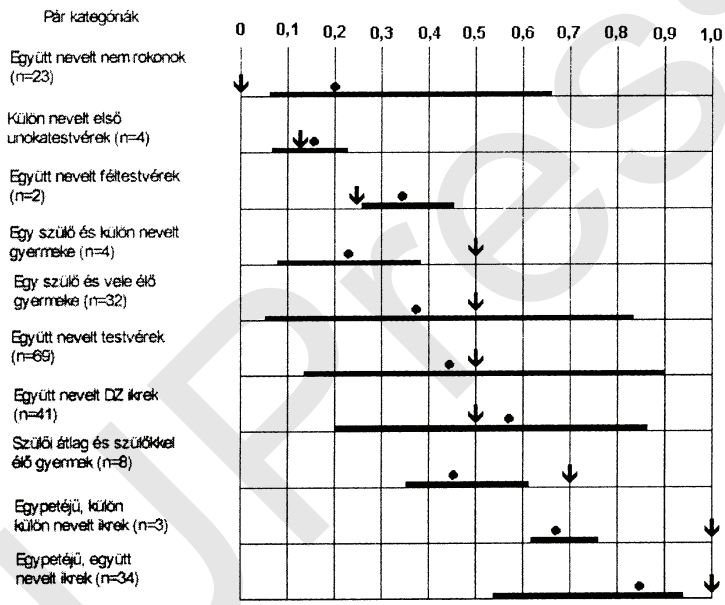
Az értékelés összehasonlító jellegű, kialakítását úgy végezték, hogy egy-egy nagyobb csoport azonos évjáratú gyermek feladatmegoldásait elemezték, és ebből meghatározták, egy átlagos képességűnek tekinthető gyermeknek korspecifikusan milyen problémákat kell tudnia megoldani. A tesztben vizsgált gyermekről pedig azt állapítják meg, hogy hány éves korcsoportnak megfelelők az eredményei. Ezt tekintik a gyermek „szellemi korá"-nak. Pl. ha egy 10 éves tanuló megoldja a 12 évesek által teljesítendő feladat-csoportot, akkor az ő szellemi kora 12 év, IQ-ja 120 pont. Ha egy ugyanilyen korú gyermek a 7 éveseknek megfelelőekkel tudott csak megbírkózni, az IQ-ja 70. A fenti meghatározásból következik, hogy egy átlagos képességű személy intelligencia kvóciense 100.

Igazolt tény, hogy az IQ nem változhatatlan, hanem a nevelés, oktatás minőségének, egyéni megfelelőségének, hatékonyságának függvényében az életkorral változik, javul vagy romlik. Ha elfogadjuk a multifaktoriális meghatározottság tételét az IQ-val kapcsolatosan, akkor ez a felismerés természetes, igazolja az elméleti következtetéseket.

Nem csekély kételkedéssel szokták ismételni a következőket: Mit fejez ki az IQ? – A teszt-intelligenciát! És mi a teszt-intelligencia? Amit az IQ-tesztek „mérnek!" Ebben a szarkazmusban sok igazság van. Azt kell mondanunk, hogy az IQ-tesztek rendkívül kultúra-függők. A feladatokban egy adott társadalom bizonyos képviselőinek elvárásai fogalmazódnak meg az egyének képességeivel szemben. Az egyik legnagyobb vitát az IQ eredményekkel kapcsolatosan az robbantotta ki, hogy amerikai fehérek és feketék között az átlagban 15 pontos eltérést találtak az előbbiek javára. Ez már egy SD-nyi érték, ami ha igaz mint valós eltérés, szignifikáns különbséget jelentene a fehér és a fekete rassz között. Azok, akik kétségbe vonják – nem a 15 pontos különbség, hanem annak reális értékelhetősége szempontjából – a rasszok ilyen értelmű megkülönböztethetőségét, mindenekelőtt arra hivatkoznak, hogy a Stanford-Binet tesztet fehérek dolgozták ki fehér középosztálybeli gyermekekre. Az Egyesült Államok társadalma egymástól meglehetősen különböző kulturális értékeket és hagyományokat hordozó csoportokra oszlik mind a mai napig (ennek csak egyik aspektusa a politikai jelentőségre is szert tett fehér-fekete ellentét, a spanyol anyanyelvűek talán még kevésbé igazodnak az angolszász hagyományokon alapuló elvárásokhoz, mint a fekete de már csak angolul beszélő népesség), így a színesbőrűek családi mintái és elvárásai is meglehetősen különböznek a fehérekétől. Nem kevésbé lehetnek igazak azok az ellenvetések sem, hogy a feketebőrű népesség átlagos társadalmi-gazdasági helyzete lényegesen rosszabb a fehérekénél általában, főleg pedig az említett középosztályénál. (A tesztek eredményét erőteljesen befolyásolhatják aktuális környezeti hatások: mennyire kerül a „vizsgadrukk" hatása alá a gyermek.)

A jogos kritikák mellett és ellenére is azt kell mondanunk, hogy az IQ pontszámok (vagy amit az IQ tesztek mérnek) örökletesen determináltak, a környezeti hatások mellett. Ezt támasztja alá a 9.9. ábra. Ennek lehetséges következtetéseit a fenti észrevételek és ellentmondások nem érintik, fehér középosztálybeli egyedek adatainak összegzéséről van szó. Hogy ezek a vizsgálati eredmények sem mondhatják ki a végső szót, azt a nagy szórás jelzi.

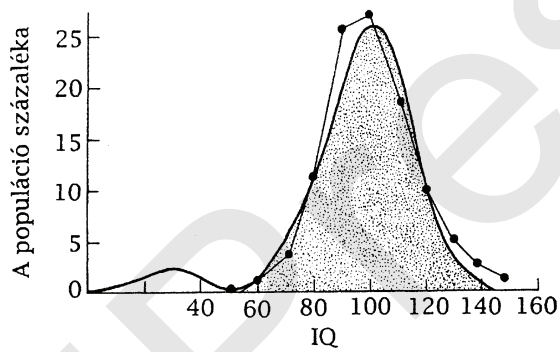
Az IQ heritabilitására vonatkozóan arra kell mindenekelőtt emlékeztetnünk, hogy az örökletesség fogalma populációs értelmű. Ha mondjuk ezt 0,6-nek mutatja egy vizsgálat, az nem jelenti azt, hogy egy egyed 100 IQ pontjából 60 öröklött és 40 a környezeti hatásoknak köszönhető. Érdekes adalék: felmérések szerint az IQ örökletessége nagyobb fokúnak adódott Angliában mint az Amerikai Egyesült Államokban. Ezt azzal magyarázzák, hogy az angol népességben sokkal homogénebbek a környezeti hatások mint a sokszínű etnikai eredetű amerikaiaknál; Európában valamivel nagyobb szerepet játszhat a genotípusos variabilitás, amott a környezeti a populációs IQ megoszlás kialakításában.



9.9. ábra. *IQ tesztek korrelációs koefficiensei különböző rokonsági fokú párokban vizsgálva.* Az ábra sok vizsgálat eredményét összegzi. A vastag vonal a kapott értékek tartománya, a pont a medián, míg a nyíl az elméleti korrelációs koefficiens értékére mutat, ami az egyszerű, additív poligénes meghatározottság esetén lenne várható. A pontok és nyilak elhelyezkedési rendje eléggé hasonlít egymáshoz, hogy a génikus hatás nyilvánvaló legyen, ugyanakkor pedig sehol sem esnek egy-másra, ami a nem-génikus tényezők meglétére hívja fel a figyelmet. Külön rá kell mutatnunk a különböző felmérések eredményei nagy szórására (vastag vonalak). Sok egyéb lehetőség mellett ez lehet utalás arra is, hogy az eltérő populációkban nem azonos a génikus és a környezeti hatások meghatározó jellege az IQ alakulásában (l. még a szövegben).

DUPress

Komoly figyelemre méltóak azok a megfigyelések, amelyek egyes emberi populációknak az elmúlt 100 évben bekövetkezett, jelentős, kb. 10 cm nagyságrendű testmagasság növekedésére vonatkoznak. Ennek a jellegnek a poligénes hátterét illetően nem lehetnek kételyeink, a heritabilitás mértékét különböző vizsgálatok meglehetősen magasnak találták, ugyanakkor az említett változás szembeszökő és jól dokumentált. (Az újoncokat katonai sorozáskor megmérik!) Mivel az adott populációk genotípusa az elmúlt évszázadban jelentősen nem változhatott, csakis környezeti hatásokra tudjuk visszavezetni ezt a növekedést. Ebben a jobb táplálkozásnak, a korábban széles néprétegeket – gyakorlatilag az egész populációt – érintő, senyvesztő betegségek megelőzésének vagy gyors leküzdésének (antibiotikumok), sportszerűbb, egészségesebb életmódnak tulajdonítanak nagy szerepet. Nincs okunk feltételezni, hogy az emberiség értelmi képes-



9.10. ábra. *Az elméleti és a tényleges IQ eloszlási görbék összehasonlítása.* (Részletes magyarázatát l. a szövegben.)

ségei a jobb iskolázás, egyre hatékonyabb tanítási módszerek (számítástechnika), s alkalmasint nem utolsó sorban a jobb testi kondíció miatt is az elkövetkezendő időszakban ne javulnának jelentősen. Ennek következtében azonban valószínűleg át fogják dolgozni a mostani IQ teszteket, és ha ugyanakkor a pontok kiszámításának elveiben nem lesz módosítás, az átlag változatlanul a 100-as érték lesz.

Elvileg egy populáció IQ eloszlása – ha igaz a multifaktoriális meghatározottság – haranggörbével írható le. Ezzel szemben a valóságban a 9.10. ábrán bemutatott görbét kapjuk. Ez egyfelől eléggé jól megfelel elvárásainknak, másrészt viszont – sajnálatosan az alacsony értékek, a mentális retardáció tartományában – jelentősen meghaladja a tényleges gyakoriság az elméletileg vártat. Ennek okát több tényezőben kell keresnünk. Csökkent értelmi képességeket, sőt kifejezett gyengeelméjűséget eredményezhet a poligénes

rendszer terheltségétől vagy súlyosan negatív hatású környezeti ártalmaktól függetlenül is számos ismert monolokuszos génikus defektus (PKU, galaktozémia, tárolási betegségek, Tay-Sachs kór [autoszomális recesszívek], Lesch-Nyhan szindróma [X-hez kötött recesszív], Huntington chorea [autoszomális domináns], stb., a sor nagyon hosszan folytatható, ebben a vonatkozásban a megfelelő klinikai genetikai szakkönyvekre kell utalnunk), kromoszómarendellenesség (a legismertebb a Down kór, ma sokszor emlegetik a fragilis X szindrómát). Egy vizsgálatban azt mutatták ki, hogy a beltenyésztésből (rokonházasságok) eredeztethető IQ-csökkenés több mint 300 lokusz recesszív alléljeire vezethető vissza. Számos betegség (agyvelőgyulladás, agyhártyagyulladás, magzati fertőzések [mindenekelőtt vírusok, mint pl. az ebből a szempontból legismertebb rubeola, de más fertőzések is, pl. *toxoplasmosis*], stb.) és környezeti fiziko-kémiai ártalom (pl. magzati hipoxia mint anyai eredetű károsodás, szülési sérülés következtében fellépő agyvérzés) lehet csökkent értelmi képességek okozója. Ismeretesek olyan központi idegrendszeri degeneratív folyamatok (génikus vagy egyéb okokra visszavezethető betegségek kapcsán), amelyek progresszív elbutulással járnak. Napjainkban ezek közül legtöbbször az idősek Alzheimer kórját emlegetik (amit autoszomális domináns öröklődésűnek tartanak). Meg kell azonban jegyezzük, hogy a legtöbb esetet talán még ma is az „ismeretlen eredetű"-ként jelölhető csoport foglalja magában.

Az IQ pontok eloszlása a populációban folytonos, mégis szokás, hogy ezek alapján értelmi képességek szerinti osztályokba sorolják az embereket. IQ>140 esetén kiemelkedően tehetségesekről beszélnek, az IQ=120-140 tartományban kiválóakról, IQ=110-120 esetén az átlagosnál jobb képességűekről szólnak. Átlagos értelmi képességűeknek tekintik az IQ=90-110 pontszámúakat. IQ=80-90 között nehéz felfogásról beszélnek, az IQ=70-80 tartomány határeset. Az értelmi fogyatékosság (gyengeelméjűség, *mentalis retardatio*) fokozatai: IQ=50-70: debilitás (*debilitas*), IQ=25-50: imbecillitás (*imbecillitas*), Q<25: idiócia (*idiotia*). A két utóbbi, súlyosabb forma nem a poligénes rendszer terheltsége, hanem – amennyiben egyáltalán génikus – monolokuszos vagy kromoszomális eredetű szokott lenni. A közhiedelemmel és a régi megjelöléssel ellentétben a 21-es kromoszóma triszómiájában szenvedők általában nem idióták, hanem imbecillisek (mozaik esetekben előfordul, hogy csak debilisek), a génikus hátterű súlyosabb anyagcsererendellenességek és néhány ritkább kromoszóma-rendellenesség okoz idióciát.

A fentiekben emberi mivoltunk talán legfontosabb aspektusairól írtunk. IQ értékünk valóban nem lehet elhanyagolható a *Homo sapiens* fajmegjelölés jelzői része szempontjából. Ezt tekinteni azonban egyetlen vagy legalábbis kiemelt értékmérőnek (amint ezt bizonyos esetekben tapasztalhatjuk) talán joggal ítélhető túlzásnak, méginkább tévedésnek. A szilárd erkölcsi alapállás és polgári fegyelem, a másik ember minden szempontból való megértésének képessége és szándéka, az empátia a másság elfogadása, a kooperativitás, a pozitív és aktív társadalmi beilleszkedés, segítőkészség, a szociális prob-

DRAFT

lémák iránti érzékenység és megoldások keresésében, segítésében megnyilvánuló attitüd, önzetlenség, ... stb. – a felsorolás nagyon hosszan folytatható lenne még –, mind olyan kívánalmak vagy tulajdonságok amelyek nem kevésbé fontosak, mint az IQ. E sorok jegyzőjének álláspontja: 160 IQ pont valóban feltételezhet nagyobb társadalmi hasznosságot mint a 100-as átlagérték – kivéve ha egy bűnöző 160-as IQ-jú.

Összefoglalás

(*1*) A mendeli (klasszikus, formális) genetika a minőségi (kvalitatív) fenotípusos bélyegek öröklődésének szabályszerűségeit tárta fel. Ezek génikus meghatározása monolokuszos. Egy lokuszon lehet egy allélpár vagy többszörös allélia. Ismert a génkölcsönhatások, episztázis jelensége is. Az e rendszerekben szereplő géneket maior génként is szokták említeni. E jellegek megjelenése a populációban diszkontinuus.

(*2*) A mennyiségi (kvantitatív) fenotípusos jellegek, amelyek eloszlása a populációban – általában – haranggörbével jellemezhető, meghatározásában is szerepet játszanak örökletes tényezők, ezek azonban nem mutatják a mendeli szabályszerűségeket a generációk sorában. Itt ún. minor génekről van szó, amelyek egy poligénes rendszer tagjaiként szerepelnek, egyedileg – mai módszereinkkel – nem azonosíthatók, csak összhatásuk ismerhető meg. (Individuálisan természetesen követik a Mendel-szabályokat, de ez számunkra láthatatlan marad).

(*3*) Míg a monolokuszos jellegek kialakulásának folyamatában – általában – nem vagy csak igen kismértékben mutatható ki a környezet hatása, a mennyiségi jellegek kifejlődésében ez sokkal nagyobb szerepet játszik. Ezért helyesebb poligénes öröklődés helyett multifaktoriális meghatározottságról beszélni. Ezzel a kifejezéssel hangsúlyozzuk a genotípus és a környezet egyaránt fontos voltát.

(*4*) A mennyiségi jellegek általában mérhetők (megnyilvánulásuk a fenotípusban valamilyen mértékegységgel kifejezhető), egyes esetekben számolhatók.

(*5*) Eleddig a legjobban megérthető magyarázatot a mennyiségi bélyegek öröklődésének mikéntjére az ún. additív modell szolgáltatta. E szerint több (sok) lokusz génjei (alléljei) hatása összegződve alakítja ki a fenotípust. A génikus meghatározottság bonyolult mechnizmusa teszi lehetővé a külső és belső környezeti hatások nagyobb fokú érvényesülését.

PUBLISS

(*6*) Az additív modell ismert példája az emberi bőrszín öröklődésre kidolgozott Davenport hipotézis, amely két lokusz két-két alléljának összegződő effektusával magyarázza a különböző sötétségű formák létrejöttét. Ma már tudjuk, hogy több (4–6 lokusz) is szükséges a génikus determinációhoz. Ugyanakkor génikusan világosbőrű embereken jól érzékelhető a környezet befolyásoló hatása is.

(*7*) A multifaktoriális meghatározottságon belül az örökletes tényezők részarányának kifejezésére alkották meg a heritabilitás (örökletesség) fogalmát. Ennek számszerű értéke 0 és 1 között változhat. 0 a heritabilitása a csak környezeti hatásokra kialakuló jellegeknek, 1 a kizárólagosan génikus determinációjúaknak. Míg a monolokuszos bélyegek között több példát találunk az utóbbira, a mennyiségi jellegek körében általában jóval alacsonyabb a heritabilitás értéke.

(*8*) A heritabilitás meghatározására a variabilitás, a variancia szolgál alapul. Mivel ezek emberi populációban általában nem állapíthatók meg pontosan, így a *Homo sapiens* esetén ikervizsgálatokkal igyekeznek megközelíteni a kérdést. Egypetéjű (MZ, monozigóta), génikusan egymással teljesen azonos ikrek konkordáns vagy diszkordáns (megegyező vagy eltérő fenotípusos) voltát hasonlítják össze azonos nemű, kétpetéjű (DZ, dizigóta) ikrekével, akikről ugyanúgy feltételezhető, hogy azonos környezetben nevelked/nek/tek, ugyanakkor – statisztikai átlagban – csak génjeik fele közös egymással.

(*9*) Bizonyos minőségi bélyegek: emberi kórállapotok és izolált fejlődési rendellenességek génikus meghatározásának magyarázatára nem bizonyult alkalmasnak a mendeli genetika. Ugyanakkor az additív poligénes modell megfelelőnek mutatkozott ezek családi halmozódásának és örökletességének levezetésére is, azzal a kiegészítéssel, hogy az e kórformák hátterében meghúzódó ún. kockázati (rizikó) gének egy olyan genetikai terheltséget jelentenek, amely egy küszöb meghaladása esetén válik csak nyilvánvalóvá a fenotípusban. Ezt a magyarázatot nevezik küszöb modellnek. Hogy ez az elméleti küszöb egyes esetekben alacsonyabban, másokban magasabban helyezkedik el, az a környezet befolyásoló hatásának tudható be.

(*10*) A küszöb modell elfogadható magyarázatot kínál arra a megfigyelésre, hogy egy adott kórkép vagy fejlődési rendellenesség *(1)* ismétlődésének kockázata a közeli rokonokban sokkal magasabb a populációs előfordulási gyakoriságnál (de lényegesen alacsonyabb, mint lenne bármiféle monolokuszos determináció esetén), *(2)* egyik nemet inkább sújtja, mint a másikat, ugyanakkor a ritkábban érintett nembe tartozó hordozó esetén nagyobb a kockázata az ellenkező nemű utódoknak (közeli rokonoknak) a bennük való ismétlődésre, *(3)* súlyosabb formáiban nagyobb a családi ismételt előfordulás esélye, mint az enyhébb esetekben.

(*11*) Az emberi viselkedés, és annak szűkebben vagy tágabban értelmezett rendellenességei úgyszintén génikus kontroll alatt állnak. Egyes esetekben monolokuszos meg-

DUPress

határozottságot sikerült igazolni, az ide tartozó jellegek és kórállapotok túlnyomó többsége azonban multifaktoriális determinációjúnak tartható.

(*12*) Egyik legfontosabb emberi adottságunk, az intelligencia (az értelmi képességek) is multifaktoriális meghatározottságúnak mutatkozik. E jelleg mérésére dolgozták ki az ún. intelligencia-hányadost, az IQ-t. Ennek átlagos értéke – a definíciójából következően – 100 pont. Az ettől magasabb értékek a jobb, az alacsonyabbak a gyengébb értelmi kvalitásokat jellemzik.

(*13*) Az alkalmas tesztekkel meghatározott IQ eloszlása a populációban Gauss szerinti görbét ad, de annak bal oldalán, a nagyon alacsony IQ értékeknél kiugrás észlelhető. Ennek oka nem a mögöttes poligénes rendszer terheltségében, hanem sokkal inkább monogénes vagy kromoszomális ártalmakban és rendellenességekben, ill. sérülésekben, külső eredetű betegségekben, stb. keresendő.

Kérdések

(*1*) Adott *X* jelleg. Vajon milyen populációban fogjuk ennek heritabilitását magasabbnak találni? *a)* Abban-e, amelyben többségében inkább homozigótákban mutatkozik meg az *X*, vagy inkább abban, ahol heterozigótákban? *b)* Abban-e, amelyik környezete meglehetősen egyöntetű, vagy ott, ahol a környezet változatos?

(*2*) Az emberi szemszín öröklődésére még nem sikerült elfogadható magyarázatot találni. Az biztos, hogy több gén befolyásolja e jelleget. Galton 1889-ben az írisz színét az alább felsorolt csoportokra osztotta (az utolsó kettő itt összevontan szerepel). Tételezzük fel, hogy egy poligénes rendszer nagybetűs génjei felelősek a sötétebb szemszínért. Ebben a rendszerben a következő táblázatot állíthatjuk össze:

A szivárványhártya színe	A nagybetűs allélek száma
Világoskék	0
Kék	1
Kékeszöld	2
Mogyoró	3
Világosbarna	4
Barna	5
Sötétbarna és fekete	6

a) Milyen a lehető „legvilágosabb" geno- és fenotípusa annak a szülőpárnak, akiknek barna szemű gyermeke születhet? *b)* Tételezzük fel, hogy a táblázat első három

osztályába tartozókat a közvélekedés kékszeműnek, míg a következő hármat barnának fogadja el. (Így a szemszín küszöb jellegként jelenik meg előttünk.) Milyen lehet az a legsötétebb szemszín, ami két kékszemű szülő gyermekében nyilvánulhat meg?

(*3*) Ha elfogadjuk a Davenport-féle hipotézist az emberi bőrszín öröklődésére, igaz-e az itt következő két állítás? *a)* Ha az egyik szülő fehér (0 nagybetűs gén), az utódok nem lehetnek sötétebb bőrűek, mint a másik szülő. *b)* Ha az egyik szülő világos (1 nagybetűs allél), az utódok nem lehetnek sötétebb bőrűek, mint a másik szülő.

(*4*) Sorolja fel, milyen bőrszínű utódok és milyen arányban származhatnak két mulatt házasságából (közepes árnyalat) a Davenport-féle hipotézis szerint, ha *a)* mindkét szülő homozigóta mindkét lokuszon; *b)* ha a két lokuszt tekintve az egyik szülő mindkettőre homozigóta, a másik mindkettőre heterozigóta genotípusú; *c)* mindkét szülő kétszeres heterozigóta!

(*5*) A következő táblázat 19 MZ ikerpár IQ pontjait sorolja fel. Milyen következtetések adódhatnak ebből az adat-sorból?

95 94	91 90	85 84	101 99	90 88	93 89	127 122	106 105	96 77
102 94	88 79	115 105	97 85	78 66	92 77	106 89	116 109	116 92
102 96								

(*6*) Tételezzünk fel két országot! **A**-ban az összes iskola, kivétel nélkül, rendkívül gyenge, a tanulókat nem motiválja a szorgalmas munkára semmi, és minden olyan környezeti tényező, ami befolyásolhatja az IQ kialakulását, kifejezetten hátrányos. Ebben a helyzetben az IQ-ra vonatkoztatható $V_E = 0$. **B** országban éppen ellenkezőleg, az iskolák kiválóak, minden gyermek olyan hatásoknak van kitéve, amelyek a szellemi fejlődést elősegítik, és minden egyéb környezeti hatás is olyan, ami általánosan kedvez az IQ minél magasabb szintű kifejlődésének. Ebben az esetben úgyszintén azt kell mondanunk, hogy az IQ-ra vonatkoztatható $V_E = 0$.

Milyennek találjuk ezek után **A** és **B** országban az IQ heritabilitását? Milyen lesz a két országban az IQ érték átlaga?

DUPress

Válaszok

(*1*) Nagyobb értékűnek mutatkozik a heritabilitás ott, ahol *a)* nagyobb a heterozigóták részaránya, és *b)* uniformis a környezet.

(*2*) Legyen a poligénes rendszer három lokuszának a két szélső értéket adó lehetséges genotípusa *gghhii* ill. *GGHHII*! *a)* Pl. *GgHhIi* x *GgHhii*, azaz mogyoró és kékeszöld. Az utód lehet *GGHHIi*, így barna. Vegyük észre, hogy ha – modellünk szerint – valóban egyenértékű lokuszokról van szó, a mogyoró és kékeszöld párosításnak megfelel a *GGHhii* x *GGhhii* genotípus is, ebből azonban maximum *GGHhii* genotípusú, azaz mogyoró szemű utód vezethető le. Ugyanakkor gondoljuk végig, hogy az eredetileg megadott *GgHhIi* x *GgHhii* genotípus párból származhat *gghhii* utód, azaz világoskék szivárványhártyájú is. Hely hiányában itt nem tekinthető át minden lehetőség és azok elméleti aránya, de nagyon tanulságos a példa folytatása. *b)* Világosbarna. Pl. *GgHhii* x *ggHhIi* genotípus-párosításból öröklődik az összes, azaz négy nagybetűs allél: *GgHHIi*. (Itt is melegen ajánlott a példa továbbgondolása!)

(*3*) *a)* Igaz. Sőt, egy utód sem lehet a közepesnél (mulatt) sötétebb árnyalatú. *b)* Hamis. Ha a másik szülő is világos, a gyermekük lehet közepes bőrszínű, ha a másik szülő közepes pigmentációjú, a gyermek lehet sötét (3 nagybetűs gén) bőrű.

(*4*)

Bőrszín	*a)*	*b)*	*c)*
Fehér	0	0	1/16
Világos	0	1/4	4/16
Közepes	1	2/4	6/16
Sötét	0	1/4	4/16
Fekete	0	0	1/16

(*5*) A differencia maximum 24 IQ pont, ami erőteljesen kiemeli a környezet hatásának fontosságát. Ugyanakkor a párok többségében ennél jóval kisebb, végső soron átlagosan 8,2 IQ pont a differencia, ami mellett tagadhatatlan a génikus komponens jelentősége az intelligencia meghatározásában (úgy is mondhatjuk, hogy a konkordáns párok részaránya nagy). E két konklúziótól függetlenül: bár kétségtelen, a minta kicsinysége nem engedi meg messzemenő következtetések levonását, a 95,7-es átlag alatta marad a populáció 100-as értékének. Más tanulmányokból ismert, hogy az ikerpárok IQ átlaga általában 5 ponttal marad el a 100-tól, ami az egyes terhességekből születettekre jellemző érték, így levonhatjuk azt a következtetést, hogy az ikerterhesség nem csak a testi – ami szülészek és gyermekgyógyászok előtt jól ismert jelenség –, hanem a szellemi fejlődésben is bizonyos hátrányt jelent.

EUPress

(*6*) Ha a V_E mindkét esetben 0, az IQ heritablitását egyaránt 1-nek fogjuk találni **A** és **B** országban. Ugyanakkor **B**-ben nyilvánvalóan magasabb lesz az átlagos IQ. Ebből arra következtethetnénk, hogy **B** populációja sokkal okosabb mint **A**-é. Ezt azonban semmi sem támasztja alá, jóllehet a felmérésben semmi sem cáfolja a génikus komponens jelentőségét. Amennyiben a környezeti viszonyok ilyen élesen és általánosan különböznek (= csak rossz, ill. csak jó, ami a valóságban természetesen lehetetlen), feltétlenül szükséges (lenne) **A** ország gyermek-népességéből egy értékelhető nagyságú mintát **B** országban nevelni fel, és fordítva. Ez azonban – az ember-kísérletek lehetetlensége miatt – megvalósíthatatlan. Mindezek után tág tere marad a spekulációnak, ami lehet higgadt, megfontolt, tudományosan mértéktartó, ill. politikailag (vagy egyéb módon) manipulált is.

DUPress

6/B. FEJEZET

FARMAKOGENETIKA ÉS FARMAKOGENOMIKA

Farmakogenetika

Farmakogenomika

Ökogenetika, ökogenomika

Farmakogenetika

Immár mintegy négy évtizedes múltra visszatekintő (időnként sajnos nagyon is méltatlanul elfeledett) ága az örökléstannak – ezen belül különösen és nevezetesen a humángenetikának – a ***farmakogenetika***. Kiemelkedően nagy a jelentősége a klinikai genetika és a klinikusi gyakorlat szempontjából. A gyógyszerek (***farmakon***ok) hatását befolyásoló génikus tényezőket vizsgálja.

Régi megfigyelések tárgya volt a gyógyszerek hatásának egyéni eltérése. Az okokat nem ismerve a tapasztalt jelenségeket idioszinkráziának mondták, értve ezen a bizonyos anyagokkal szembeni túlérzékenységet (de nem az allergiás reakciókat). Azon vegyületek túlnyomó többségének, amelyekről itt tulajdonképpen szó van, az emberi szervezetbe kerülése esetleges, ennek megfelelően nem lehet ritka, hogy egy eltérő (kóros) genotípus a fenotípusban sohasem nyilvánul meg. Különösen igaz ez a napjainkban vagy a közelmúltban kifejlesztett gyógy-

DUPress

szerekre (nemkülönben a növényvédőszerekre, élelmiszer-adalékokra, és egyebekre is, l. alább), melyekkel kapcsolatban még nem rendelkezünk elegendően nagy esetszámon alapuló tapasztalatokkal. Általában vonatkozhatnak ilyen megfontolások minden olyan anyagcsereútra, amely alárendelt jelentőségű, vagy csak bizonyos esetekben van rá szükség, ill. lép működésbe, de pl. egy adott gyógyszer metabolizmusában megkerülhetetlen jelentőségű.

Példák tucatjai ismertek arra a mindennapi orvosi gyakorlatból, hogy egy gyógyszer, ami azért került be a terápiás arzenálba, mert hatása nagyszámú betegen bizonyult kedvezőnek, egy-egy emberben olyan mellékhatásokat okoz, amelyek akár fatális kimenetelűek is lehetnek. Más esetekben meg éppen ennek a fordítottja: hatástalanság tapasztalható. Az ilyen egyedi kivételek mögött leggyakrabban valamilyen ritka genotípus állhat, ami a fenotípusban a szóban forgó szerre adott eltérő válaszreakciót determinál. Ennek a genotípusnak alkalmasint ez az egyetlen fenotípusos megnyilvánulása, és ha az illető élete során sohasem kap abból a bizonyos gyógyszerből, eltérő reakciójára nem derülhet fény (az expresszió 0 [nulla]).

Nem szabad elfeledkeznünk arról sem, hogy különböző populációk között jelentős eltérésekre derülhet fény, azaz ebből a szempontból is sokszor igen nagyfokú genetikai heterogenitás észlelhető.

Legegyszerűbbnek azok a példák tekinthetők, amelyek azt jelzik, hogy valamilyen gyógyszer metabolizmusa egy-egy emberben az átlagostól jelentősen eltérő, akár lassúbb, akár gyorsabb lehet. A ***farmakokinetika*** fontos és gazdag tudományág, amelynek itt semmilyen objektív megállapítására nem térhetünk ki, de az könnyen belátható szakszerű részletezés nélkül is, hogy egy farmakonnak lehet gyors vagy lassú, ill. kifejezetten elhúzódó mind a felszívódása, mind pedig a kiürülése. Gyógyszereink nem feltétlenül abban a formában hatásosak, amelyben alkalmazzuk azokat, hanem a szervezet (legtöbbször a máj) enzimei módosítják (aktiválják) őket, másfelől a hatásos vegyület – az esetek többségében úgyszintén enzimatikusan – átalakul, lebomlik, majd kiválasztódik.

– Deficiens az aktiváló enzim(rendszer)? Elmarad a várt effektus. – Túl gyorsan működik? A hatásos anyag hamarabb és nagyobb koncentrációban jelenik meg a keringésben (és alkalmasint hamarabb el is távozik onnan, nem marad meg a kívánatos ideig a szükséges szintje). – Nem működik vagy csak gyengén az eliminálás mechanizmusa? Túladagolás tünetei léphetnek fel. – Sokkal gyorsabb az eltávolítás mint általában? Elégtelennek bizonyul a dozírozás. – Ezek a példák is elegendőek talán annak tudatosításához, hogy az orvosnak mindig nyitottnak kell lennie a beteg szervezetének váratlan, különleges, nem adekvát reakciójára egy adott terápia során. („Betegség nincs, csak beteg ember!" l. még ugyanezt a

konklúziót e fejezet végén is!) Különböző szerek egymás metabolizmusát zavarhatják meg (gyógyszerkölcsönhatások), egyik vagy a másik önmagában nem, de együtt már kóros reakciót vált ki. Mindezek vonatkozásában a későbbi (gyógyszertani és klinikai) tanulmányokra kell utalnunk, itt a célunk csak annak megállapítása lehet, hogy a terápiásan alkalmazott vegyületek hatása és hatásos-sága is az individuális genotípus kontrollja alatt áll, és a genetikai polimorfizmus igen nagyfokú a népességben.

Néhány példán mindezt konkretizáljuk is (anélkül természetesen, hogy akár a gyógyszertan, akár valamelyik klinikai szakterület birodalmába akarnánk belépni). Egyes emberek, akik nem is kis hányadát alkotják a népességnek (fehér európaiak és amerikaiak 5–10 %-a, bizonyos kínai populációknak akár 30 %-a is), az ún. ***lassú metabolizáló***k közé tartoznak. Mintegy 25, jelenleg széles kör-ben használt gyógyszer (így néhány vérnyomáscsökkentő, *angina pectoris*ra és szívritmuszavarokra felírt szer, köhögéscsillapító stb.) náluk mellékhatásokat okoz, mert ezek metabolizálásának gyorsasága a normálisnak tartott sebességnek akár mindössze 0,5–10 %-a is lehet. A jelenség hátterében a P-450 citokróm család 450db1 jelű tagjának defektusa áll[1].

Az 1950-es években vált a tüdőtuberkulózis szinte egyedülálló gyógyszerévé az INH (izonikotinsavhidrazid). Ezzel kapcsolatban is leírtak egy lassú metabolizáló, az ún. ***lassan acetiláló*** típust.

Az ilyen egyének, akik egyes helyeken a népesség mintegy 40–70 %-át alkotják (!), a szer szokásos dózisának töredékét igénylik csak, a normális adag számukra mérgező. Autoszomális recesszív öröklődésű állapotról, az N-acetil-transzferáz enzim defektusáról van szó. (Ennek az enzimnek egyébként más farmakonok metabolizmusában is van szerepe.) Ugyanakkor ismeretesek (elenyészően csekély számban) gyors acetilálók is.

---

[1] A P-450 citokrómok családja igen bonyolult és kiterjedt, ennek genetikája még inkább. Ezek az enzimek a májsejtek sima endoplazmatikus retikulumához kötve végzik méregtelenítő funkciójukat, ami a szervezetbe jutó gyógyszerek és egyéb kemikáliák átalakítását is jelenti. Közelmúltbéli ismereteink alapján 8 család sorolható egy szupercsaládba, és mind a 8 család génjei 2–20 fehérjét kódolnak. Ezek közül a 22-es kromoszómán elhelyezkedő *P-450db1* génnek számos mutációját azonosították. (Ezek érdekessége, hogy intron kivágási hibát okoznak.) A mutáns allélek összgyakorisága magas, a lassú metabolizáló fenotípus általában homozigóta recesszív (ismereteink még korántsem tekinthetők megnyugtatóan részleteseknek és teljeseknek). Figyelemre méltó, hogy ezeknek az embereknek 20-40-szer kisebb az esélyük arra, hogy emésztőszervi, máj-, vagy tüdőrákot kapjanak, mint a nem lassú metabolizálóknak. (Az összefüggés ilyetén formája még nem tisztázott, de ettől eltekintve is utalnunk kell arra, hogy a daganatkeltő anyagok is átalakulhatnak a szervezetben, az egyik éppen az anyagcsere folyamatok révén válik azzá, míg a másik –, amelyik alkalomadtán *in vitro* annak bizonyul –, inaktiválódik.)

Porfirin anyagcserezavar az ***akut intermittáló porfíria*** (*porphyria acuta intermittens*). Az ebben szenvedők tökéletesen tünetmentesek maradhatnak évtizedekig, mindaddig legalábbis, amíg valamilyen barbiturátot vagy bizonyos egyéb nyugtatókat nem kapnak. (Egyes altatószerekre is érzékenyek.)

A gyógyszerelés következtében erős hasi (és végtagi) fájdalmak jelentkeznek, ami akut hasi kórképet utánozhat (*appendicitis*, epekő-kólika), s a beteg műtétre kerülhet, mivel a nem invazív vizsgálómódszerekkel nem találják a súlyos panaszok okát. További jellemző tünet a mentális instabilitás, nyugtalanság stb. (ami alkalmasint tudathasadásos elmezavar [*schizophrenia*] gyanúját is keltheti). Minél inkább akarják ezt barbiturátokkal leküzdeni, annál súlyosabbá válik a beteg állapota. Műtéti feltárás esetén, valamint az utókezelésben is használatosak olyan altatók és nyugtatók, amelyekre a páciens érzékeny. Végezetül, mivel a laparotomia (hasmetszés, hasüreg megnyitása) kapcsán értelemszerűen nem derülhet ki a hasi fájdalmak oka, az orvos az objektív elváltozások hiányában pszichoszomatikus megbetegedésre gondol, és nyugtatókat rendel. (Az említett gyógyszereken kívül egyéb faktorok is szerepelhetnek kiváltó okként, pl. fertőzések, magas szteroid hormonszint [mindenekelőtt ösztrogének], túlzott éhezéssel egybekötött erőteljes fogyókúra.) Az állapot azon kevés anyagcsere betegség közé tartozik, amelyért nem homozigóta recesszív genotípus felel, hanem autoszomális domináns öröklődésűnek mutatkozik a kórkép (l. alább). A hibás enzim a porfobilinogén-dezamináz. Heterozigótákban az enzimaktivitás fele a normális kontrollokénak. (A homozigóta enzimhiányos állapot valószínűleg letális.) Egyes populációkban a gyakoriság elérheti az 1/1000-et is, szerencsére általában ennél lényegesen ritkább. (Ez az utóbbi megállapítás alkalmasint igencsak viszonylagos pozitívum: a ritka előfordulás miatt nagyon késhet a helyes diagnózis, előtte pedig rengeteg szenvedést okoz az orvos a betegének.)

A porfirin anyagcsere egy másik, meglehetős nevezetességre szert tett zavara a ***porfíria variegáta*** (*porphyria variegata*). Ezért a protoporfirinogén-oxidáz enzim felelős. A kórkép dominánsnak nevezhető, mivel heterozigótákban megnyilvánul. (Ám többen vitatják ezt a megállapítást, mert homozigótákban sokkal súlyosabb, és ezt úgy interpretálják, hogy intermedier öröklődésről van szó[2].)

---

[2] Régi vita és mindmáig nyitott kérdés a humán- és klinikai genetika művelői körében, hogy mennyire pontosan fogalmazható meg bizonyos emberi kóros jellegek domináns vagy intermedier karaktere. Mivel általában igen ritkán fellelhető elváltozásokról, betegségekről van szó, irodalmi ritkaság két heterozigóta házassága. (Ehhez az is hozzájárul, hogy két, ugyanabban az öröklődő betegségben szenvedő egyén ritkábban lép egymással házasságra és vállal gyermeket, mint ahogy ez a populációs génfrekvenciákból teljesen véletlenszerű párválasztást feltételezve számítható.) Ha ez néha mégis előfordul, és a szülőkénél súlyosabb tüneteket mutató gyermek születik, ill. halvaszületések, vetélések fordulnak elő, a házaspár termékenysége csökkent, ezt könnyen tekintik bizonyítéknak az intermedier jelleg mellett. Érv természetesen lehet ez, de amíg molekuláris bizonyítéka nincs a homozigótaságnak az elvetélt embriókban, halva született magzatokban vagy a súlyosabb formát mutató élő utódban, addig csak spekuláció.

Tünetei hasonlóak a megelőzőéhez, de bővebb a skála, mert fényérzékenység nyomán fellépő bőrelváltozások is vannak; a székletben és vizeletben nagyobb mennyiségben jelenik meg a felszaporodott kóros metabolit[3].

Populációgenetikai és történelmi adalékként is bevonult az örökléstani könyvekbe a porfíria variegáta. A Dél-Afrikai Köztársaságban ma mintegy 9000 beteget tartanak nyilván, akik mindegyikének családfája egyetlen holland (búr) bevándorló házaspárra vezethető vissza. Ez az alapító elv egyik legismertebb humángenetikai példája. III. György angol király (1738–1820) orvosi biográfiája, amelyben tág teret kapnak viselkedési zavarai, azt sugallja, hogy ő is ebben a betegségben szenvedhetett.

Halálos kimenetelű lehet a ***pszeudokolineszteráz*** hiánya, ami autoszomális recesszív öröklődésű állapot. Modern műtéti gépi altatásnál a gégébe vezetett tubus behelyezése csak a harántcsíkolt izmok teljes elernyedése mellett lehetséges. Ennek elérésére használják a szukcinilkolin-kloridot, ami vénába fecskendezve 2–3 perces izomrelaxációt hoz létre. Ez – egyebek között – teljes légzésbénulást is jelent. A szert a pszeudokolineszteráz elbontja, ezzel a normál izomfunkciók, így a légzőműködések is helyreállnak. Ennek az enzimnek a hiányában a légzés leállása órákig, sőt napokig is eltarthat, a beteg csak gépi lélegeztetéssel tartható életben. Európai népekben általában 1/2000 a rendellenes gyakorisága.

E fejezetben tárgyalhatjuk a glükóz-6-foszfát-dehidrogenáz (G-6-PD) X-hez kötött recesszív öröklődésű hiányát is, aminek leírása tágítja azt a képet, amit a gyógyszerként alkalmazott anyagokról a fentiekben kialakíthattunk. Ez az enzim fontos szerepet játszik a vörösvérsejtek redukáló rendszerének működésében (a H_2O_2 vízzé alakításában, l. biokémia). Defektusa következtében e sejtek membránjának stabilitása csökken, a jelleghordozók különböző kémiai hatásokra (általában olyanokra, amelyek a H_2O_2 szintet a sejtekben emelik) hemolízissel (vörösvérsejt széteséssel) és következményes anémiával válaszolhatnak. Ismert pl. a ***favizmus*** nevű betegség (a mediterrán vidékeken): *Vicia faba* nevű bab fogyasztása után a hemizigóta (és természetesen a homozigóta) érintettek vörösvérsejtjeinek egy része szétesik, a hemoglobin a szabad keringésbe kerül, ennek minden súlyos következményével. Más természetes anyagok, pl. virágpor belélegzésének hatására is felléphet hemolitikus krízis. (Az érintett családokban már kialakult a megfelelő tapasztalat, mi az, amit kerülni kell.) Bakteriális és vírusfertőzések is

---

[3] Mindkét típusú porfíria esetén a patomechanizmusban nem a csökkent enzimaktivitás miatt kiesett termék hiánya, hanem az elégtelenül átalakuló köztitermék felszaporodása a kóroki tényező. Ez magyarázza, hogy az enzimhiányos jelleg ellenére, a formális genetikai besorolás szerint a tankönyvek ezeket domináns öröklődésűként írják le.

Elbírás

veszélyt jelentenek. A mutáns gén elterjedésének (trópusi és szubtrópusi vidékeken) megmagyarázásában szerepet tulajdonítanak annak, hogy ez a heterozigótáknak (is) védelmet nyújt a maláriás megbetegedés ellen.

Az említett területen belül egyes helyeken a férfiak 30%-a is jelleghordozó lehet! Szardinia szigetén pl. minden negyedik fiú újszülött hemizigóta. Egy egyszerű eljárással ott szűrést is végeznek, ami a heterozigótákat is kimutatja, így a megfelelő életvezetési tanácsokat időben megadhatják a gyermek szüleinek. A sors iróniája, hogy van olyan *G6PD*$^-$ egyén, akiben, ha mégis megfertőződik maláriaval[4], az antimaláriás primaquin nevű gyógyszer is kiváltja a vörösvértestek szétesését és az ezt követő krízist. Más gyógyszerek (gyulladásgátlók, szulfonamidok, chloramphenicol [Chlorocid], acetilszalicilsav [Aspirin], K vitamin) esetén is megfigyeltek hasonló hatást.

Vannak a G-6-PD génjének olyan mutációi, amelyek normális aktivitású enzimet kódolnak, de ennek a fehérjének az élettartama nagyon rövid, messze alulmúlja a vörösvértestekét. Ilyen esetekben az öregebb sejtek szenvednek hemolízist. A földközi-tengeri típusban viszont az aktivitás a fiatal vörösvérsejtekben sem több általában a normál érték 0-4 %-ánál, azaz itt az egész sejtpopuláció esendő. A provokáló faktorok elkerülése általában elfogadható életminőséget biztosít a jelleghordozók számára.

A heterozigótaság kimutatása rendkívül egyszerű, egyben igen meggyőző alátámasztása is a Lyon hipotézis érvényességének. Megfelelő citokémiai reakcióval a G-6-PD aktivitás a vörösvérsejtekben kimutatható, a reakciótermék kék; heterozigóta nőtől származó vérkenetben a vörösvérsejtek nagyjából fele mutatja az eredeti színét, a másik fele kék lesz. Az előbbi csoportba tartozó sejtek (az enzimhiány fokának függvényében) úgyszintén érzékenyek, a hordozó nőkben is előfordulhat hemolízis. Mivel a *G6PD*$^-$ allél gyakorisága – mint fentebb láttuk – egyes populációkban igen nagy, és nem feltétlenül okoz olyan zavarokat, amelyek a reprodukciót károsan érintenék, így ezekben a népességekben a homozigóta G-6-PD hiányos nő születése sem ritkaság.

Az Xq28 régióban elhelyezkedő *G6PD* lokusznak több allélje ismert. A *B* jelű által kódolt enzim aktivitását tekintik 100 %-nak. Ez terjedt el az egész világon, kivéve a fekete afrikaiakat (és leszármazottaikat), akikben az *A* allél fordul elő, ami 88 %-os aktivitást eredményez. (A két G-6-PD fehérjében egyetlen aminosav a különbség: aszparagin helyett aszparaginsav [a 142. pozícióban] egy A→G tranzíció következtében.) Az említett favizmus a mediterrán típusú vagy *b* (*B*$^-$) allélhez kötődik (G-6-PD aktivitás 0-7 %). Utaltunk a *primaquin-érzékenység*re. Ennek oka az *a* (*A*$^-$) jelzésű allél (G-6-PD 8-20 %). Dél-Kínára a *kantoni variáns* (4-24 % enzimaktivitás), arabok között a *Constantine variáns* (enzimaktivitás 16 %) a jellemző. 1988-cal bezárólag mindösszesen 325 alléljét írták le a *G6PD* lokusznak, ezek között a többség természetesen rendkívül ritka. Két olyan allél is ismert (a *Hartford* és a *Hektoen* jelölésű), amelyek 200-400 %-os enzimaktivitást determinálnak.

A fentiekben olyan példákat mutattunk be, amelyekkel mindennapi gyakorlatában, ha nem is sűrűn, de bármelyik orvos találkozhat. Nincs semmi okunk

---

[4] Emlékeztetőül: a maláriának különböző formái vannak (más-más kórokozóval), nem mindegyik esetén figyelhető meg hatásos rezisztencia a heterozigótákban, ill. a hemi- vagy homozigótákban.

feltételezni, hogy ne létezne ezek mellett számos egyéb génhiba (enzim [alloenzim] vagy izoenzim polimorfizmus) is, amelyik egyszer-egyszer ilyen vagy olyan gyógyszer különleges, váratlan mellékhatásáért felelős. Nemkülönben igaz lehet ez a felfogás a korunkat jellemző nagyfokú kemizálás olyan szereplőire, mint a növényvédőszerek, amelyekkel még a technológiai fegyelem és előírások maradéktalan betartása esetén is sokan foglalkozási ártalomként, mások pedig a táplálékláncc csúcsszintű fogyasztóiként kerülnek kapcsolatba. Folytathatjuk a sort a – sokszor teljesen értelmetlenül, feleslegesen használt – élelmiszer-adalékokkal (pl. mesterséges színezékek), valamint a kozmetikumokkal, amelyek rendeltetésszerűen kerülnek kontaktusba az emberi szervezettel. Mindezek előállítása, feldolgozása során az ott dolgozók is olyan közvetlen kontaktusba kerülhetnek velük, amire többségük talán nem, de néhányan esetleg igen különös módon reagálnak. (A túlérzékenységi, allergiás reakciókra itt most nem is gondoltunk!) Említhetjük, ha itt csak érintőlegesen is, a szerves oldószerek kiterjedt hasz-nálatát, valamint a veszélyes hulladékok felelőtlen kezelését. Mivel a legkevésbé sem gyógyászati céllal alkalmazott anyagokról van szó, helyesebb ezeket, és e kérdéskör vizsgálatát az ***ökogenetika*** tárgykörébe utalni. (L. alább.)

Mindezekhez társul még korunk néhány pusztító „népbetegsége": az alkoholizmus, dohányzás, kábítószer élvezet. Ezeknek a szenvedélybetegségeknek számos, mindmáig részleteiben még nem tisztázott genetikai aspektusa is van. (Az alkoholizmusra utalunk a 9. fejezetnek Az emberi viselkedés genetikája c. részében.)

Ismételten hangsúlyozzuk: nem csak hiányzó, hanem csökkent vagy eltérő enzimaktivitás is állhat a váratlan jelenségek, tünetek, mellékhatások hátterében, az emberiség igen nagyfokú polimorfizmust mutat a farmakogenetika vonatkozásában is.

Farmakogenomika

A farmakogenomika tulajdonképpen a farmakogenetika modern továbbfejlődése. Ahogy az egyes gének (allélpárok, két vagy kevés számú lokusz génjeinek kölcsönhatásai stb.) tanulmányozása magasabb szintre lép a genom kutatásában és vizsgálatában: a genomikában, ugyanez történik manapság a gyógyszerhatások génikus háttere felderítésében is. Ennek illusztrálására mutatunk be itt egy – tudatosan és szándékosan túlságosan is leegyszerűsített – példát, a „long QT (LQT)" szindrómáét.

Biofizika tanulmányaiból ismeri a Hallgatóság az EKG görbét és annak értékelési pontjait. Az egyik paraméter, ami ezen mérhető, a Q-T intervallum, aminek a normális átlagértéke kb. 0,38 másodperc. Ennek meghosszabbodása a „long QT"; >0,42 másodperc esetén ez már kóros lehet, >0,5 másodpercnél biztosan az. A megnyúlás a repolarizáció zavarát jelenti.

Klinikailag az LQT szindrómát szívritmuszavarok jellemzik, amelyek lehetnek olyan hevenyek és súlyosak, hogy szívmegálláshoz, azaz akut szívhalálhoz vezetnek. Az LQT szindrómának van öröklött és szerzett formája. Az előbbiről elmondhatjuk, hogy a repolarizációban szerepet játszó K^+– és Na^+–csatornák valamelyike egyik fehérjéjének génje mutáns (ill. polimorfizmust mutat). A mutáció jellege szerint (domináns negatív vagy recesszív) jelenhet meg egyik vagy másik lokusz hibája domináns vagy recesszív öröklésmenettel. (Recesszívek általában a funkcióvesztéses [*„loss of function"*] mutációk – a gén, vagy annak kifejeződése teljes elvesztésével bezárólag –, dominánsak a funkciónyerésesek [*„gain of function"*]. Ezek olyan génterméket, fehérjét produkálnak, amely képes belépésével, kapcsolódásával a rendszer, vagy annak egyes tagjai működésének megzavarására. Ez a hatás különböző fokú, súlyosságú lehet.)

Bizonyos K+-csatorna hibák csak az LQT szindróma formájában jelentkeznek, mások esetén egyéb rendellenesség, pl. süketség társulhat. Ennek oka: az utóbbiban a mutáció által érintett fehérje a belső fülben is kifejeződik, ott nélkülözhetetlen funkciót lát el.

A szerzett LQT szindrómák körében a jatrogéneket[5] kell kiemelnünk. Ezek valamilyen gyógyszeres kezelés hatására jelentkeznek. Számos egyedi farmakon, ill. -csoport ismert ma már, amelyek alkalmazása a QT idő megnyúlása okán vált ki szívritmuszavart (akár a fentebb említett szívmegállással bezárólag is). Ide tartoznak például bizonyos antibiotikumok, antidepresszánsok, antidiabetikumok, antihisztaminikumok (allergia ellenes szerek) stb. és – a sors különös fintoraként – egyes, szívritmuszavarokra alkalmazott (antiarrhythmiás) gyógyszerek is. Ilyen esetben a szóban forgó gének valamelyikének vagy mutációja, vagy egy variációja (SNP[6]) áll a háttérben, ami önmagában nem, csak megfelelő hatásra hozza létre a kóros reakciót.

---

[5] *Iatrogen:* orvos által okozott, előidézett. *Iatros* (görög) = orvos, *gennon* (görög) = létrehozni, okozni.

[6] *Single nucleotide polymorphism.* (Az SNP ejtése angolul: sznip.) Mint a név is mutatja, egy bázispárra vonatkozó variációról van szó. Tulajdonképpen érdemben nem különbözik a pontmutációtól, de egyrészt ezt a kifejezést használják – általában –, ha ez a variáns 1%-nál nagyobb gyakorisággal fordul elő az adott DNS szekvenciában a népességben. Másrészt – leggyakrabban – nem mutáns egyedekben történik a felismerése, hanem valamilyen (alkalmasint enyhébb fokú)

DUPress

(A nem jatrogén eredetű egyéb okok közül megemlítjük az éhezést, elektrolit zavarokat és a hipotireózist.)

A jatrogén LQT szindrómák sorából a terfenadin által kiváltottat mutatjuk be, mert jól példázza a genom és a külső-belső környezet hatásainak együttes jelentőségét.

A terfenadin olyan antihisztaminikum (H1 receptort gátló szer), amelyet allergiás betegek kezelésére alkalmaznak. Azért szeretik előnyben részesíteni, mert nem okoz álmosságot. (Járművezetők, veszélyes munkahelyen dolgozók stb. esetén ez elengedhetetlenül fontos.) Önmagában a molekula nem H1 receptor gátló, hanem a májban alakul át terfenadin-karboxiláttá, ami a tényleges hatóanyag. A karboxilálást a citokróm P-450 rendszer (l. fentebb) egyik tagja, a CYP3 A4 végzi. Ha ez nem működik elégségesen, a molekuláris módosítás elmarad. A vérben változatlan formában keringő terfenadin a szívizomban kétféle K^+–csatorna gátlására is képes, ha azok egyike vagy másika egy fehérjéjének a génje variáns.

Milyen esetekben hiányozhat a CYP3 A4-aktivitás? *(1)* A beteg májfunkciói kórosan leromlottak (fertőző vagy egyéb eredetű májgyulladás [*hepatitis*], alkoholizmus stb.). *(2)* Valamilyen gyógyszer egyidejű alkalmazása gátolja a CYP3 A4-et. (Pl. néhány antibiotikum és antimikotikum [gombafertőzés elleni szer].) *(3)* A *CYP3 A4* gén mutációja miatt vész el (vagy csökken) az enzimaktivitás. – Látható az utóbbi esetben, hogy legalább két, egymástól független lokusz hibája (általánosabban megfogalmazva: polimorfizmusa) szükséges ahhoz, hogy valamilyen környezeti hatás (a gyógyszer adagolása) a betegségtüneteket kiváltsa (ám előfordulhat ennél bonyolultabb genetikai háttér is).

Az említett eset – egyszerűségénél fogva – jó, de a legkevésbé sem egyedülálló példa. Egyre több gyógyszerről derül ki valamilyen, ezzel egybevethető összefüggés, amelyek közös jellemzője, hogy mindig csak az azt a szert használók töredékében jelentkezik. Mindez előre vetíti annak lehetőségét, sőt minden bizonnyal közeli igényét is, hogy egyes terápiás anyagok előírását egy célzott farmakogenomikai vizsgálatnak kell megelőznie. (Ez a DNS-chip-ek világában nem irreális és irracionális felvetés.) Egy adott betegségre ható szerek közül – az egyébként teljesen és tökéletesen azonos tüneteket mutató – NN-nek ezt, XY-

működési variánsban (nem ritkán még akkor is, ha a fenotípusos következmény lehet alkalomadtán súlyos is). Végezetül az SNP egyúttal olyan génikus polimorfizmust jelent, amit nem csak kódoló szekvenciákban tartanak nyilván, hanem a teljes genomban. (Emlékeztetőül: a teljes DNS-állományunk elenyésző töredéke lát el kódoló funkciót.) L. még részletesebben a molekuláris genetikai részekben, a DNS polimorfizmusok között.

Duplicate

nak egy másikat kell felírni az optimális eredmény elérésére és/vagy a mellékhatások elkerülésére. Ez a napjainkban meredeken felívelő elméleti ismeretszerzés és gyakorlati alkalmazás az ún. ***személyre szabott gyógyszerelés*** (a *„personalized medicine"* talán így ültethető át legjobban magyarra) korszakának nyitányát jelenti. (Ami igen jól egybecseng azzal az – immár orvostörténeti jellegű és jelentőségű, fentebb egyszer már idézett – megállapítással, amely szerint „betegség nincs, csak beteg ember".)

Elképzelhető, hogy számos olyan készítmény, amely már a klinikai kipróbálás fázisába került, és ott bukott meg, akár a nem eléggé meggyőző effektus, akár valamilyen mellékhatás okán, mégis újra előkerüljön és engedélyezett gyógyszerré váljon, mert egy adott genotípus mellett kiválóan megfelel szándékolt céljának és/vagy semmiféle mellékhatása sem jelentkezik.

A fentiekből esetleg olyan kép bontakozhatott ki, hogy csakis a gyógyszerek metabolizmusában szerepet játszó enzimekre, ill. az ezeket meghatározó gének polimorfizmusára kellene koncentrálnunk. Ez felelne meg a klasszikus genetikai szemléletnek. A valóság azonban sokkal összetettebb és sokszínűbb, ez indokolta a farmakogenetika farmakogenomikává való átalakulását, továbbfejlődését. A gyógyszerek szervezeten belüli sorsában (a felszívódástól a testben való megoszláson át a kiválasztásig) jelentős szerepet játszanak az ezeket szállító molekulák, értelemszerűen az ezeket kódoló gének polimorfizmusai is[7]. Legkevésbé sem elhanyagolható – értelemszerűen – a célmolekulák (pl. különféle receptor fehérjék) lehetséges genetikai polimorfizmusa[8]. A fent már említett CYP rendszer tagjai adandó alkalommal képesek egymás – jó vagy kevésbé hatásos – helyettesítésére, vagy bizonyos kooperatív működésekre[9]. A sor hosszasan folytatható lenne, ám ez a gyógyszertani, nem pedig a genetikai tanulmányok tárgya kell legyen. Záró mondatként csak annyit, hogy az itt elméletileg érintett poligénes rendszerek működését további egyéb génikus tényezők is befolyásolják, ill. fordítva[10].

---

[7] Különös figyelem fordul manapság az ún. ABC transzporterek felé (*ATP-binding cassette transporter superfamily*), melynek tagjai a membránfehérjék rendkívül polimorf rendszerét alkotják.

[8] Vannak adatok arra nézve, hogy sokszor nem egyszerűen csak maga a genotípus, hanem ezen belül a haplotípus játszik igen fontos szerepet.

[9] Egy-egy gyógyszer lehet a saját (vagy más szerek) metabolizmusában szerepet játszó gén(ek) transzkripciójának serkentője, de akár gátlója is. Ugyanaz a szer itt induktor, amott represszor.

[10] Megfigyelték például, hogy a mély véna trombózisra hajlamosító genotípussal rendelkező nők esetében a fogamzásgátló tabletták komoly kockázati tényezőt jelentenek.

PUBress

Ökogenetika, ökogenomika

Mint láttuk, a farmakogenetika/genomika a gyógyszerek (azaz testidegen, terápiás célból alkalmazott vegyi anyagok) szervezeten belüli, a kezelt egyén genomjától függő sorsának és hatásainak (alkalmasint hatástalanságának, ill. – nem ritkán súlyos, esetenként halálos – mellékhatásainak) tanulmányozása alap-ján magát a meghatározó genotípust, ill. a genom vonatkozó összetevői szerepét vizsgálja. Az emberi szervezet azonban más forrásokból és más formákban is ki van téve testidegen vegyületeknek. (Erre úgyszintén mutattunk be példákat a fentiekben.) Ennek megfelelően helyes külön tárgyalnunk az ***ökogenetiká***t és ***ökogenomiká***t, mint ami a környezetünkben megjelenő és az emberi szervezettel valamilyen módon kapcsolatba kerülő mesterséges és természetes anyagok – de nem gyógyszerek – metabolizmusának és szokásos vagy különleges hatásainak gén-, ill. genom-függését vizsgálja.

A szervezetbe jutó anyagok metabolizmusában közreműködő gének, különböző genotípusok megnyilvánulásainak tanulmányozása fontos még a természetes táplálékainkban előforduló molekulák esetén is. A genotípusos variációk, polimorfizmusok révén (gondoljunk mondjuk SNP-re) egyes esetekben ezek metabolizmusa eltérő lehet a megszokottól. Utalhatunk itt pl. arra a – már fentebb említett – jelenségre, hogy egy babfőzelék elfogyasztása egy G-6-PD defektes emberben ***hemolitikus krízis***t *(crisis haemolyticus)* és következményes anémiát okozhat. Említettük azt is, hogy ugyanezekben bizonyos virágporok – természetes, környezetünkben rutinszerűen felbukkanó anyagok – is hasonló hatásúak lehetnek.[11]

A különböző, környezetünkben előforduló kemikáliák akárcsak használati csoportonkénti megemlítése is lehetetlen feladat elé állítaná a jegyzet íróját csakúgy, mint olvasóját. Orvosi szemléletünkhöz azonban mindenképpen hozzá kell tartozzon, hogy ezeket és ezek potenciális veszélyeit ismerjük. Közhely az élelmiszeradalékok és -színezékek példája, amelyek biztosan bekerülnek az emberi szervezetbe. Ugyanígy köztudott – elvileg – a növényvédőszereknek (peszticidek, herbicidek, fungicidek) a szakszerűtlen alkalmazás vagy a lebomlási idő kivárása nélküli felhasználás utáni feldúsulása (és alkalomadtán metabolikus

---

[11] Más összefüggésben gondolva bizonyos virágporokra: közismert, hogy ezek egy része allergénként viselkedik, de nem minden fajta pollen és nem minden emberben vált ki egyformán allergiás reakciót. Az érzékeny és megbetegedett személyek pedig nagy különbségeket mutat-(hat)nak a különböző növényfajtákat illetően csakúgy, mint tüneteikben. (Valamint az alkalmazott terápia hatásosságára vagy hatástalanságára vonatkozóan is – de ez már megint a farmakogenomika tárgykörébe tartozik.)

transzformációja) a táplálékláncban, és jelenléte élelmiszereinkben. Kozmetikumok rendeltetésszerű használata megkívánja az emberi szervezettel, a – jó felszívó felszínt jelentő – bőrrel való érintkezésüket. (De lehet ez utóbbi nemkívánatos alkalmazási hiba is, pl. a hajfestékek esetén.) A vegyipar számos termékével (és köztitermékével, oldószereivel) kerülnek naponta kapcsolatba nem csak az ezekkel dolgozók, hanem a szállítók, forgalmazók és felhasználók is. Mindezen vegyületek között számos olyan lehet, amely csak egy bizonyos genotípus mellett ártalmas, ill. ártalmas rendkívül kis, mások által jól tolerált mennyiségben (koncentrációban) is. Ismertek anyagok, amelyek önmaguk nem rákkeltők, de egy bizonyos anyagcsereút által átalakítva már azzá válnak. Ezek megtalálhatók például – az egyébként minden környezetvédelmi szabványnak megfelelő – kipufogógázokban is (amelyek a forgalmas utcák és környékük légterét uralják).

Ismert, hogy sokszor maga a dohányos nem szenved komoly, egyértelműen e káros szokására visszavezethető ártalmat, hanem csak valaki a környezetében, aki nem is cigarettázik. Vannak alkoholisták, akik korán áldozatává válnak szenvedélyüknek, mások – hasonló italozási szokások mellett – idős korukban és nem az etilalkohol ismert kóroki hatásai miatt halnak meg. Aligha adódik az ilyen jelenségekre más magyarázat, mint az emberiség, a *Homo sapiens* faj igen nagyfokú genetikai polimorfizmusa. Ennek tényezői ma még nagyrészt ismeret-lenek, de esetleg egy évtizeden belül tisztázottak és jól vizsgálhatók, akár prenatálisan diagnosztizálhatók is lehetnek.

Az anyai hatás (l. 8. fejezet) génjeinek polimorfizmusa – akár monolokuszos megjelenésben, akár pedig több génre vonatkoztatva, azaz genomikai megközelíthetőségben – teremthet olyan helyzetet, amelyben valamilyen külső ártalom (különféle kémiai ágensek – ide értve mindenekelőtt a dohányzást –, vitaminhiány és egyebek) a petesejt fejlődésében idéz elő olyan zavar(oka)t, amely(ek) a zigóta és embrió differenciálódásában okoz(nak) többé-kevésbé súlyos rendellenesség(ek)et. Ugyanezek vagy hasonló eltérések kialakulhatnak azonban a fejlődő embrió saját genotípusa függvényében is, ráadásul akár magas vagy alacsony heritabilitás mellett, azaz a genom és a környezet különböző mértékű oki szerepével. Ha a genomot nem is tudjuk kedvezően megváltoztatni, a káros környezeti hatások lehetőség szerinti teljes kiiktatása, elkerülése mindenképpen orvosi feladat is, legalábbis a megfelelő, az egész társadalomra kiterjedő felvilágosítás szintjén feltétlenül. Ne feledjük: **az anyai hatás génjeinek kifejeződése a szóban forgó ovuláció előtti hónapokban történik!** A környezeti hatások optimalizálása (pl. megfelelő vitaminbevitel) tehát a tervezett fogamzás idejét

messze meg kell előzze. Más szavakkal: elkésett az anyaságra való felké-szülés, ha valaki erre csak akkor gondol, amikor már észlelte, hogy várandós.

E rövid és felületes áttekintés semmiképpen sem a riogatás céljából került ebbe a jegyzetbe. Orvosi elkötelezettségünk és hivatásunk azonban nem csak a betegek kezelését, hanem a betegségek és ártalmak megelőzését is előírja számunkra, s ennek egyik elsőrendű fontosságú tényezője, hogy a laikus társadalomban az orvosok, de ne csak ők, hanem minden egészségügyi diplomás személy a tudo-mány mindenkori fejlettségének megfelelő álláspontot képviselje, és a vonatkozó ismereteket terjessze.

Összefoglalás

(1) Nem csak az ismert anyagcsereutak enzimei lehetnek hibásak vagy a normálistól eltérő működésűek, hanem azok is, amelyek egyes gyógyszerek metabolizmusában játszanak szerepet, ill. olyan fehérjék is, amelyek a felszívódásban, szállításban (a szervezetben való megoszlásban), kiválasztásban működnek közre, vagy a gyógyszerek célmolekuláiként szerepelnek. Egyes emberekben egy-egy gyógyszer lehet hatástalan vagy a vártnál (lényegesen) gyengébb ill. rövidebb hatású, míg másokban éppen ellenkezőleg, egy adott szer túlzott, elhúzódó effektusú, esetleg mellékhatásai jelentkeznek és kerülnek az előtérbe. Alkal-masint a másokban valóban gyógyító szer mérgezőnek mutatkozhat néhány ke-zelt betegben. Mindezek génikus hátterével hagyományosan a farmakogenetika, ma már inkább a farmakogenomika foglalkozik.

(2) Az ebben a vonatkozásban eddig megismert enzimek közül a citokróm P-450 rendszer tagjai tűnnek a legfontosabbaknak.

(3) A farmakogenomika annyiban lép túl a farmakogenetika vizsgálódási körén, hogy genomiális összefüggésben (is) vizsgálja a gyógyszerek hatásainak genetikai hátterét, másrészt az esetleges gyógyszerkölcsönhatásokra is kiterjed figyelme, nemkülönben a belső és külső környezeti tényezőkre.

(4) Vannak genotípusok, amelyek nem csak bizonyos gyógyszerekre adott reakciókat változtatnak meg a nagy populációs átlaghoz képest, hanem az ilyenekkel rendelkezők hajlamosak egyes környezeti tényezők hatására is kórosan reagálni. Pl. a G-6-PD defektes egyének hemolízist produkálnak bizonyos gyógy-

Dubress

szerek bevétele után csakúgy, mint egy babfajta elfogyasztásakor, vagy a környezetükben megjelenő egyes virágpor-féleségek hatására.

(5) Rokon a farmakogenetikával és farmakogenomikával az ökogenetika, ill. ökogenomika. Itt a vizsgálatok tárgya az emberi szervezettel érintkezésbe kerülő, oda bejutó – nem gyógyszerként alkalmazott – kémiai anyagok káros/kóros hatásai genom-függőségének tanulmányozása.

(6) Az egészséges életmód, a környezetünk szennyezése elleni küzdelem sok ártalmat megelőzhet a hajlamosító genotípussal rendelkezőkben is. Kiemelt jelentőséget kell tulajdonítanunk ilyen szempontból a zigóták és embriók védelmének – már a fogantatásuk előtt is.

Kérdések

(1) Miért térhet el egyazon gyógyszer hatása azonos diagnózisú, különböző betegekben?

(2) Lehetnek-e eltérések különböző populációk, különböző nagyobb embercsoportok (rasszok) tagjai között a gyógyszerhatás megnyilvánulásának génikus tényezői között?

(3) Melyik szervünkben találhatók elsődlegesen azok az enzimek, amelyek a szervezetbe jutott gyógyszerek kémiai módosításáért felelősek?

(4) Melyik enzimrendszer tagjai játsszák a fő szerepet a gyógyszerek metabolizmusában (aktiválásában, inaktiválásában stb.)?

(5) Hogyan öröklődik és milyen következményei lehetnek a G-6-PD defektnek?

(6) Mi a farmakogenomika vizsgálati köre?

(7) Mondjon példát olyan emberi rendellenességre, amelynek génikus és környezeti oka egyaránt lehet!

(8) Miért tarthatjuk fontosnak egy orvos számára az ökogenomikai szemlélet kialakítását?

DUPress

Válaszok

(1) Valamely gyógyszer metabolizmusában szerepet játszó enzim(ek) működési különbsége(i) miatt, aminek alapja az adott beteg genotípusa.

(2) Természetesen lehetnek. A különböző populációkban – kevés kivétellel – általában ugyanazok a gének fordulnak elő, de nem ritkán jelentősen eltérő gyakorisággal, így egy-egy genomikusan meghatározott reakció számottevő variációkat (polimorfizmust) mutathat az eltérő népességek tagjai között. Ha a világunkban egyre nagyobb arányú migrációra gondolunk, akkor erre a körülményre a magyar orvosoknak is tekintettel kell lenniük.

(3) A májban.

(4) A citokróm P-450 család tagjai.

(5) X-hez kötött recesszív öröklődésű. Az ebben szenvedők vörösvérsejtjei rendkívül érzékenyek bizonyos gyógyszerek adagolására (a legközönségesebb ezek között az Aspirin), de környezeti hatásokra is: *Vicia fava* bab fogyasztása (favizmus), vagy bizonyos virágporok belégzése is a vörösvérsejteknek a kerin-gésben való szétesését (hemolízis) okozza.

(6) A genom szerepét vizsgálja a különböző gyógyszerek hatásának egyéni kialakulásában, főleg pedig annak különböző megváltozásaiban, ide értve az egyes személyekben esetlegesen jelentkező súlyos mellékhatásokat is.

(7) E fejezetben az LQT szindróma szerepel, de nagyon sok más példa is sorolható lenne. Ebben a tünetegyüttesben oki tényező lehet a citokróm P-450 rendszer egyik tagjának öröklött defektje csakúgy, mint bizonyos májbetegségekhez társuló aktivitás-vesztése, de megzavarhatja valamilyen gyógyszer hatása is ennek az enzimnek a működését. (Az utóbbi esetben a rendellenesség természetesen csak átmeneti.)

(8) Azért, mert számtalan környezeti vegyi behatás, ártalom érheti az emberi szervezetet, amely ezekre genomi adottságainak függvényében különféleképpen, esetleg éppen fatális kimenetellel járóan reagálhat. Ide értendő az embrionális fejlődésre az anyai szervezeten keresztül ható ártalmak sora is, amelyek lehetnek mind az anyai, mind az embrionális genom (ill. ezek valamilyen kölcsön- vagy együtthatásának) függvényei.

Budapress

DEBRECENI EGYETEM
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR
HUMÁNGENETIKAI TANSZÉK

ÁLTALÁNOS ÉS HUMÁN-GENETIKA

jegyzet

I. éves gyógyszerész hallgatók számára, valamint
a molekuláris biológus képzés céljaira

II. kötet

Debreceni Egyetemi Kiadó
Debrecen University Press
2017

DUPress

Írták:
Birkó Zsuzsa
Biró Sándor
Fehér Zsigmond
Penyige András
Schlammadinger József
Sipiczki Mátyás
Szeszák Ferenc
Szentesiné Szirák Krisztina
Vargha György
Vitális Sándor

Felelős szerkesztő:
Dr. Schlammadinger József

A technikai szerkesztés Szeszák Ferenc és Schmelczer Iván munkája.

Fedőlap: A *Drosophila melanogaster* násztánca és párosodása. A muslica a genetika fejlődése szempontjából manapság is az egyik legfontosabb kísérleti állat, a rajta tett megfigyeléseknek köszönhetjük jelen tudásunk tekintélyes részét. (Az ábra B. Burnet és K. Conolly *The Genetics of Behaviour* c. könyvben megjelent cikke nyomán [North-Holland Kiadó 1974, szerk.: J. H. F. van Abeelen] készült.)

A szerzők köszönetet mondanak Balogh Erzsébet tudományos főmunkatársnak (DE OEC Gyermekgyógyászati Klinika) számos eredeti, klinikai mintából származó kariogram rendelkezésre bocsátásáért.

ISBN 978-963-318-653-4

© Debreceni Egyetemi Kiadó Debrecen University Press,
beleértve az egyetemi hálózaton belüli elektronikus terjesztés jogát is

Kiadta a Debreceni Egyetemi Kiadó Debrecen University Press
Felelős kiadó: Karácsony Gyöngyi
Készült a Debreceni Egyetemi Kiadó nyomdaüzemében, 2017-ben

DUPress

Tartalomjegyzék

10. A kromoszómák
Schlammadinger J., Szeszák F. 287

Kromoszómák felépítése 288
A kromoszómák fénymikroszkópos szerkezete 289
Az eukarióta kromoszómák fő szerkezeti fehérjéi a hisztonok 290
A kromatin szerkezeti alapegységei a nukleoszómák 290
Nukleoszómák elhelyezkedése a kromatinszál mentén 291
Nukleoszómák összeszerelődése magasabbrendű szerkezetekké a H1 hisztonok segítségével 293
A kromatin hurkos elrendeződése és a kromoszóma szerkezete a metafázisban 296

funkcionális különbségek a nukleoszómák szerkezetében 295
A kromoszóma finomszerkezete az interfázisban és az osztódás folyamán 297

Nukleoszómák viselkedése az RNS átírás és a DNS replikáció folyamán 303
A kromoszóma preparálás és kromoszóma analízis módszerei 297
Centromerek és telomerek 309
A kromoszómák szerkezete a modern molekuláris genetika eredményeinek tükrében 310
Az emberi kromoszómák 313
Az ember kariotípusa 314
Nemi kormatinok és a Lyon hipotézis 317

11. CITOGENETIKA
Schlammadinger J. 333

Számbeli kromoszóma rendellenességek **334**
Autoszómák triszómiái 338
Nemi kromoszómák számbeli rendellenességei 344
Kimérizmus 349
Uniparentális diszómia és kromoszómális imprinting **350**
Strukturális kromoszóma rendellenességek 352

DUPress

Deléciók 354
Duplikációk 356
Transzlokációk 356
Inverziók 361
Izokromoszóma 362
Kromoszómatörés 364
Vetélések, halvaszületések és kromoszóma rendellenességek 367
Daganatok és kromoszóma rendellenességek 368

12. GÉNSZERKEZET ÉS GÉNMŰKÖDÉS Fehér Zs. 379

A DNS – örökítőanyag 380
A gén fogalma **382**
Az egy gén egy enzim hipotézis és továbbfejlesztése 382
A génfogalom definíciója genetikai módszerrel. A cisztron fogalma 385
A DNS szerkezete 388
A DNS – kettős hélix 390
Denaturáció, renaturáció és hibridizáció 393
A DNS szuperhelikális szerkezete 396
Replikáció: DNS → DNS 397
Replikációs buborékok és villák 399
A bakteriális DNS replikációjához szükséges fehérjék 401
Az eukarióta DNS-replikáció egyedi sajátosságai 404
Transzkripció: DNS → RNS 407
Az RNS molekulák különböző fajtái 411
Transzláció: RNS → fehérje 414
Az eukarióta transzláció jellegzetességei 420
A katalitikus RNS (ribozim) 422

13. A genetikai információ és annak változásai I Biró S. 433

A genetikai kód három betűs szavakból áll **434**
A genetikai kód megfejtése 436
A genetikai kód tulajdonságai 437

Pl. Press

Mutációk **440**
Báziscserék típusai 441
Spontán és indukált mutációk 443
Mutációs forrópontok 444
Hemoglobin mutációi **445**
Sarlósejtes anémia 445
Egyéb aminosavcserék 446
A talasszémia különböző formái 449
Kémiai mutagenezis **452**
Mutációk tesztelése 453
Az Ames-teszt 454
Testvérkromatid-kicserélődés 456
A sugárzások hatásai **458**
Az embert érő ionizáló sugárzások 459
A sugárzások következményei 460
A meghibásodott DNS molekulák kijavítása **462**
1. Javítás új DNS szintézise nélkül 463
2. Javítás a meghibásodott DNS szakasz kivágásával (excíziós repair). 464
Nem-komplementer bázispárok kijavítása 466
Javító mechanizmusok, amelyek valójában nem javítanak 467
Rekombinációs vagy replikáció utáni javítás 467
Vészreakció az *E. coli* ban, avagy a DNS hibás „javítása" 468
A DNS javítás elmaradásának következményei 468

14. A genetikai információ és annak változásai II
Vitális S., Fehér Zs., Sipiczki M., Szeszák F. **475**
A genetikai rekombináció molekuláris mechanizmusa 476
Az általános (homológ) rekombináció 476
Specifikus rekombinációk 481
Fág genom integrálódása és kivágása 482
Rekombináció IS elemek részvételével 483
Hin/hix rekombináz rendszer működése *Salmonellá*ban 484
Nem-konzervatív szakasz-specifikus rekombináció 486

Dürress

Mozgékony elemek a genomban **490**
A transzpozíció típusai **490**

A mozgékony genetikai elemek típusai **492**
Az inszerciós szekvenciák (IS elemek) 492
Transzpozonok 493
Transzpozonok baktériumokban 493
Transzpozonok eukariótákban 497
Mozgékony genetikai elemek plazmidokon 498
A transzpozíció molekuláris mechanizmusa baktériumokban 499
Retroelemek és retroszekvenciák **504**
Mozgékony elemek a humán genomban; *ALU* és *l1* szekvenciák 508
Hogyan fejlődhettek ki a ma ismert eukarióta gének és fehérjék? **510**
A moduláris fehérjék 511

15. Bakteriális genetika
Biró S., Fehér Zs. **509**

A transzformáció **523**
Konjugáció: egyirányú génátvitel baktériumok között és a plazmidok **525**
A baktérium-kromoszóma 530
A bakteriofágok életciklusa és a transzdukció **532**
A génexpresszió szabályozása prokariótákban **538**
Konstitutív enzimszimtézis 540
Indukálható és represszálható enzimszintézis 540
Az operonális szabályozás és elemei 541
Az *Escherichia coli lac* operonja 542
Az *Escherichia coli trp* operonja 546
Az operonális szabályozás módosulásai 549

DUPress

16. Gének működésének szabályozása a magasabbrendűekben

Szeszák F. 551

Az eukarióta genom jellegzetességei **560**
Szekvenciaféleségek az eukarióta genomban 561
Néhány fontosabb ismétlődő DNS szekvencia 562
Evolúciós szempontból rokon fajok DNS szekvenciáiban megkülönböztetünk konzervált és nem-konzervált régiókat 564
Mit nevezhetünk az eukariótákban génnek? 564
Pszeudogének és immunglobulin gének 566
Az RNS szintézise és érési folyamatai az eukariótákban **567**
Eukariótákban háromféle RNS polimeráz enzim működik 568
Az RNS szintézis iniciációjának lépései 568
Az mRNS-ek prekurzorai mindkét végükön kovalens módosulást szenvednek 571
Az mRNS kialakulása; a hnRNS átszabása (RNA processing és splicing) **572**
Hogyan megy végbe a nem kívánt részek törlése a hnRNS-ből? 572
A hírvivő RNS-ek nem juthatnak ki a citoplazmába, amíg az átszabás folyamata be nem fejeződik. 576
A riboszomális RNS molekulák egymás után ismétlődő azonos génekről íródnak át 577
A hnRNS alternatív átszabásával ugyanazon génről különböző fehérje-termékek keletkezhetnek **578**
A gének aktivitását szabályozó fehérjék **580**
Az intracelluláris receptorhoz kötődő hormonok – génszabályozó fehérjék ligandjai 585
Génaktivitás és kromatin szerkezet **587**
Az RNS átírása a kromatin struktúrában 587
A kromatin szerkezetváltozásainak összetevői 587
A kromatin magasabbrendű szerkezeti szintjeinek változásai 588
A DNS szerkezetének változása, metiláció 589
A CpG szigetek 591
Imprinting – genomi rögzítés **583**
Egyes gének, géncsoportok életre szóló inaktiválása a petesejtek és spermiumok képzése során 592
A rögzítés folyamata 593
Az imprinting következményei 596
A gének kifejeződésének mértékét befolyásoló egyéb mechanizmusok 599

Dunress

DUPress

10. FEJEZET

A KROMOSZÓMÁK

A kromoszómák felépítése

A kromoszómák fénymikroszkópos szerkezete
Az eukarióta kromoszómák fő szerkezeti fehérjéi a hisztonok
A kromatin szerkezeti alapegységei a nukleoszómák
Nukleoszómák elhelyezkedése a kromatinszál mentén
Nukleoszómák összeszerelődése magasabbrendű szerkezetekké a H1 hisztonok segítségével.
Funkcionális különbségek a nukleoszómák szerkezetében
A kromatin hurkos elrendeződése és a kromoszóma szerkezete a metafázisban
A kromoszóma preparálás és kromoszóma analízis módszerei
Centromerek és telomerek
A kromoszómák szerkezete a modern molekuláris genetika eredményeinek tükrében

Az emberi kromoszómák

Az ember kariotípusa

Nemi kormatinok és a Lyon hipotézis

Függelék

Nagyjából akkortájt, amikor Mendel elkezdte kísérleteit a borsóval, Virchow megfegalmazta „*Omnis cellula e cellula*" (sejt csak sejtből lehet) tételét, vagysis arra az akkor újszerű gondolatra jutott, hogy sejtek nem keletkeznek élettelen anyagból, hanem más sejtekből jönnek létre. Szemlélete jelentős mértékben elősegítette a sejtosztódás kutatását, amelyről ma már tudjuk, hogy a növények és állatok szaporodásának és fejlődésének alapvető folyamata. A hisztológiai és hisztokémiai módszerek fejlődésével tanul-

DUPress

mányozhatóvá vált a sejtek belső felépítésének számos eleme. A sejtmagban fonalas struktúrák ciklikus változását figyelték meg. Később ezeket a fonalakat ***kromoszómák***nak (a görög *chroma* „szín" és *soma* „test" szavakból származtatva) nevezték el.

Később a kutatás egyrészt a kromoszómák szerkezetének megismerésére, másrészt pedig az örökletes anyag, a dezoxiribonukleinsav kémiájának felderítésére irányult. Ebben a fejezetben röviden áttekintjük mindazt, amit a kromoszómák fizikai és kémiai mivoltáról tudunk.

A kromoszómák felépítése

Meg kell tehát különböztessük a kromoszómákat, mint az sejtek osztódása (l. 1. fejezet) során láthatóvá váló sejtalkotókat, de úgy is mint genetikai információ hordozóit, amelyek a sejtben természetszerűleg állandóan jelen vannak és ciklikus változásuk egyik állapotát képviselik a mikroszkópban is látható kromoszómák (10.1. ábra). Élettani viszonyok között az eukarióta sejtek DNS-ének mindig csak rövid szakaszai maradnak szabadon, egyébként ***kromatin*** szerkezetbe ágyazódnak (l. alább). Az egy-egy kromoszóma DNS-éből kromatinná szerveződött fonalat nevezzük ***kromatid***nak.[1] Az osztódások közötti időszakban (interfázis) a kromatin szálai, ill. az azok tömörülésével kialakuló rögök részletei fénymikroszkóppal nehezen tanulmányozhatók, de azt sikerült kimutatni, hogy az egyes kromoszómák a sejtmag belvilágának egy-egy meghatározott tér-részletét foglalják el, nem fonódnak egymásba.

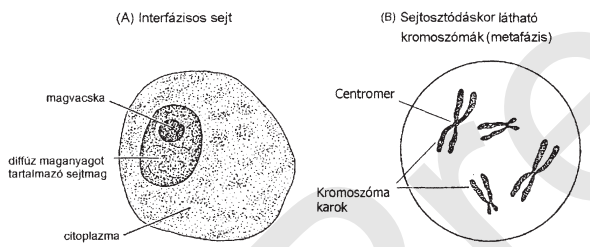
A DNS megkettőződése előtt (G_1 fázis) egy emberi testi sejt 46 kromoszómáját 46 kromatid fonal képviseli, a kromoszómák egykromatidosak. A replikáció után viszont (G_2 fázis) a kromoszómák 2-2, a centromer régiójuknál összekapcsolódva maradt kromatidból, ún. ***testvér-kromatid***ból állnak. Az osztódás kezdetekor a kromoszómák anyaga további feltekeredés és átrendeződés következtében egyre kompaktabbá válik, a kromoszómák kezdenek a fénymikroszkópban láthatóakká válni. Számuk, néhány kivételtől eltekintve, egy szervezet valamennyi sejtjében azonos, fajra jellemző. Például az ember 46, az emberszabású majmok 48, a kutya 78, a ponty 104, a gyümölcslégy pedig 8

[1] A megkülönböztetésre szükség van, mert mikroszkópban is látunk és biokémiai vizsgálatok során is gyakran nyerünk olyan preparátumot, melyekben a DNS kromatin szerkezetbe van ágyazódva, de annak genetikai állományát nem ismerhetjük.

kromoszómával rendelkezik sejtenként. A növények közül a burgonyának 48, a babnak 12 kromoszómája van.

A KROMOSZÓMÁK FÉNYMIKROSZKÓPOS SZERKEZETE

A sejtosztódás során a kromoszómák megfelelő festési technikákkal láthatóvá tehetők és méretük, alakjuk alapján azonosíthatók (10.12. ábra). Minden kromoszómában van egy ún. elsődleges befűződés, a ***centromer***, amely a kromoszómák mozgatásánál fontos (l. 1. fejezet). A centromer egy adott kromoszóma mentén mindig ugyanott helyezkedik el és azt két részre, ún. ***karok***ra osztja.



10.1. ábra. *Az interfázisos sejtmag és az osztódó sejt kromoszómáinak vázlatos képe*, ahogy azok a fénymikroszkópban láthatók (két pár kromoszómát tartalmazó sejt).

A leginkább kondenzált állapotukban (a ***metafázis***ban) a testvér-kromatidok már részlegesen elkülönülnek egymástól. Centromerjüknél fogva azonban továbbra is kapcsolódnak egymáshoz, így X-re vagy V-re emlékeztető alakjuk van. Ez attól függ, hogy a ***centromer*** a kromoszóma mentén hol helyezkedik el. Az olyan X-alakú kromoszómákat, amelyekben a centromer középtájon helyezkedik el, ***metacentrikus***nak nevezzük. Az ***akrocentrikus kromoszómák***on (nevük a görög *akros* „legfelső" vagy „szélső" kifejezésből származik) a centromer a kromoszóma valamelyik végéhez közel van. Teljesen végálló centromerek esetén ***telocentrikus*** krmoszomákról beszélünk (emberben nem fordul elő). A legtöbb kromoszóma alakja a két szélsőséges forma között képez átmenetet, ezek ***szubmetacentrikus kromoszómák*** (l. BiolJegyz 9. fejezet).

A fajra jellemző kromoszómakészletet ***kariotípus***nak nevezzük. A normális kariotípustól való eltérések gyakran járnak rendellenességekkel, vagy éppen halálosak (l. 11. fejezet). A legtöbb magasabbrendű faj egyedei kromoszóma készletüket két szülőtől öröklik, igy testi sejtjeik két-két kromoszómája egymáshoz igen hasonló (homológ), ezek a sejtek diploidok (emberben 46), amit 2n-nel is jelölünk. A petesejtekben és speriumokban 1-1 sorozat kromoszómát találunk, ezek haploidok (n, embernél 23). A haploid

(n) gaméták egyesüléséből keletkeznek aztán a megtermékenyítéskor a diploid (2n, embernél 46) zigóták.

AZ EUKARIÓTA KROMOSZÓMÁK FŐ SZERKEZETI FEHÉRJÉI A HISZTONOK

Ha kromoszómák egyszerű dupla helix DNS-ből épülnének fel, nehezen lenne elképzelhető azok replikációja és a leánysejtekbe való továbbítása a hosszú láncmolekulák összegabalyodása és szétszakadása nélkül. Azt látjuk, hogy a kromoszómák DNS állománya specializálódott fehérjékkel kompakt szerkezetbe van beépülve. A magfehérjéknek tradicionálisan két csoportját különböztetjük meg: a ***hisztonok***at és a ***nem-hiszton kromoszómális fehérjék***et. Azt a szupramolekuláris struktúrát nevezzük ***kromatin***nak, amelyeket ezek a fehérjék a DNS-sel alkotnak. Hiszton fehérjéket csak eukariótákban találunk. Egy tipikus eukarióta sejtmagban a hisztonok össztömege megegyezik a DNS tömegével.

A hisztonok viszonylag kis molekulájú fehérjék, melyekben a bázikus aminosavak (lizin és arginin) túlsúlyban vannak. A pozitív töltés biztosítja a hisztonok erős kötődését a DNS-hez, függetlenül annak nukleotid sorrendjétől. Hisztonok ritkán disszociálnak le a DNS-ről és valószínűleg hatással vannak minden olyan folyamatra, amely a kromatinban végbemegy.

A hisztonok között megkülönböztetünk ***nukleoszomális hisztonok***at és ***H1 hisztonok***at. Az előbbiek – a ***H2A, H2B, H3 és H4*** – vesznek részt a nukleoszómák felépítésében. Polipeptid láncuk 102-135 aminosavból áll. A H3 és H4 evolúciós értelemben a legkonzerváltabb fehérjék közé tartoznak. A szarvasmarhából és a babból izolált H4 hiszton aminosavsorrendjében mindössze 2 helyen találunk különbséget. Ez azt sugallja, hogy funkciójukhoz majdnem minden aminosavukra változatlan formában van szükség és az aminosav-szekvenciában bekövetkező bármilyen változás végzetes az illető mutáns sejt számára. A H1 hisztonok nagyobbak (kb. 220 tagú polipeptid lánc), és evolúciósan kevésbé konzerváltak.

A KROMATIN SZERKEZETI ALAPEGYSÉGEI A NUKLEOSZÓMÁK

Egy humán sejtmagban helyet foglaló DNS össz-hossza kb. 1,7 méter. A hisztonoknak döntő szerepe van abban, hogy ez a DNS tömeg olyan struktúrába rendeződik, mely elfér a néhány μm átmérőjű sejtmagokban. Másrészt, a DNS-nek a kromatinba való

bapakolása nem teljesen egyenletes, és a bepakolás módjában meglévő különbségeknek szabályozó szerepük van a gének működésében.

A kromatinba pakolás egységét, a ***nukleoszómá***t 1974-ben fedezték fel, amely a kromatinnak gyöngyfűzér-szerű (*„beads-on-a-string"*) megjelenést kölcsönöz (10.2A. ábra).

A kromatin fonal szétdarabolható nukleoszómákká olyan enzimekkel, amelyek hasítják a duplaszálas DNS-t. Enyhe nukleáz kezelés alkalmával csak a nukleoszómákat összekötő DNS szakaszok emésztődnek, a kromatin korong-alakú töredékekre hullik szét, és 146 bp[2] DNS marad a ***hiszton oktamer***eken. A korong alakú nukleoszómákban a DNS dupla helix kétszer csavarodik körül a 2-2 molekula H2A, H2B, H3 és H4 hisztonból álló oktamereken. Egy nukleoszóma átmérője kb. 11 nm (10.2B, C és D ábra). A kromatinban a DNS folyamatos fonalként halad tova nukleoszómától nukleoszómáig. A nukleoszómák közötti lánc-részeket nevezzük ***összekötő DNS***-nek (*linker DNA*). Ezek hossza 1-80 nukleotid-pár között változhat. A nukleoszómák átlagban 200 bp-ként követik egymást (nagy eltérésekkel, l. alább). Egy tipikus, hozzávetőleg 10 kbp hosszú eukarióta gén a kromatinban kb. 50 nukleoszómának megfelelő hosszúságú szakaszon fér el.

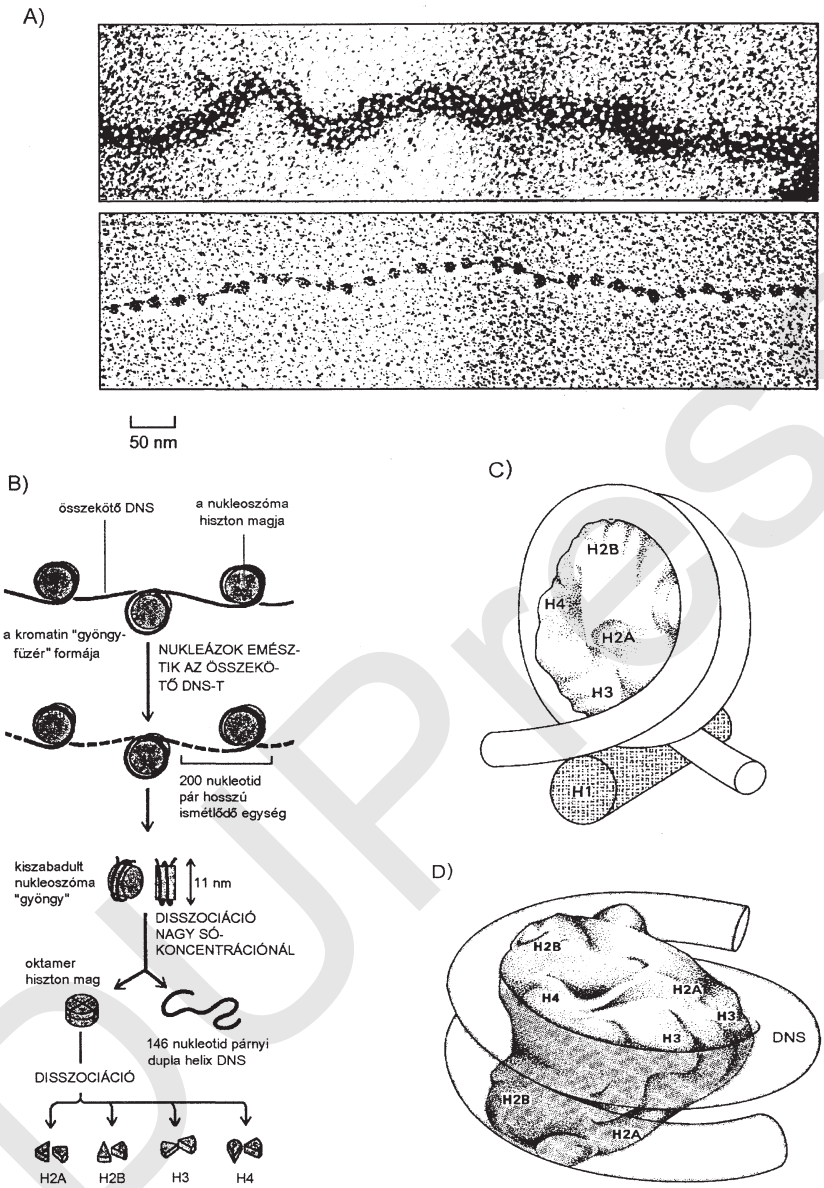
NUKLEOSZÓMÁK ELHELYEZKEDÉSE A KROMATINSZÁL MENTÉN

In vitro kísérletek azt mutatják, hogy fiziológiás körülmények között a nukleoszómák pozíciója a kromatin szálak mentén nem változik, azok a DNS mentén nem „csúszkálnak", a kötődési helyek nem szekvencia-specifikusak.

A kromatinban a hisztonok és a DNS össztömege hozzávetőlegesen megegyezik egymással, ezért a DNS replikációja alkamával nagy mennyiségű új hisztonra van szükség. A gerincesek haploid genomjában a hiszton gének kb. 20 példányban vannak jelen. A citoplazmában megszintetizálódott hisztonok a maghártya pórusain keresztül vándorolnak a sejtmagba. A replikáció során a nukleoszómák a replikációs villa tovahaladásakor lap szerint feleződnek, majd az új hiszton molekulákkal kiegészülve szerelődnek újra össze. Így a nukleoszóma magok végig kötve maradnak a DNS-hez. Az újonnan szintetizálódott kromatin lassú, kb. 1 óráig tartó érési folyamaton megy keresztül.

---

[2] bp = bázispár, kbp = kilobázis pár, a nukleinsav láncok hosszát jelentik. Tudományosan tulajdonképen „nukleotid pár", ill. „1000 bázispár" korrektebb lenne, de a szakirodalomban a bp, ill. kbp honosodott meg általánosan.


A)
50 nm
B)
összekötő DNS
a nukleoszóma hiszton magja
a kromatin "gyöngy-füzér" formája
NUKLEÁZOK EMÉSZTIK AZ ÖSSZEKÖTŐ DNS-T
200 nukleotid pár hosszú ismétlődő egység
kiszabadult nukleoszóma "gyöngy"
11 nm
DISSZOCIÁCIÓ NAGY SÓKONCENTRÁCIÓNÁL
oktamer hiszton mag
146 nukleotid párnyi dupla helix DNS
DISSZOCIÁCIÓ
H2A
H2B
H3
H4
C)
H2B
H4
H2A
H3
H1
D)
H2B
H4
H2A
H3
H3
DNS
H2B
H2A

DUPress

10.2. ábra. *A nukleoszómák és a kromatin szálak szerkezete.* **A)** Kromatin-szálakról készült elektronmikroszkópos felvétel, a kromatint olyan eljárás előtt, ill. után mutatja, amely a szálakat dekondenzálja. A natív kromatin fonal 30 nm vastag (szolenoid struktúra), a dekondenzálás után kapjuk a „*beads-on-a-string*" alakot. **B)** A nukleoszómák a hiszton oktamerből, az azok körül kétszer körbe tekeredő DNS-ből (146bp), valamint az összekötő DNS-szakaszokból állnak. A hiszton oktamer a H2A, H2B, H3 és H4 hisztonok mindegyikéből 2-2 molekulát tartalmaz. Össz-mol. tömege kb. 100 kDa. **C)** és **D)** Nukleoszóma 3 dimenziós képe két nézetben. Két H2A-H2B dimer fog közre egy H3-H4 tetramert. A H1 hiszton összekapcsolja a DNS ki- és belépési pontjait. Ezzel együtt összesen 166 nukleotid-párnyi DNS kapcsolódik a hisztonokhoz.

NUKLEOSZÓMÁK ÖSSZESZERELŐDÉSE MAGASABBRENDŰ SZERKEZETEKKÉ A H1 HISZTONOK SEGÍTSÉGÉVEL

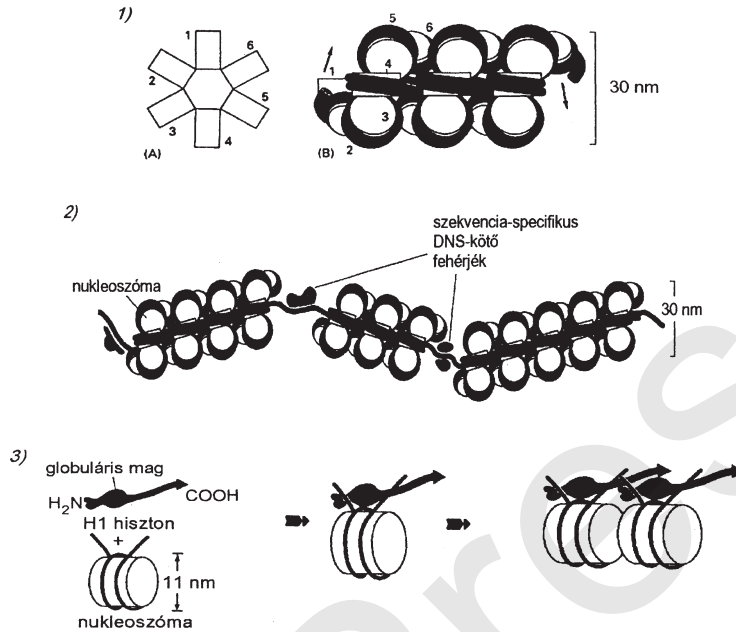
Élőben a DNS mentén a nukleoszómák igen hosszú láncokat képeznek, de a vékony „*beads-on-a-string*" formát ritkán veszik fel. Gyakrabban találhatók egy magasabbrendű, szabályos csavarulatba, ún. ***szolenoid*** szerkezetbe rendeződve, melyben a DNS még inkább kondenzálódik. Ennek a fonalnak a vastagsága kb. 30 nm (10.3/1. ábra).

Ez egy sematizált szerkezetet jelent, mivel mind az összektő DNS szakaszok hosszának változása, mind különböző szekvencia-specifikus DNS-kötő fehérjék kötődése a szolenoidban szabálytalan elrendeződésű megszakításokat eredményez (10.3/2. ábra).

A H1 hisztonnak emlősökben 6, egymással rokon aminosav-szekvenciájú altípusa van jelen. A szolenoid nukleoszómáit valószínűleg a H1 hiszton kapcsolja egymáshoz. (10.3/3. ábra).

Összefoglaló áttekintést ad a DNS-t befogadó szupramolekuláris struktúrákról a 10.4. ábra. A nukleoszómákba történő szerveződés eredményeként a DNS kb. 1/7-nyire rövidül. A további magasabbrendű struktúrákba való rendeződés eredményeként végül az emberi metafázis kromoszómát alkotó kromatid a benne lévő DNS dupla-helix hosszához viszonyítva 8000-10 000-szeresen rövidebb.

DUPress



10.3. ábra. *A 30 nm-es kromatin szál (szolenoid) szerkezete és a H1 hiszton szerepe. 1)* A modell azt mutatja, hogyan rendeződhetnek a nukleoszómák a 30 nm-es fonalban. (A) Felülnézet. (B) Oldalnézet. A szerkezet kialakulásához nukleoszómánként 1 molekula H1 hiszton jelenléte szükséges. A 30 nm átmérőjű fonalban 6 nukleoszóma alkot egy csavarmenetet. *2)* A szabályos lefutású szolenoid fonalban gyakran látunk rövid megszakításokat. Ezek a szakaszok gyakran DNáz I érzékenyek. Ezeken a helyeken egy, vagy több szekvencia-specifikus DNS kötő fehérje szorítja le a nukleoszóma magokat a DNS-ről. *3)* A H1 hiszton globuláris régiójával kapcsolódik a nukleoszómák felszínéhez ott, ahol a DNS be-, ill. kilépési pontja van. A H1 hiszton molekulák egymáshoz való kapcsolódása tartja össze a nukleoszómákat a szolenoid struktúrában, a H1 disszociációja a kromatin szálak fellazulását eredményezi.

DuPress

FUNKCIONÁLIS KÜLÖNBSÉGEK A NUKLEOSZÓMÁK SZERKEZETÉBEN

Az eukarióta sejtekben a sűrűn egymás mellé rendeződött nukleoszómákon tovahaladó DNS felel meg az alapállapotnak. A génszabályozó fehérjék kialakíthatnak nukleoszóma-mentes DNS régiót, amikor előkészítik az RNS átírását. Az ilyen nukleoszóma-mentes szakaszokat DNáz I emésztéssel lehet kimutatni, ami – kis koncentrációban alkalmazva – a hosszabb nukleoszóma-mentes szakaszokat emészti, de rövidebb linker szakaszokat nem. A DNáz I-el szembeni érzékenység és a gén aktivitásának szabályozása között összefüggés van[3].

A nukleoszomákat felfedezésük után igen állandó, minden eukarióta sejtben egyforma szerkezetű képleteknek találták. Későbbi vizsgálatok számos finom különbséget mutattak ki közöttük, amelyek az általuk hordozott DNS működése szempontjából meghatározónak bizonyultak.

♦ Egyes, igen aktív DNS szekvenciák, elsősorban az rRNS-ek génjei mentén nem találunk nukleoszómákat.

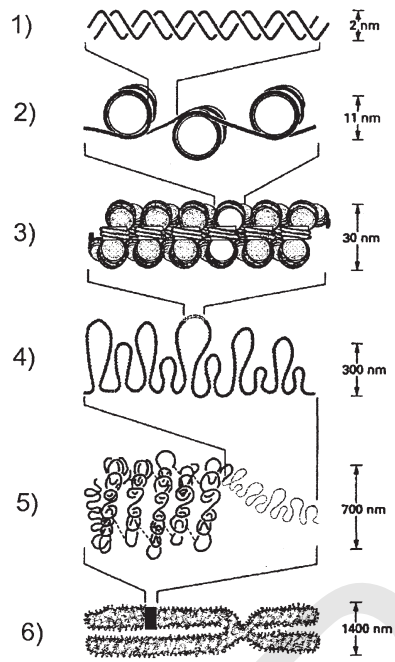
♦ Az RNS polimeráz tovahaladása közben a nukleoszómák mintegy feleződnek, a hisztonok helyét időlegesen transzkripciós faktorok foglalják el.

♦ A H3 és H4 hisztonok N-terminális végének közelében található lizin oldalláncok acetilálódhatnak. Kimutatták, hogy az RNS-be éppen átíródó DNS szakaszok ilyen acetilált lizint hordozó nukleoszóma magokra vannak csavarodva. A lizin acetiláció általában interfázisban fokozódik, mitózisban viszont csökken. Találtak olyan átíródási egységeket, melyek acetilált nukleoszómák köré voltak csavarodva, mégsem folyt rajtuk RNS szintézis. Az acetiláció tehát nem oka az átíródásnak, de az általata eredményezett szerkezetváltozás szükséges előfeltétele az átíródásnak. A centromerek közelében található nukleoszómákban a H3 és H4 hisztonoknak külön, fajlagos változata van jelen.

♦ Fontos szabályozó tényező a H1 hiszton foszforilációja. A foszforiláció gyengíti a H1 nukleoszómákhoz való kötődését és egyidejűleg növeli a ***scaffold***hoz való kötődést (l. alább). A H2B hiszton viselkedése fordított, ez az aktív kromatin régiókban kevésbé foszforilálódott.

♦ Az aktív kromatin nukleoszómáihoz kötődve találjuk a HMG (High Mobility Group) 14 és HMG 17 nem-hiszton fehérje-féleségeket. Ezek a DNS lánc hajlításához szükségesek. Kimutattak egy másik, HMG I/Y fehérjét is, amely a H1 hisztonhoz kötődni képes és ezzel elősegíti az illető DNS szakasz átíródását RNS-be.

[3] Ma már tudjuk, hogy az eukromatinnak is csak kb. 10%-a aktív.



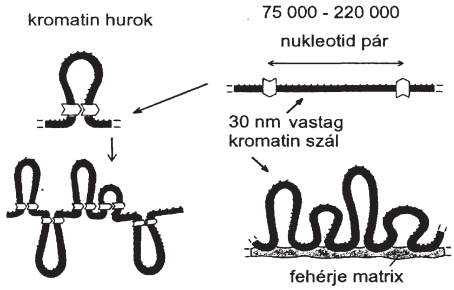
10.4. ábra. *A kromatin és a kromoszómák szupramolekuláris szerveződése vázlatosan.* 1) A DNS dupla hélix egy szakasza. 2) Gyöngyfüzér-szerű elemi kromatin szál. 3) 30 nm-es szolenoid fonalba rendeződött nukleoszómák. 4) Hurkokba (hurkos doménekbe) rendeződött kromatin fonal. 5) A kromatin hurkok egy (fel nem tüntetett) központi tengelyből kinyúlnak a tér minden irányába, majd újra visszahajlanak. 6) A metafázis kromoszóma sémás képe. Vegyük észre, hogy minden magasabbrendű struktúrába rendeződés az előzőnél rövidebb és vastagabb képletet eredményez.

A KROMATIN HURKOS ELRENDEZŐDÉSE ÉS A KROMOSZÓMA SZERKEZETE A METAFÁZISBAN

A hosszú DNS molekulák már az *E. coli*ban is hurkokba rendeződnek (l. BiolJegyz 3. fejezet). Ugyancsak egyértelműen felismerhető a DNS hurkos szerkezete a politén és lámpakefe kromoszómákban (l. BiolJegyz 9. fejezet).

A 10.5., 10.6A és B. ábrán látható kromatinszálak 75–220 kbp-nyi DNS-t tartalmazó hurkok formájában a ***nukleáris matrix***hoz kapcsolódnak, melyeket ***hurkos domének***nek is nevezünk. A hurkok mérete nagyon hasonló mind osztódáskor, mind az interfázisban. Úgy tűnik, hogy a DNS összehajtogatását biztosító, fehérje struktúrákhoz való letapadás helyei állandóak maradnak az egész sejtciklus alatt. Találtak olyan fajlagos, 100-1000 bp hosszú DNS szekvenciákat, amelyek a kromoszóma *scaffold*hoz (ún. SAR szekvenciák), ill. a nukleáris matrixhoz (ún. MAR szekvenciák) kötődnek. Jelenleg is vizsgálatok tárgya, vajon ezek mennyiben azonosak egymással.

BUPress



10.5. ábra. *A kromatin hurkos elrendeződésének modellje.* A kromatin hurkok eredési pontjai fehérjestruktúrákhoz kötődnek.

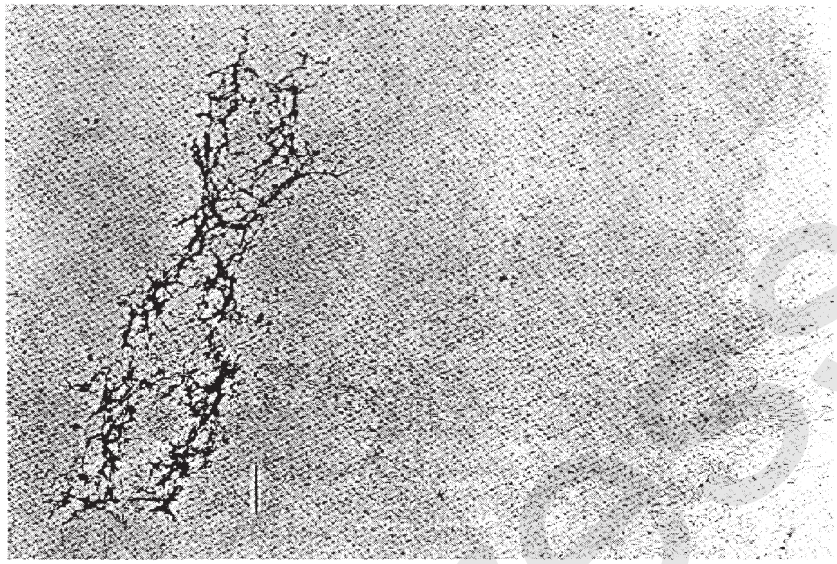
Ha a metafázis kromoszómából óvatosan eltávolítjuk a hisztonokat, visszamarad egy centrális elhelyezkedésű, a kromoszóma eredeti alakját többé-kevésbé megőrző koromoszóma váz (***scaffold***), amely körül a kiterült DNS egy udvart alkot (10.6A. ábra). Ha a DNS-t ebből a preparátumból enzimes emésztéssel eltávolítjuk, a *scaffold* akkor is megmarad. Az interfázisban jelenlévő nukleáris matrix és a metafázisban tanulmányozható *scaffold* valószínűleg ugyanazon fehérjékből álló, egymásba átrendeződő struktúrákat képviselnek (l. BiolJegyz 9. fejezet).

A KROMOSZÓMA PREPARÁLÁS ÉS KROMOSZÓMA ANALÍZIS MÓDSZEREI

A kromoszómák – mint a kromatinállomány speciális, a legnagyobb fokú tömörülést mutató, érdemben transzport struktúrának tekinthető, a megfelelő mennyiségű és minőségű DNS-nek az utódsejtekbe való szétosztását szolgáló megjelenési formájának – tanulmányozása a mitózis meghatározott szakaszához, a metafázishoz kötődik. A kromoszómák vizsgálatához mindenekelőtt proliferáló, osztódó sejtekre van szükségünk. Ilyenek *in vivo* is léteznek és elérhetők, de ember esetén az ehhez szükséges invazív beavatkozást csak kivételes esetekben tarthatjuk indokoltnak és megengedhetőnek.

Jellegzetes példája az élőben rendkívül gyorsan szaporodó sejtpopulációnak a vörös csontvelő. Ebben könnyen találhatunk megfelelő vizsgálati anyagot a kromoszómák tanulmányozására, de a kinyeréshez szükséges biopszia olyan megterhelést jelent, aminek elviselését csak akkor várhatjuk el egy betegtől, ha kifejezetten csontvelői rendellenesség vagy ártalom kapcsán kívánunk citogenetikai vizsgálatot végezni. Ennek példái a leukémiás megbetegedések (amelyek sajnos meglehetősen nagy számban fordulnak elő a fiatalabb és az idősebb korosztályokban egyaránt).

BIPress

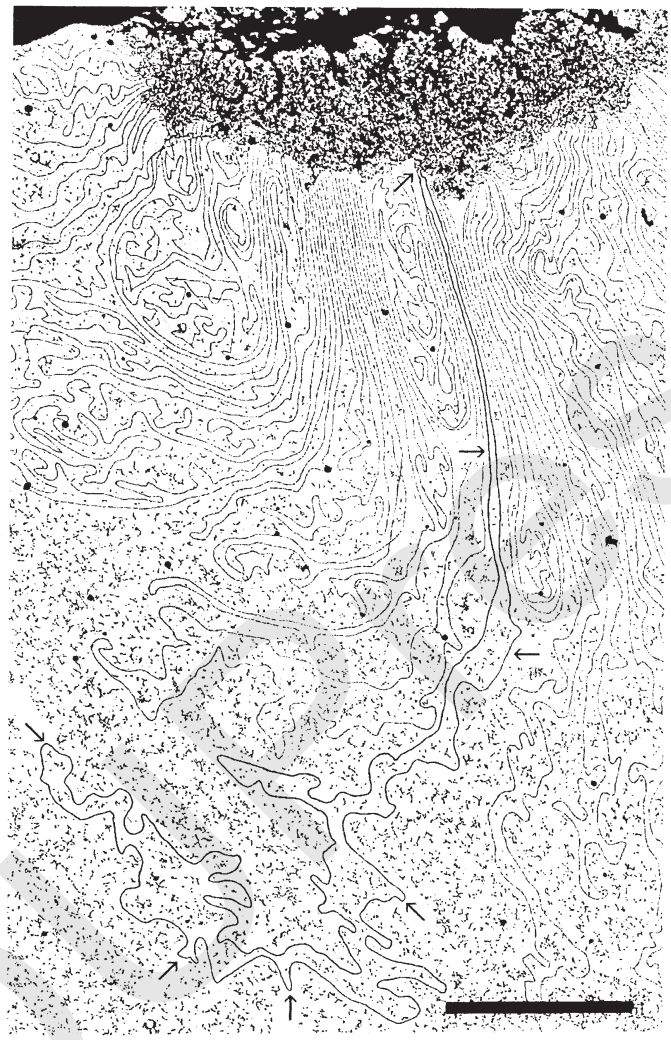


10.6A. ábra. *Emberi kromoszóma elektronmikroszkópos képe a hisztonok eltávolítása után.* A sötéten festődő centrális ***scaffold*** nem-hiszton jellegű fehérjékből áll és mutatja a centromernél összekapcsolt testvérkromatidok körvonalait. A hisztonok eltávolítása után a kromoszóma tengelyéből hurkok formájában óriási mennyiségű DNS tekeredik ki (10.7B. ábra). A vonal a képen 1 μm-nek felel meg.

Minden egyéb esetben az *in vivo* proliferációs ráta elégtelen a megfelelő számú, metafázisban levő sejt biztosításához, ezért a vizsgálati minta sejtjeit *in vitro* kell tenyészteni. Ennek ma már kimunkált metodikái vannak, amire igen tekintélyes – és profitábilis – biotechnológiai ipar is kiépült.

Bár minden szöveti mintavétel (*biopsia*) invazív beavatkozás, s mint ilyen eleve nem kockázatmentes, egy piciny darabka kicsípése a bőrből sem nem túlságosan fájdalmas, sem olyan veszélyekkel nem jár, amelyek kontraindikálnák alkalmazását, ha a beteg (vagy egy leendő gyermek) érdeke akár nemcsak a saját, hanem hozzátartozójának, rokonának citogenetikai vizsgálatát is indokolja. Megfelelő feltételek mellett (alkalmas tápfolyadék, 37 °C, stb.) fibroblasztok nőnek ki a biopsziás mintából a tenyésztőedény aljára, ezekből olyan sejtkultúra alakítható ki, ami alkalmas a kromoszómavizsgálatok elvégzésére. Hátránya ennek az eljárásnak a meglehetős időigényessége.

Közbevetőleg megemlítjük, hogy prenatális citogenetikai vizsgálatok céljára tenyészthetők *in vitro* az amnionfolyadékban levő magzati sejtek, ill. chorion-boholy sejtek



10.6B. ábra. *Emberi kromoszóma elektronmikroszkópos képe.* Az 10.6A. ábrával azonos technikával készült kromoszóma-preparátum képe nagyobb nagyítással. Itt világosan kivehető, ahogy a kromoszómavázból a DNS hurkok formájában kinyúlik, majd a hurkok eredési pontjuk közelében ismét visszatapadnak a kromoszómavázhoz. Egy ilyen – egész hosszában végig követhető – hurok lefutását az ábrán nyilak jelzik. A méretvonal a ezen a felvételen is 1 μm-nek felel meg.

is. Ezek feldolgozása ugyanúgy történik, ahogyan azt az alábbiakban bemutatjuk. A születés előtti kromoszómavizsgálat különleges jelentőségéről a 22. fejezetben esik szó.

Manapság leggyakrabban a T limfociták blasztos transzformációját használják az elfogadhatóan gyors, elégséges vizsgálati anyagot szolgáltató, és az érintett személy számára minimális megterhelést és kockázatot jelentő (= kis mennyiségű vér vétele) eljárásként. Ennek lényege az, hogy a keringésben fellelhető és ott nem osztódó T sejtek egy növényi lektin, a *phytohaemagglutinin* (PHA) hatására a G_0-ból G_1 fázisba, azaz a normál sejtciklusba lépnek és napokig proliferálnak alkalmas *in vitro* sejttenyésztési feltételek mellett. (Azaz T limfocitákból limfoblasztok lesznek.) A tenyészeteket általában három nap után dolgozzák fel.

Kétségtelenül a követendő eljárás az, hogy – ha csak lehet – a vérvétel a citogenetikai laboratóriumban történjék és a feldolgozás kezdődjék el azonnal. Szükség esetén nem kizárt azonban a minta szállítása sem – a szaklaboratórium előírásai szerint eljárva – előzetes egyeztetés alapján.

Még proliferáló sejteket tartalmazó tenyészetben sem található azonban egy adott időpillanatban a vizsgálathoz elegendő számú metafázisos sejt. (Ez tökéletesen megérthető a sejtciklus különböző szakaszainak idő-arányaiból.) A tenyészethez *colchicint*[4] adva érhetjük el (ami az oszlási orsó [= mikrotubuláris apparátus] működését meggátolja, de a sejteknek a mitózisba való belépését nem), hogy racionális időtartamon belül (általában 4 óra) a kromoszóma analízishez elegendő gyakorisággal forduljanak elő a metafázisban lévő sejtek.

A *colchicin*-nel kezelt tenyészet sejtjeit hipotóniás közegbe helyezik, ahol azok (és bennük egy kissé a kromoszómák is) megduzzadnak. Ezzel segítik elő, hogy a továbbiakban a kromoszómák ne egymás hegyén-hátán, hanem megfelelően szétterülve helyezkedjenek el a tárgylemezen, ahová alkalmas fixálási eljárás után cseppentik ki a sejtszuszpenziót. Számos festési eljárás közül legáltalánosabban a Giemsa-oldattal való kezelés terjedt el a kromoszómák jól láthatóvá tételére, és ez a festék maradt szinte egyeduralkodó a modern sáv-technikák (l. alább) bevezetése után is.

Egy metafázis készítményben az egy sejtből származó kromoszómák általában kis területen (egy átlagos mikroszkópos látótér), de teljesen rendezetlenül helyezkednek el. Közvetlen mikroszkópos (immerziós!) vizsgálatuk így a legtapasztaltabb szakember számára sem igen járható út. Hagyományosan ezért ezeket lefényképezték, és a negatívról

---

[4] Az őszi kikerics (*Colchicum autumnale*) alkaloidája. (Gyakran használják helyette kevésbé citotoxikus származékát a Colcemid®-et.) Ezt a növényt már az ókori egyiptomiak felhasználták a fájdalmas köszvényes csomók kezelésére. Alkalmasint a sejtproliferáció gátlása lehetett kedvező hatású a kórfolyamatra.

nagyítást készítettek, ez a ***kariogram*** (10.7. ábra). A gyors és megbízható analízishez ezt további eljárásnak, a kromoszómák rendezésének vetették alá, aminek az eredménye a ***rendezett kariogram***. Ez a művelet abból állt, hogy az egyes kromoszómák képét kivágták a fotóból és egy előnyomott séma szerint rakták sorba azokat. Mára a mikroszkópra szerelt fényképezőgép helyét elfoglalta a TV-kamera, amelynek video-jeleit számítógépbe táplálják. Ez a megfelelő program segítségével digitalizálja és a képernyőn megjeleníti a kariogramot, majd pedig automatikusan rendezi is azt. (A vizsgáló természetesen felülbírálhatja a gépet, ill. kétes esetben ő dönt egy-egy kromoszóma besorolásáról.) A művelet befejeztével elektronikus adatbázisban gyűjthetők a digitális képek, vagy egy video-printer szolgáltat arhiválható dokumentumot.

10.7. ábra. *Egy emberi fehérvérsejt kromoszómái a metafázisban (x2000).* A festés Giemsa-val történt, ami nagyjából azonos mértékben festi meg a kromoszóma minden részét. Mindegyik kromoszóma X-re emlékeztet, mivel már túl van a replikáción, de a testvérkromatidokat még összetartja a centromer.

Függetlenül az aktuálisan alkalmazott technikától, kell valamilyen rendező elv, amely szerint a kromoszómák sorba rakhatók, individuálisan felismerhetők. Erre a célra szolgál a fajra jellemző kromoszómaképet összefoglaló ***idiogram***. Az első ilyet egy Denverben (USA) 1960-ban összehívott szakértői konferencia hozta létre, abból a tényből kiindulva, hogy a kromoszómáknak nemcsak a száma, hanem a (relatív) nagysága[5] és alakja is a fajra jellemző állandó morfológiai bélyeg.

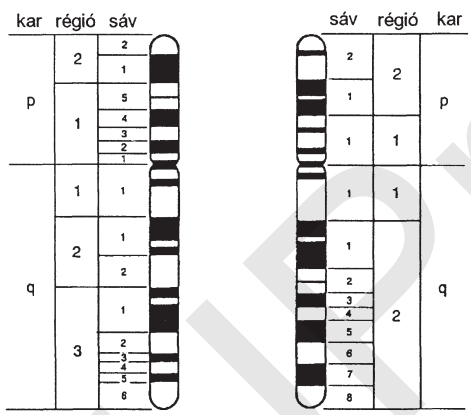
A 70-es évek elejére kidolgoztak olyan új festési eljárásokat, amelyek eredményeképpen a kromoszómákon, azok hossztengelyére merőleges, és az egyes kromoszómákra jellemző, sötétebb és világosabb sávokból álló mintázat tüntethető fel. Ez a kromoszómák sokkal pontosabb individuális azonosítását és a kisebb-nagyobb szerkezeti rendellenességek kimutatását teszi lehetővé (10.8. ábra). Jelenleg a sávmintázatot is figye-

[5] Ezt az egy haploid – X kromoszómát tartalmazó – szortimentum össz-hosszához szokták viszonyítani. Az elsődleges rendezés az autoszómák csökkenő hossza szerint történt 1-től 22-ig. Ahol a hossz szerinti besorolás bizonytalan volt, ott az alak döntött: a metacentrikusabb kromoszómát helyezték előbbre.

lembe vevő Párizsi Nómenklatura van érvényben, ez az ún. ***sáv-idiogram***, ami a 10.11. ábrán látható.

A sávok kimutatására alkalmas a módosított Giemsa-festés is. Ha a kromoszómákat a festés előtt pl. tripszinnel emésztjük, az enzim részlegesen eltávolítja a kromoszóma-fehérjéket és a Giemsa sötét-világos váltakozású sávokat hoz létre. Ezek közül a sötéten festődőket említjük ***G-sávok***ként. (Más megjelöléssel: a sötét a G^+ és a világos a G^- sáv.)

A ***quinacrin***, amely elsősorban a DNS AT-gazdag szakaszaihoz kötődik[6], fluoreszkáló sávokat hoz létre a kromoszómákon, amelyek speciális mikroszkópban jól láthatóvá tehetők (***Q-sávok***). Az AT-gazdag szakaszok az *L1* típusú szekvenciák 51%-át adják (16. fejezet). A Q^+ sávok gyakorlatilag egybe esnek a G^+ sávokkal, a Q^- a G^- -szal.



10.8. ábra. *A metafázisos 7-es és az X-kromoszóma quinacrin- és Giemsa-mintázata.* Az itt feketén ábrázolt sávok fluoreszkálnak quinacrinnal történő festésnél és erősen festődnek a Giemsa-tól (G^+). E két kromoszóma hossza szinte teljesen azonos, és a centromerindexük is majdnem ugyanaz, de az eltérő sávmintázatuk alapján megkülönböztethetők.

Használatos az ún. ***reverz***- vagy ***R-sávozás*** is (ami az előzők negatívjaként fogható fel). A módszer a GC-gazdag DNS-szakaszokat festi meg. A GC-gazdag szekvenciák alkotják az *Alu*-család 56%-át (l. 16. fejezet). Ezek dominálnak az R-sávokban.

Egy további előkezelési eljárás eltávolítja a kromoszómákból a DNS körülbelül 60%-át. Ezt követően a Giemsa oldat csak azokat a régiókat (***konstitutív heterokromatin***) festi meg, amelyekben maradt DNS. Az így létrejövő ***C-sávok*** a kromoszómák centromerjeinél és az Y-kromoszóma disztális végén helyezkednek el. A 10.9. ábra bemutatja az 1. kromoszómát különféle sávfestési technikák alkalmazása után.

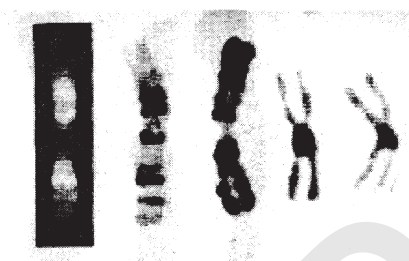
---

[6] Minimálisan három AT-párnak kell követnie egymást a festékmolekula interkalációjához.

DUPress

(Csak zárójelben említjük, hogy a ***T-sáv*** technika a kromoszómák telomérikus részeit tünteti fel.)

A Q- és G-sávozási módszerek a vizsgálatok kezdeti időszakában mintegy 320 metafázisos sáv kimutatását tették lehetővé. A *nagy felbontású sávtechnikák* tökéletesítésének köszönhetően a kimutatható sávok számát 1 000 - 2 000-re sikerült növelni. Ha egy kromoszóma festődését összehasonlítjuk a különböző osztódási fázisokban, kiderül, hogy a metafázisban jól látható sötét és világos sávok a korábbi fázisokban még kevésbé kondenzálódott kromoszómákban megfigyelhető rövidebb és nagyobb számú egységek összeolvadásából jönnek létre (10.10. ábra). A profázisos kromoszómák vizsgálata lehetővé tette olyan kisebb mértékű kromoszómális defektusok kimutatását is, ami korábban nem volt lehetséges.



10.9. ábra. *Az ember 1-es kromoszómájának képe négyféle festés után.* Balról kezdve: Q-sávozottság, G-sávozottság, R-sávozottság és két C-sávozottság. Az utóbbiak egy heterozigóta homológ kromoszómapárt mutatnak.

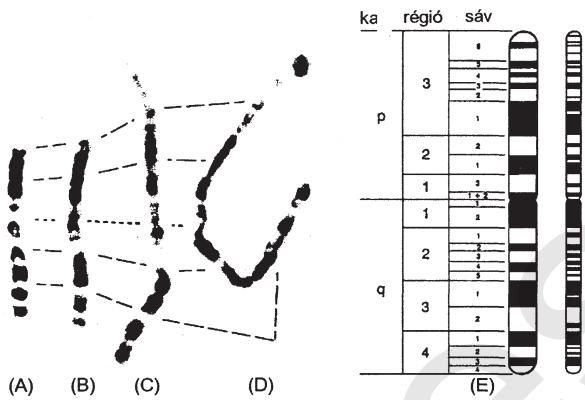
A citogenetikusok egyelőre nem ismerik teljes mértékben a festődési reakciók biokémiai hátterét, viszont sok mindent tudnak már a sávozottság és kromoszómaszerkezet közötti összefüggésekről. Úgy tűnik, hogy egy-egy metafázis sáv szerkezeti és funkcionális (pl. szabályozási) egység az interfázisban is. A metafázis kromoszómákban a kromatin három fő formában létezik: a centroméreket közrefogó ***konstitutív heterokromatin*** (C-sávok), a ***fakultatív heterokromatin*** (sötét G-sávok, ill. erősebben fluoreszkáló Q-sávok) és ***eukromatin*** (R-sávok)[7]. A konstitutív heterokromatin az interfázisban is heterokromatikus: a centromérikus α-szatellita DNS[8] sohasem íródik át, nincs kódoló

---

[7] Ezek a megjelölések nem egyenértékűek az interfázisos sejtmagok esetén használt fogalmakkal. Pl. az itt eukromatinnak nevezett szakaszok – a metafázis koromoszóma egészének megfelelően – génikusan teljesen inaktívak, azaz, ebben az esetben csakis morfológiai elnevezésekről van szó.

[8] A szatellita DNS név a DNS ultracentrifugálási eljárásokkal való korai tanulmányozásának idejéből maradt fenn, semmi köze az akrocentrikus kromoszómákon morfológiailag leírt szatellitákhoz! Az α-szatellita DNS minden kromoszóma centromérikus régiójában egyformán fellelhető, 170 bp hosszúságú ismétlődő szakaszokat tartalmaz. Az ismétlődések száma 1 700 és 29 000 nagyságrendben változhat, ami mintegy 300 és 5000 kbp hosszúságú területét jelenti a centromérikus heterokromatinnak (egyéni ingadozásokkal, akár homológ párok tagjai között is). Vannak más α-szatellita szekvenciák is a centromérek területén, amelyek viszont kromoszóma-specifikusak: csak egyetlen homológ pár tagjaiban fordulnak elő. (Kivétel ez alól a 13-as és 21-es, amelyek ugyanazon

funkciója. A fakultatív heterokromatin (pl. X kromoszóma) lehet átírható az interfázisban, vagy nem.



10.10. ábra. *A humán 1-es kromoszóma kialakulásának fázisai a profázis-metafázis határán.* (A) a metafázis közepe, (B) a metafázis eleje, (C) közvetlenül a metafázis előtt, (D) késői profázis. A metafázis közepén kevesebb de vastagabb sáv látható. Ezek egy nagyobb számú, vékonyabb sávból keletkeznek. (E) A baloldali kromatid a metafázis közepére jellemző mintázatot, a jobboldali kromatid pedig a késői profázisban megfigyelhető G-sávokat mutatja.

E sávozási technikákkal kapcsolatban sohase felejtsük el: egyrészt a molekuláris szerveződésből, másrészt a fénymikroszkóp optikai feloldóképességéből következően, a sávok a kromoszómáknak a géneknél sokkal nagyobb egységeit tüntetik fel.

Több (kb. 10), az idiogramhoz viszonyítottan kiértékelt kariogram alapján határozzák meg egy egyén ***kariotípus***át. Hogy ehhez hány kariogram analízise szükséges, azt mindig a körülmények döntik el (a kromoszóma-kép megfelel, vagy éppen ellentmond-e a klinikai tüneteknek, azonosak-e az egyes kariogramok, vagy eltérnek egymástól, technikailag milyen minőségűek, stb.). Egy-két kariogramra véleményt alapozni azonban mindenképpen felelőtlenség, még negatív lelet esetén is. A megállapított kariotípust lehet dokumentálni egy jellemző kariogram közlésével[9], de általában az egyezményes szim-

---

a szekvencián osztoznak.) A FISH-technikával (l. alább) való kromoszóma-azonosításban játszanak gyakorlati szerepet.

[9] Az angolszász szakirodalom elvétve használja a „*karyogram*" elnevezést. Szívesebben írnak „*metaphase*"-ről vagy„*metaphase spread*"-ről, a rendezett kariogram helyett pedig a „*karyotype*"-ot látjuk, amin a kromoszómáknak az idiogram szerint elhelyezett képét értik. Nem nagyon fordul elő

bólumokkal való leírást választják, amelyeket az 10.1. táblázatban (l. e fejezet függeléke) mutatunk be. Néhány gyakoribb kromoszóma-rendellenesség kariotípusát a 10.2. táblázatban (l. függelék) adtuk meg.

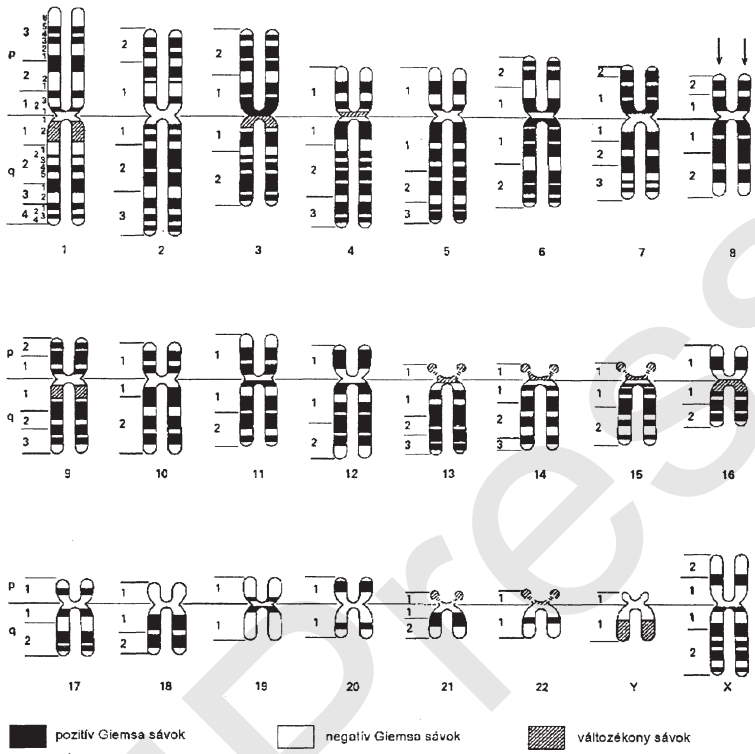
Nagyon fontos még azt megjegyeznünk, hogy kariotípuson egy egyed jellemző kromoszómaképét értjük általában. A daganatok citogenetikai vizsgálatának térhódításával egyre gyakoribbá válik azonban, hogy a tumorsejtek kariotípusát adják meg. Ez értelemszerűen csakis és kizárólag ezekre a sejtekre (esetleg csak ezek meghatározott klónjára), nem pedig a beteg egyénre vonatkozik!

E fejezet megújításának idején már jól látható, hogy a „klasszikus" (vagy mondhatni: hagyományos, szokványos) citogenetika korszaka lejáróban van. Elképzelhető, hogy a nem túl távoli jövőben a ma általánosan elterjedt kromoszómavizsgálati technikák már leginkább történelmi emlék formájában léteznek csak, helyüket átveszik a molekuláris módszerek (amelyekről az alábbiakban lesz szó). Miért kell hát a ma még általános, de leginkább kihalásra ítélt eljárásokat és az ezek alapján kapott eredményeket ebben a jegyzetben leírnunk? Egyrészt azért, mert a ma ismert kromoszóma rendellenességek képe és jelentősége nem változik azáltal, hogy a diagnosztika módszertana megújul, sőt kicserélődik. A finomodás, érzékenyebbé válás révén új felismerések születnek, a régebbi ismeretek viszont igen kevéssé avulnak el. Másrészt az új eljárások – legalábbis e sorok írásának pillanatában – kivétel nélkül a XX. században meggyökerezett nómenklatúrát veszik át, arra hivatkozva közlik eredményeiket. Így ennek ismerete a jövőben is elengedhetetlennek tűnik, ami a hagyományos eljárások leírása nélkül megfoghatatlan és áttekinthetetlen lenne a Hallgatóság számára. A kromoszóma vizsgálatok technikai fejlődése egy ideig a nagy felbontású – az addig megismerteknél több sávot és alsávot feltüntető – sávtechnikák felé haladt. Ez alighanem úgyszintén meghaladott törekvéssé vált, de megteremtett egy kibővített sáv-számozási nómenklatúrát, amelyre széles körben hivatkoznak.

A citogenetika mai fejlődése a modern elektronikához és a számítástechnikához kötődik. Nem csak abban a vonatkozásban, amelyről fentebb már szóltunk: a hagyományosan elkészített festett preparátumról a képalkotás és annak kiértékelése a számítógép feladata. A legújabb technikákkal kapott eredmények alkalmasint az emberi szem érzékenységi küszöbe alatt maradnak. A fluoreszcens *in situ* hibridizáció – az angol rövidítés szerint ***FISH*** –, a legújabban teret hódító *in situ* ***PCR*** (*polymerase chain reac-*

---

az „*idiogram*" vagy – inkább – az „*ideogram*" fogalom sem, helyette mondjuk „*the human karyotype*" áll. Ugyanakkor olvashatjuk az ideogram kifejezést pl. akár egyetlen konkrét kromoszóma adott esetben való diagrammatikus ábrázolása kapcsán is. Mivel a tudomány nyelve az angol, ez a felfogás lassacskán átjárja és átalakítja a magyar szaknyelvet és szóhasználatot is.



10.11. ábra. *A humán idiogram.* Az ábrán az emberi kromoszómák sávidiogramja látható. Minden kromoszómapárból csak egy van feltüntetve. A 8. kromoszómánál nyilak jelölik a testvérkromatidokat. Leggyakrabban a Giemsa (G) sávtechnikát használják, ezenkívül a Q- és R-sávozás használatos. A képen a kromoszómák úgy vannak elrendezve, hogy centromérjeik egy magasságba essenek, s a rövid kar mutat felfelé. Az egyes sávok jelölése csak az 1-es kromoszómánál van feltüntetve: a kétjegyű szám első jegye a régiót, a második magát a sávot jelöli. Pl.: Az 1. kromoszóma rövid karja disztális végének megjelölése: 1p36.

tion, polimeráz láncreakció) és az ennek egy változataként említhető ***PRINS*** (ami a *primed in situ labeling*-ből származó megjelölés), valamint az összehasonlító genom hibridizáció (***CGH***, *comparative genomic hybridization*) eljárással együtt, megteremti a (nagy felbontású) ***molekuláris*** és az ***interfázisos citogenetika*** lehetőségeit is. Elvben ugyanazokról az eljárásokról van itt szó, amelyeket a 18. fejezetben mutatunk be részletesen, de közvetlenül a kromoszómához rendelve: pl. a hibridizáció nem a gélből nitro-

DUPress

tesen, de közvetlenül a kromoszómához rendelve: pl. a hibridizáció nem a gélből nitrocellulóz lemezre átvitt mintán, hanem a tárgylemezen, a metafázis kromoszómákon történik. Egy alkalmas gén-próba, megfelelő fluoreszcens jelzéssel ellátva, hozzá hibridizálható a kromoszómához, de akár az interfázisos sejtmag kromatinjához is, ha ott a keresett szekvencia megvan. Fluoreszcens mikroszkópban megfigyelhetjük (pontosabban a megfelelő berendezésekkel detektálhatjuk és lokalizálhatjuk) a várt helyen a fénykibocsátás meglétét, vagy hiányát. Kimutatható az is, hogy ha máshova helyeződött át az illető szekvenciát tartalmazó gén, mint ahol keressük.

Az ismétlődő szekvenciák tanulmányozása (l. 16. fejezet) elvezetett ahhoz a felismeréshez, hogy vannak kromoszóma-specifikus ismétlődő szekvenciák is, melyek csakis és kizárólag egy adott homológ párban fordulnak elő. Az ezekkel komplementer oligonukleotid próbákkal (l. 18. fejezet) való hibridizálás a kromoszóma hiányáról, normális vagy hibás voltáról, esetleges strukturális rendellenességéről értékes információt adhat. A hibridizáció interfázisos sejtmagban is elvégezhető: egy keresett szekvencia jelenléte, vagy hiánya legalább olyan fontos információ lehet, mint annak kromoszómális lokalizációja. Ha kromoszóma-specifikus próbával hibridizálunk, számbeli hibáról nyerhetünk információt az interfázisban.

A FISH technikának számos változatát fejlesztették ki, annak függvényében, hogy mit (vagy minek a hiányát) kívánják kimutatni. Lényege minden körülmények között, hogy a DNS kettős hélixnek magában a kromatinban történő szétválasztása (denaturálása) révén lehetővé tegyük egyszálas, helyspecifikus, valamilyen fluorokrómmal jelzett (vagy utólagosan így láthatóvá tehető) DNS próbának a komplementeréhez – és csak ahhoz! – való bekötődését, azaz *in situ* hibridizációját. A próba kapcsolódó szakasza lehet hosszabb vagy rövidebb, a kimutatni szándékozott kromoszómaterület és annak szerkezete függvényében. Pl. centromér-specifikus ismétlődő szekvenciák feltüntetéséhez alkalmazhatunk hosszabb molekulát, ahol ha esetleg egy-két bázis nem párosodna helyesen, az nem veszélyezteti a kimutatás fajlagosságát. Ha viszont egy génrészlet hiányának kimutatása a feladat, de az eredeti szekvencia nagyobb hányada érintetlenül a helyén van, a teljes génhosszal komplementer próba minden bizonnyal olyan jelet generálna a megfelelő helyen, ami azt sugallná, hogy a vizsgált génterület hibátlanul megvan. Ilyen esetben olyan oligonukleotid szekvenciákkal kell tesztelni a vizsgálandó szakaszt, amelyek kb. csak 20 bázisnyi hosszúságúak. Ezek esetén a hibridizáció fizikokémiai feltételeit meg lehet úgy szabni, hogy ha a 20-ból csak egy bázis nem komplementer, az már a kapcsolódás elmaradását vonja maga után. (Ilyen esetekben egy-egy génhez természetesen igencsak sok próba kell (és nem szabad elfeledkeznünk az intronokról sem). A hibridizációs próba specifikus szekvenciája természetesen beépíthető egy olyan hordozó molekulába, amelyen nagy sűrűséggel lehet létrehozni a fluoreszcens jelölést, és ugyanakkor garantáltan nincs komplementere a humán genomban.

Kromoszóma-specifikus α-szatellita DNS-sel komplementer próbák csak a centromér meglétét igazolhatják, de hogy az két vagy három példányban van-e jelen, az egy interfázisos magban is eldönthető, nem kell emiatt kromoszóma preparátumot készíteni. Az, ha a 13-as és 21-es kromoszómára egyaránt jellemző területet sikerül pl. öt példányban feltüntetni, kétségtelenül diagnosztikus problémát jelent és további vizsgá-

ellen, mert pl. Robertson-féle centrikus fúzió esetén előfordulhat, hogy csak a nagy akrocentrikus partner centromérje van benne a transzlokációs kromoszómában! Mindenképpen célszerű eleve kétféle oligonukleptid próbával kezdeni a vizsgálatot, és ha a 21-es hosszú karra specifikus hibridizáció sem szól triszómia mellett, a két egybehangzó adat már megnyugtató lehet.

Lehet a centromérikus heterokromatin kiterjedése (az ismétlődések számának nagy egyedi szórása miatt) észlelhetően eltérő két homológ között. Ilyen esetekben ez a jelölés segíthet egy-egy kromoszóma anyai, ill. apai eredetének eldöntésében.

A gének - értelemszerűen - kromoszóma-specifikus DNS szekvenciát jelentenek, FISH-sel való feltüntetésük egyúttal a megfelelő kromoszómaszakaszt is jelzi. Vannak azonban kiterjedt nem-kódoló DNS-szakaszok is, amelyek egy-egy kromoszómára, vagy annak egy-egy sávjára jellemzőek. Ez teremtette meg az alapját az ún. multicolor FISH technikának, melynek segítségével (különböző próbák különféle színű fluorokrómok kombinációival való jelölése révén) az individuális kromoszómák eltérő színnel világítanak egy-egy metafázisban. Ezt az eljárást fluoreszcens kromoszóma festésnek (chromosome painting) vagy spektrális kariotipizálásnak is nevezik. A nagyfeloldású többszínű sávozás (high-resolution multicolor banding) egy-egy kiszemelt homológ pár vizsgálatára alkalmas.

A ***fiber FISH*** technika a kromatinállományból kiszabadítja a kromatin fonalakat, és ezeken végez fluoreszcens *in situ* hibridizációt. Gének egymáshoz való viszonyát lehet így tanulmányozni, ill. bizonyos megfelelő referencia-szakaszok között egy-egy gén meglétét, ill. épségét detektálni. (Mint a név is mutatja: nagy feloldású módszerről van szó.)

Az összehasonlító genomikus hibridizáció (*Comparative Genomic Hybridization*, ***CGH***) az átlagoshoz képest megváltozott mennyiségű (kópiaszámú) DNS-ről ad információt. Ennek elvégzéséhez a vizsgálandó sejtekből készítenek teljes genomot magában foglaló DNS mintát, s ezt egy megfelelő referencia-DNS-sel vetik össze *in situ* hibridizációban. A tesztelt DNS-t pl. zöld, a referenciát pl. vörös fluorokrómmal jelölik, és mindkettővel egyszerre hibridizálnak. Mindazok a kromoszóma helyekhez, amelyekben nincs kópiaszám változás, egyenlő valószínűséggel, tehát egyenlő arányban kapcsolódik a zöld és vörös jelzés, s a kettő együtt sárgát ad. Ott, ahol a tesztelt DNS-ben egy adott szekvencia a vártnál nagyobb arányban képviselteti magát, ez nagyobb valószínűséggel, nagyobb sűrűséggel kötődik, a fluoreszcenzia színe a zöld felé tolódva jelzi a megváltozott arányt. Ez digitális képfeldolgozással kvantifikálható. (Ellenkező esetben, ha a referencia-DNS túlsúlya áll fenn, vörös felé tolódik az adott kromoszómaterület színe.) Különösen kiterjedten használják az eljárást tumorsejtek megváltozott DNS-állományának vizsgálatára. Pl. ha egy beteg kemoterápiában részesül, de a daganat idővel ellenállóvá válik az adott citosztatikumokkal szemben, ennek oka gyakran rezisztencia-gének felszaporodásában található meg. Ezek megsokszorozódása CGH-val detektálható.

Érdemben hasonló adatokkal szolgálhat a fluoreszcens festékkel kapcsolt (vagy egyéb jelöléssel ellátott) nukleotidokat beépítő *in situ* PCR és PRINS technika is. Ezen modern eljárásoknak is vannak azonban buktatóik (aspecifikus kötődés, túl gyenge jel, stb.), amelyekkel nem feladatunk foglalkozni ezen a helyen.

Arra kell felhívnunk a figyelmet, hogy csak többszörösen kontrollált eredményeket szabad elfogadnunk ott, ahol a laboratóriumi adatokat felhasználó orvosnak végső soron emberi sorsokról – akár életekről – kell döntenie. E sorok írásakor ezek az eljárások még inkább kísérleti stádiumban vannak, mintsem a klinikai rutin részei. Ennek megfelelően

még túlságosan drágák is (különösen a szükséges nagyszámú kontroll miatt) ahhoz, hogy általánosan elterjedhettek volna. Nem kell azonban különös előrelátás ahhoz, hogy kijelentsük: a harmadik évezredben végző orvos már ezek ismeretével is felvértezve kell a pályára lépjen.

Többszörös próbálkozások után sem tudta kiszorítani, vagy legalábbis jelentős területeken helyettesíteni a hagyományos metafázis preparátumokon, ill. – újabban – az interfázisos sejtmag készítményeken elvégezhető vizsgálati technikákat az áramlási citometria. Elvileg ez is alkalmas kariotipizálásra (az egyes kromoszómák DNS mennyiségének meghatározása révén), vagy a FISH fluorescens jelek detektálására, diagnosztikus értékelésére, ráadásul percenként több ezer kromoszómát, ill. sejtmagot futtatva át a rendszeren. Lehet, hogy éppen a nagy kapacitás a visszatartó erő: egy-egy tárgylemezen száz-kétszáz metafázis már bőségesen elegendő vizsgálati anyag lehet, ugyanennyi kevésnek bizonyul az áramlási citometria számára.

CENTROMEREK ÉS TELOMEREK

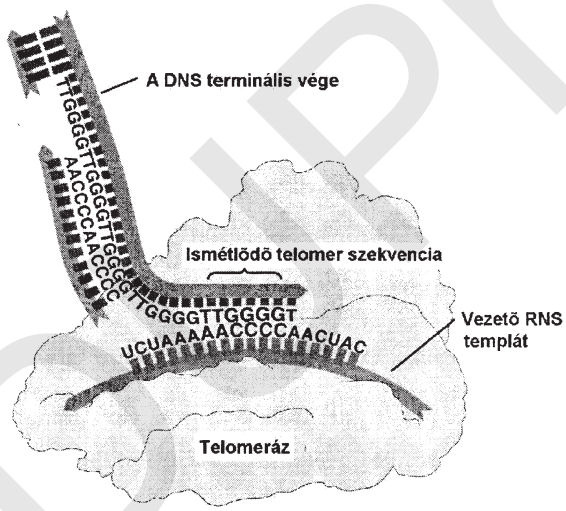
A metafázis kromoszómák fénymikroszkópban is jól látható elvékonyodó szakaszait nevezzük ***centromer***nek. A testvérkromatidok itt kapcsolódnak egymáshoz egészen az osztódás anafáziséig. A centromer régiókra jellemző a különböző apród DNS szekvenciák jelenléte, amilyen emberben az α-szatellita. Ezek fehérje kódot nem tartalmaznak, RNS-be nem íródnak át (l. még 16. fejezet és BiolJegyz 9. fejezet).

A ***telomer***ek rövid, guaninban gazdag, több százszor ismétlődő szekvenciákat tartalmaznak. Ezek a terminális szekvenciák védik a lineáris DNS végét a nukleázokkal szemben. A telomerikus szekvenciák jelentléte azért is nélkülözhetetlennek látszik, mert a replikáció során a replikációs villa „késő" szálán, ahol a DNS polimeráz a kromoszóma vége felől halad a centromer felé, a szintetizálódó DNS lánc szükségképen mindig rövidebb a vezető szálon keletkezőnél. A lineáris DNS végéről minden osztódásnál elvész egy szakasz és belátható, hogy ez nem lehet „értelmes" szekvencia. A telomerek a DNS polimerázok és a ***telomeráz*** (10.12. ábra) enzim segítségével kerülnek kitoldásra minden osztódás alkalmával.

A telomeráz aktivitás várható élettartamunkat illetően meghatározó jelentőségű. Az enzim ugyanis aktív az őssejtekben, makrofágokban és nyiroksejtekben (valamint a daganatsejtekben), de a többi kidifferenciálódott testi sejtféleségben már nem. Ezeknek a sejteknek a telomerje születéskor kb. 80-90 zavarmentes osztódáshoz elegendő hosszú, de egy felnőtt embernél már csak kb. 10-20-hoz. Jelentős kutatási erőfeszítések irányulnak a telomeráz befolyásolására.

A KROMOSZÓMÁK SZERKEZETE A MODERN MOLEKULÁRIS GENETIKA EREDMÉNYEINEK TÜKRÉBEN

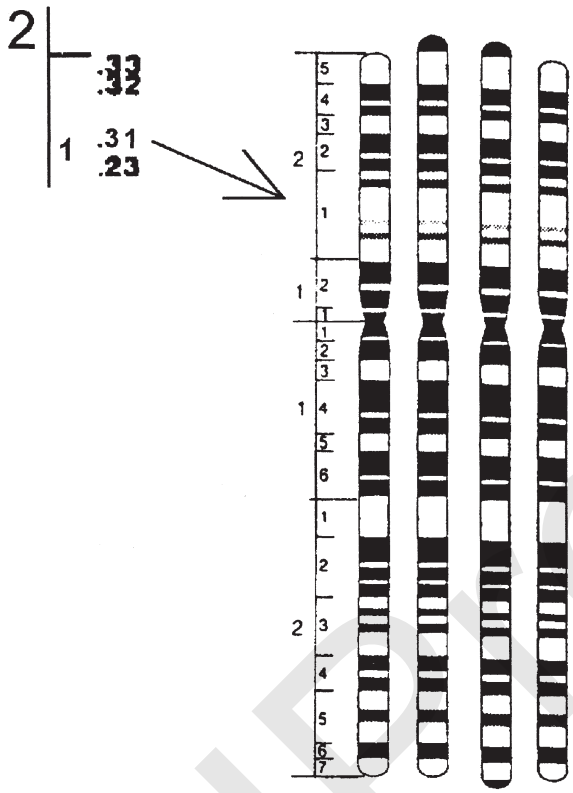
A kromoszómák felépítésének részleteiről a 10.4. ábra csak nagyon hozzávetőleges képet ad, pl. a különböző sávtechnikákkal láthatóvá tehető struktúrákra vonatkozóan sem ad felvilágosítást, holott elegendő egy pillantást vetni a 10.11 ábrára, hogy felismerjük, a kromoszómákban tovafutó kromatid fonalak rendezett módon inhomogén struktúrákba szerveződnek. A sávtechnikák ennek a szigorúan rendezett, igen bonyolult szupramolekuláris struktúrának mindig csak egy-egy jellegzetességét teszik láthatóvá. A fentiekben tárgyalt modern molekuláris módszerek mind a DNS szekvenciáját, mind a kromoszómák szerkezeti sajátságait illetően ma már sokkal finomabb részletek megkülönböztetését teszik lehetővé, mint amit a sávtechnikák nyújtottak. Ezek összevetésével nyerhetünk – jóllehet csak közvetett – adatokat a kromoszómák szerkezetének részleteiről. A további kutatást praktikus okok korlátozzák; olyan nagyméretű struktúrákról van szó, amelyek a modern szerkezetkutatási módszerek számára is nehezen hozzáférhetők. Milyen kép rajzolódik ki előttünk a kromoszómák finomszerkezetét illetően, ha mindezeket az adatokat próbáljuk összegezni?



10.12. ábra. *A telomer szekvenciák és a telomeráz enzim működésének vázlata.* Az enzim a feltüntett rövid szekvenciákkal toldja ki a lineáris DNS véget belső RNS templátjáról (reverz transzkripció!).

• A kromoszómák sávrendszere evolúciósan nagymértékben konzervált (l. 4. fejezet), a főemlősök fejlődése során 10 millió év alatt is alig változott (legalább ennyi idő telt el azóta, mióta útjaink legközelebbi rokonainktól, a többi emberszabású majmokétól elváltak). A 10.13. ábra pedig arra utal, hogy a sávmintázat nem csupán valamely nagyobb egységként szolgáló keretet képvisel, hiszen az MHC gének (l. 7. fejezet) a megfelelő kromoszómák ugyanazon régióiban találhatók az emberben és a csimpánzban.

DuPress



10.13. ábra. *A fő hisztokompatibilitási komplex génjeinek lokalizációja főemlősökben.* A négy sávidiogram balról jobbra az emberből, csimpánzból, gorillából, ill. az oráng-utánból származik. A sávmintázat nagyfokú hasonlóságán tulmenően kimutatható, hogy az ember és a csimpánz MHC génjei ugyanazon 6p21.31 (ill. 5p21.31)[10] sávokban találhatók.

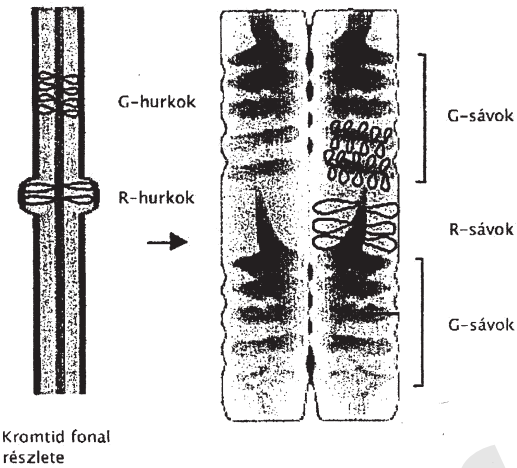
• Jellegzetes a különböző sávok elhelyezkedése. A kromoszóma karok belső régióiban található a G sávok többsége, míg a kromoszómák végéhez közelebb találhatók az R és T sávok. Ez egyben azt is jelenti, hogy telomerhez közelebbi DNS szakaszok GC nukleotid-párokban gazdagabbak, a belső régiók viszont AT gazdagabbak. A sávok közötti szerkezeti különbségek még nem teljesen tisztázottak. A 10.14. ábra azt mutatja, hogy a sávok *valószínűleg* a sávokban található hurkok hosszában különböznek egymástól. A G sávok hurkai rövidebbek és ennek következtében spiralizációjuk összetettebb, mint az R sávoké (vö. 10.4. ábra).

• A kromoszómák között, a bennük tovafutó DNS hosszához viszonyítva vannak génekben gazdagabbak és szegényebbek. Génekben viszonylag szegények a 13., 18. és 21. (gondolkozzunk el azon, hogy ezek triszómiájával születnek életképes utódok), az átlagnál gazdagabbak viszont pl. az X, 1. és 19. kromoszómák.

• A gének elhelyezkedése a kromoszómák mentén nem véletlenszerű. Génekben gazdagabbak a telomer közeli régiók, szegényebbek a centromerhez közelebb esők. Szabályszerűségek ismerhetők fel a gének funkciója szerint is. A telomer-közeli géngazdag régiókban találhatók az ún. háztartási gének (l. 12. fejezet), amelyekre gyakorlatilag minden sejt működéséhez szükség van, a génszegény szakaszokban vannak vi-

[10] Az ember 2. kromoszómája két kisebb kromoszóma fúziójából származik, a számozás szempontjából a főemlősök 1. és 5. koromszómája közé „ékelődik", így az emberi 6. és a csimpánz 5. kromoszómája felelnek meg egymásnak.

szont a szövetspecifikus (tehát szükségképpen a magasabbrendű soksejtűekre jellemző) gének[11].



10.14. ábra. *A kromatin hurkok és a scaffold valószínű elrendeződése a kromoszóma sávokban.*

• Fajlagos módon különbözik a kromoszómák mentén a különböző ismétlődő DNS szekvenciák gyakorisága (l. 16. fejezet). A centromerek körül a különböző apród szekvenciák gyakoriak, mint amilyen az α-szatellita DNS. A telomer közeli régiókban sokkal gyakoribbak az *Alu* szekvenciák (SINE[12] csoport), a G sávokban viszont az *L-1* szekvencia (LINE csoport). Ezen szekvenciák jelenlétével valószínűleg összefügg azon megfigyelés, hogy a kromoszómák telomerikus részein mintegy tízszer gyakoribb a rekombináció, mint a centromerek közelében.

• Az R és T sávokban nagyobb sűrűségben találjuk az acetilált hisztonokat tartalmazó nukleoszómákat.

• Elméleti megközelítésben is nyilvánvaló, de a rendelkezésre álló adatok is többszörösen igazolják, hogy a kromatin bonyolult szerkezetének egyik legalapvetőbb funkciója a DNS megkettőződés időbeli és térbeli rendjének biztosítása. A humán sejtek 1,7 m-nyi DNS-e, mely mindössze 46 molekulára tagolódik, egy kb. 6μm átmérőjű, nagyjából gömb-alakú térben duplázódik meg kb. 8 óra alatt (l. BiolJegyz 12. fejezet). A megkettőződés a DNS-nek kb. 1500 pontján folyik szigorú időrend szerint, a genetikailag aktív szakaszok (T sávok régiója) legelőször, az R sávok szintén korán, a G sávok régiói később, az inaktiválódott X kromoszóma állománya legutoljára. A replikonok határai az osztódások folyamán változatlanok, a megduplázódás folyamata azokat nem lépi át. Egy-egy replikon megduplázódása után origója lekötődik a nukleáris matrixhoz. Ez a valószínű magyarázata, hogy a már megduplázódott replikonok megkettőződése ugyanazon S fázisban nem ismétlődik meg.

A replikáció időrendje és a gének aktív, vagy inaktív volta közötti korrelációra meggyőző példaként szolgálnak a hemoglobin gének replikációjával kapcsolatban tett megfi-

---

[11] A háztartási gének közelében jellegzetes a CpG szigetek (l. 12. fejezet) jelenléte, ezek is 10x sűrűbben fordulnak elő a telomerikus régiókban.

[12] SINE: *Short Interspersed Element*, LINE: *Long Interspersed Element.*

gyelések. A hemoglobin α-lánca az embrionális fejlődésnek már korai szakától kezdve mindig jelen van. A β-lánc azonban csak a késői magzati kortól kezdve szaporodik fel a vérben. Ezzel párhuzamosan megfigyelhető, hogy az α-lánc génje mindig az S fázis korai szakaszában kettőződik meg. A β-lánc génje az embrionális korban a későn replikálódó DNS szekvenciák között található, de születés után korán ez is korán fog replikálódni. A gén replikációja idejének megváltozásáért is a gén működését szabályozó LCR[13] szekvencia (l. 16. fejezet) a felelős.

A nukleotid prekurzorok beépülésének folyamatát követve kimutatható, hogy az 1500 növekedési ponton a replikáció nem egymástól függetlenül zajlik, hanem azok kb. 150 „*replication factory*"-t (gyár, szerelde) alkotnak, ahol több, valószínűleg nem is ugyanazon kromoszómához tartozó replikon megkettőződése folyik egyszerre[14]

- Alapvető fontosságú annak megértése, hogy a kromoszómák 4 dimenziós struktúrák. Ez azt jelenti, hogy a kromoszómák szerkezete az egyed élete során meghatározott időrend szerint is változik, ami a magasabbrendűekben az egyedfejlődés, a szervek és szövetek kialakulásának genetikai szabályozásához nélkülözhetetlen. Így pl. jól követhető a homeobox gének (l. 8. fejezet) rendezett sorrendben történő kondenzálódása heterokromatinná, miután az általuk kódolt szabályozó fehérjék kifejtették hatásukat. A 4. dimenziós változások jól észlelhető szélső esete az X kromoszóma inaktiválódása. A 4. dimenzió szabályszerűségeivel kapcsolatban említhetjük, hogy a replikáció előbb tárgyalt időrendje, ill. a replikonok határai is meghatározott módon változnak az egyedfejlődés folyamán. Csírasejt vonalakban az egyes gének megkettőződésének időrendje más, a replikonok pedig kisebbek, mint a kifejlődött szöveti sejtekben.
- A magasabbrendű kromatin-struktúrák mint struktúrák öröklődnek a sejt osztódásakor, ez nem kevesebbet jelent, minthogy a sejtek generációi között többlet-információ adódik át, amit a sejt DNS-ének nukleotid-sorrendje közvetlenül nem determinál (l. még *imrpinting*, 11. és 16. fejezet).

Az emberi kromoszómák

Jónéhány technikai újítás volt szükséges ahhoz, hogy a humán citogenetika megszülethessen. 1956-ig kellett arra várni például, hogy egyáltalán kétséget kizáróan bebizonyosodjék: a *Homo sapiens* fajra jellemző normális dipliod kromoszómaszám 2n = 46.

---

[13] LCR: *Locus Control Region*

[14] A replikáció igen alacsony hibaszázalékának az is feltétele, hogy az S fázisban a sejtmagban hozzávetőleg csak 10 kb-ra (mintegy 3 hemoglobin génre) való nukleotid prekurzor készlet van. Ha ezt kísérletesen megváltoztatjuk, a replikáció hibaszázaléka nagymértékben megnövekszik. Nyilvánvaló párhuzamot jelent, hogy egyrészt az S fázis kezdetén a dCTP és dGTP koncentrációja a magasabb, másrészt a GC (és aktív génben) gazdag, telomerikus T és R sávok kettőződnek meg először.

E fordulópontnak számító dátum után azonban az emberi kromoszóma-vizsgálatok váltak a technikai fejlődés motorjává, különösen mivel 1959-ben (és az azt követő rövid néhány év során) beigazolódott: bizonyos fejlődési rendellenességek, tünetegyüttesek hátterében kromoszomális elváltozások állnak.

AZ EMBER KARIOTÍPUSA

Kromoszómáink csak a mitózisban válnak jól láthatóvá és vizsgálhatóvá. A kromoszómák azonosítása szempontjából alapvető, hogy a centromer a kromoszómán hol helyezkedik el. Az X-alakú kromoszómákat, amelyekben a centromer középtájon helyezkedik el, ***metacentrikus***nak[15] nevezzük. Az ***akrocentrikus kromoszómák***on a centromer a kromoszóma végéhez közel van. A legtöbb kromoszóma alakja e két szélsőséges forma között képez átmenetet, ezek ***szubmetacentrikus kromoszómák***. Pontos jellemzésükre használjuk a centromer-indexet, amely azt mondja meg, hogy a kromoszóma teljes hosszának hány százaléka esik a rövid karra. A 10.3. táblázatból látható, hogy a metacentrikus kromoszómák centromer-indexe 48 körül van, míg az akrocentrikusoké kb. 17.

A 23 kromoszómapárból 22 megtalálható mind a két nem sejtjeiben. Ezeket ***autoszómák***nak (a görög *autos* „ugyanaz" kifejezésből) nevezzük. Vegyük észre, hogy a kromoszómák a 10.3. táblázatban sorszámozva vannak 1-től 22-ig. A fennmaradó két kromoszómát ***szex-kromoszóma***nak nevezzük, mivel eltérő kombinációban fordulnak elő a férfi és a nő sejtjeiben. A nagyobb és metacentrikus az X, a kisebb akrocentrikus pedig az Y. Normális esetben a férfi sejtjeiben egy X és egy Y fordul elő, a nő sejtjeiben pedig két X.

A kromoszómák hossza változhat az egyes metafázisos preparátumokban, de a relatív hosszúság, azaz a haploid kromoszómakészlet 22 autoszómájának és egy X kromoszómájának egyesített hosszából számított százalékos arány egy adott kromoszóma esetében csak kis szórást mutat. Az 10.3. táblázatban látható, hogy az 1. kromoszóma az autoszómák összesített hosszának 8,4%-át teszi ki, és kb. 10 μm hosszúságú.

Vegyük észre, hogy az emberi kromoszómák relatív hossza sorszámuk növekedésével csökken. Kivételt a két utolsó kromoszóma képez, a 21-es rövidebb mint a 22-es[16].

Amikor a sávtechnikák még nem álltak rendelkezésre, az ember autoszómáit hét csoportra osztották a hosszúságuk és a centromérjük helyzete alapján. A csoportokat be-

---

[15] A nevek a görög *meta* „középső", *akros* „legfelső" vagy „szélső" ill. az *autos* „ugyanaz" kifejezésekből származnak.

[16] A következetlenségnek történelmi oka van.

tűkkel jelölték, mégpedig ***A***-tól ***G***-ig. A 10.3. táblázat mutatja, hogy az egyes csoportokon belül a centromer helyzete meglehetősen hasonló. Például az ***A*** és ***F*** csoport tartalmazza a négy leginkább metacentrikus kromoszómát. A ***D*** és ***G*** csoport akrocentrikus kromoszómákból áll. A ***B***, ***C*** és ***E*** csoportban szubmetacentrikus kromoszómák láthatók.

A centromeren, azaz az úgynevezett ***elsődleges befűződés***en (*primary constriction*) kívül, néhány kromoszómában ***másodlagos befűződés***ek (*secondary constriction*) is láthatók. Megfelelő festés és nagyítás mellett a D és G csoportból öt kromoszómapáron másodlagos befűződéseket figyelhetünk meg a rövid karokon. Ezek az ún. nukleolusz-szervező szakaszok (***NOR***)[17] hozzák létre a sejtmagvacskát. A diploid emberi sejtben a számuk 10 (ill. 5 pár a homológ kromoszómáknak megfelelően). A kromoszómáknak a NOR-októl disztálisan található végeit apródoknak[18] (*satellites*) nevezzük. (Más kromoszómákon is lehetnek másodlagos befűződések, ezeknek azonban nincs közük a magvacskához és a szatellitekhez.)

A homológ autoszóma párok sávmintázatai között lehetnek kisebb eltérések. Ezekről eleinte azt gondolták, hogy műtermékek. A későbbi vizsgálatok azonban kiderítették, hogy számos ilyen különbség öröklődik, adott esetben anélkül, hogy az fenotípusos elváltozással járna. A legjobb példát az Y kromoszóma nyújtja. Egyes férfiakban az Y kromoszóma hosszú karja sokkal hosszabb, mint másokban. Ha ezek az eltérések a C-sávtechnikával pozitívan festődő régiókat érintik, nem figyelhető meg semmilyen korreláció sem a férfiasság, sem pedig más tulajdonságok vonatkozásában tapasztalható esetleges különbségekkel. (Öröklődő C-sáv variabilitást figyeltek meg az 1-es, 9-es és 16-os kromoszómánál is. Egy 57 személyt [közöttük rokonok is előfordultak] érintő vizsgálatban összehasonlították a 3-as, 4-es, 13-as, 14-es, 15-ös, 21-es, 22-es és az Y kromoszómák Q-sávozottságát. Két személyt sem találtak, akinek kromoszóma sávmintázata teljesen egyforma lett volna.)

---

[17] NOR: *Nuclear Organizing Region.*

[18] Az elnevezés az apród DNS-el csak névrokonságot jelent, l. 16. fejezet.

10.3. Táblázat. *Az ember testi sejtjeinek metafázisos kromoszómái*

Csoport	*Sorszám*	*Alak diagramban ábrázolva*	*Relatív hossza* [a]	*Centromer index* [b]
NAGY KROMOSZÓMÁK				
A	1		8.4	48 (M)
	2		8.0	39
	3		6.8	47 (M)
B	4		6.3	29
	5		6.1	29
KÖZEPES KRO-MOSZÓMÁK				
C	6		5.9	39
	7		5.4	39
	8		4.9	34
	9		4.8	35
	10		4.6	34
	11		4.6	40
	12		4.7	30
D	13		3.7	17 (A)
	14		3.6	19 (A)
	15		3.5	20 (A)
KIS KROMO-SZÓMÁK				
E	16		3.4	41
	17		3.3	34
	18		2.9	31
F	19		2.7	47 (M)
	20		2.6	45 (M)
G	21		1.9	31
	22		2.0	30
SZEX KROMO-SZÓMÁK				
	X		5.1[c]	40
	Y		2.2[d]	27 (A)

[a] A 22 autoszóma + X haploid összesített hosszából számított százalékban kifejezve.

[b] A kromoszóma teljes hosszából a rövid karra eső hányad százalékban kifejezve. A négy leginkább metacentrikus kromoszómát M-mel jelöltük. A négy leginkább akrocentrikus kromoszómát A jelzi.

[c] Nagysága szerint a C csoport.

[d] Nagysága alapján a G csoportba tartozna.

DUPress

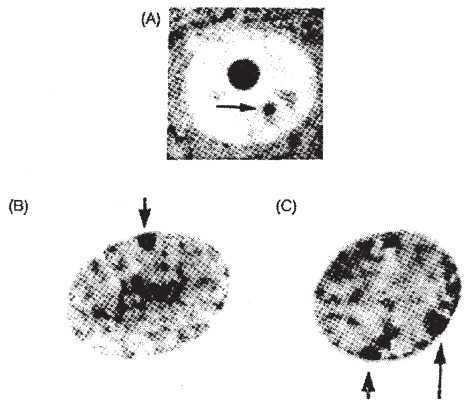
Nemi kormatinok és a Lyon hipotézis

Hosszú ideig jelentett rejtélyt a genetikusok számára a női és férfi (ill. még előbb a hím és nőstény emlős, ahol ez egyáltalán releváns) génállománynak az a különbsége, ami az X és Y nemi kromoszómák nagyságbeli eltéréséből következik. Nyilvánvaló volt az X és Y első pontos leírása óta, hogy az utóbbiban jóval kevesebb gén foglalhat csak helyet. Később még arra is fény derült, hogy az emberi Y hosszú karjának disztális része (kivéve a telomerikus szakaszt) génikusan „üres", ez minden fenotípusos következmény nélkül elveszhet. Az X-hez kötött öröklődés szabályszerűségeinek felderítéséből pedig az adódott, hogy a két nemi kromoszóma nem homológja egymásnak, az Y-on nincsenek meg azok a lokuszok, amelyek az X-en[19]. Ugyanakkor a nők és férfiak összehasonlításában semmiféle olyan jellegzetesség sem mutatkozott, ami az X kromoszómán levő vad típusú gének két, ill. egy példányban való jelenlétéből adódott volna.

Barr és Bertram megfigyelték, hogy nőstény macskák ganglionsejtjeinek interfázisos magjában – de csakis a nőneműekében! – egy, a környezeténél sötétebben festődő szemcse látható (10.15. ábra). Ezt a nemi kétalakúságot később különböző emlős fajokban számos kutató megerősítette, majd kiderült, hogy emberre is igaz. Ez a kromatinszemcse tipikusan a magboríték belső felszínéhez tapadva helyezkedik el, erősen heterokromatikus. Mivel már kezdetben egyértelműen a nemi differenciához volt rendelhető, elnevezték ***szexkromatin***nak. Más és ma megfelelőbbnek tartott megjelölése az első leíró tiszteletére: ***Barr-test***. Hosszú ideig nem sikerült magyarázatot találni sem az eredetére, sem kialakulásának értelmére, jelentőségére.

---

[19] Az utóbbi évtizedben ez úgy módosult, hogy mindkét nemi kromoszóma rövid karjának végén felismertek egy ún. pszeudoautoszomális régiót (PSAR, részletesebben l. még a 11. fejezetet), amelyben homológ lokuszokon allélpárok helyezkedhetnek el, és mivel ezek ugyanúgy oszlanak meg az utódokban, ahogyan az autoszómához kötöttek, innen származik e szegmentumok elnevezése. Olyan kevés génről van azonban szó, hogy ez érdemben nem módosítja az X és Y génszámának a különbségével és homológiája hiányával kapcsolatos megfontolásokat (10.17. ábra). Legújabban még további homológ lokuszokat azonosítottak a hosszú karokon is, ezek a felfedezések azonban nem változtattak alapvetően a korábban kialakult szemléleten.



10.15. ábra. *A női nemi kromatin.* **A**: Nőstény nyest idegsejtjének magjában a nagyobb nucleolus mellett látható a nyíllal jelzett női nemi kromatin. **B:** Méretében, elhelyezkedésében jellegzetes Barr-test. Figyeljük meg: vannak egyéb heterokromatikus szemcsék is az adott sejtmagban, a nagyjából 1 µm átmérőjű, kúpos alakú (háromszög keresztmetszetű) formának azonban csak a nyíllal jelzett képlet felel meg. A szájnyálkahártya kenet, melynek egy sejtmagjáról a fénykép készült, 46,XX kariotípusú nőből származott. **C**: 47,XXX kariotípusú nő szájnyálkahártya sejtjének magjában két Barr-test látható

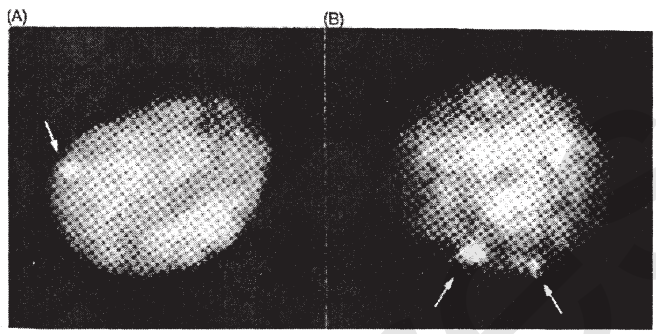
Gyakorlati felhasználási lehetőséget rendelt a Barr-test kimutatásához, hogy általa a nő- és hímnemű egyének mikroszkópos vizsgálattal azonosíthatók (10.15. ábra). Ez a nemi fejlődés zavarai esetén és bizonyos interszex állapotokban a helyes besorolást segítette[20]. Az eljárás szájnyálkahártya kaparékából készült kenetet használ. (Ezt a hallgatóság a gyakorlatokon maga is elvégzi.) A vizsgálat hajhagymából készült preparátumon is kivitelezhető, tehát egy nem invazív, egyszerű, a vizsgált személyt nem terhelő módszerről van szó. Standardizált kiértékelési szempontok szerint az eredménye lehet ***kromatin-pozitivitás*** ill. ***kromatin-negativitás.***[21] Normális esetben az előbbi női, az utóbbi férfi nemre utal. Hangsúlyoznunk kell: a Barr-test vizsgálata nem helyettesíti a kromoszóma-analízist. Ez egy egyszerű, olcsó tájékoztató módszer, kétes esetben azonban a kariogram vizsgálat elkerülhetetlen.

---

[20] Hosszú ideig alkalmazták a „szexkromatin vizsgálatot" női sportolók nemének ellenőrzésére. *Testicularis feminisatio*ban külsőleg az egyén nőies, de hormonális állapota a férfiakénak felel meg, aminek hatása az izomzatra érvényesül. Ez hátrányos helyzetbe hozza velük szemben a kiegyensúlyozott női endokrin háttérrel fejlődött versenyzőket. Ma már ezeket a hormonszinteket analizálják, ami sokkal egyértelműbben és megbízhatóbban ad választ a kérdésre: indulhat-e női számban az illető sportoló.

[21] Itt is a tudományban oly sokszor tapasztalható pongyolasággal, vagy más megközelítésben (és talán ez a helyesebb kifejezés) szlenggel állunk szemben. Természetesen nincs sejtmag, ami kromatin-negatív volna, azaz ne tartalmazna kromatinállományt. A szexkromatin-pozitivitás, ill. –negativitás kérdése egyszerűsödött le. Ma már, megfelelőbb eljárások birtokában, lassan történelmi érdekességűvé válik a Barr-test vizsgálata, de a szakirodalomban, sőt még tankönyvekben is találkozhatunk az itt említett két kifejezéssel.

Amióta felismerték, hogy interfázisban levő sejtmagok quinacrin festésével fluoreszcens mikroszkópban láthatóvá tehető az Y kromoszóma, pontosabban, az Y kromoszóma hosszú karja (10.16. ábra), ami mint ***férfi nemi kromatin*** értékelhető (egyéb megjelölései: *F body*[22] vagy *Y body*), a Barr-testet inkább ***női nemi kromatin***nak vagy ***X kromatin***nak, és nem szexkromatinnak nevezik.



10.16. ábra. *Fluoreszkáló Y-kromoszómák férfiak interfázisos sejtjeiben.* (A) Egy 46,XY férfi szájnyálkahártyájából vett sejt magja. A nyíl az egyetlen Y kromatinra mutat. (B) Egy 47,XYY férfi fehérvérsejtjének sejtmagja. A nyilak a két különböző méretű Y kromatinra mutatnak. Ezzel a módszerrel az Y-kromoszómák száma meghatározható fehérvérsejtekből, szájnyálkahár tyából, vagy spermiumsejtekből.

Lyon egereken végzett kísérletei alapján állított fel hipotézist a Barr-test kialakulásáról. Eszerint a Barr-test egy inaktivált X kromoszómának felel meg. Nőstény állatokban a két X kromoszóma közül az egyik a korai embrionális fejlődés során heterokromatinizálódik, génikusan inaktiválódik, ezzel teremtve meg a nőkben a két X-hez kötött géntöbblet hatásainak kiküszöbölését a hímnemhez viszonyítva. Ezt nevezzük ***(gén)dózis kompenzáció***nak. Az, hogy a két X közül melyik válik Barr-testté a sejtben, véletlen esemény[23], a továbbiakban viszont klonális jelleget mutat, vagyis, az egyszer végbement

[22] *F body = fluorescent body.*

[23] Érdekesség, hogy az egyedfejlődés korai szakaszában a későbbi extraembrionális függelékeket kialakító sejtekben az apai X inaktiválódik, a véletlenszerű vagy apai, vagy anyai X heterokromatinizáció csak a ténylegesen az embriót létrehozó sejtekre jellemző. Erszényes emlősökben (kenguruk, stb.) mindig az apai X kromoszóma válik inaktívvá. (Ugyanezekben megfigyelték, hogy az *SRY* [*TDF*] lokusz – vagy legalábbis annak homológja – [l. 8. fejezet] autoszómán helyezkedik el.)

inaktiválódás után az illető sejt összes utódjában ugyanabból a szülőből származó X kromoszóma alkotja a Barr-testet. További jellegzetesség, hogy a sejtciklus S fázisában mindig annak az X kromoszómának a DNS-e replikálódik legutoljára, amelyik a Barr-testet alkotja. Kivételeket a véletlenszerű inaktiválódás szabálya alól olyankor figyeltek meg, ha az egyik X strukturális hibát mutatott. Ilyen esetekben inkább a rendellenes X inaktiválódik. Ez végülis nem bizonyult abszolút szabálynak. Egy X kromoszóma fúziója valamelyik autoszómával (pl. transzlokáció) azzal jár, hogy az inaktiválódás kiterjed az autoszómális génekre is, ennek minden káros, esetenként katasztrofális következményével. Gyakoribb ilyen esetekben, hogy a nem rendellenes X adja a Barr-testet.

A humán citogenetika gyors fejlődése megerősítette Lyon elképzelésének helyességét. Kiderült, hogy minden sejtben eggyel kevesebb Barr-test mutatható ki, mint az abban található X kromoszómák száma. Így egy Barr-testet látunk normál kariotípusú (46,XX) nőkben (10.16B ábra) és Klinefelter szindrómás (47,XXY) férfiakban egyaránt. (Ez utóbbiakra alkalmazzák a „kromatin pozitív férfi" megjelölést.) Nem látható Barr-test 46,XY (normális) kariotípusú férfiak sejtmagjaiban, de nincs Turner szindrómás (45,X) nőkben sem („kromatin negatív nő"). Két Barr-test van 47,XXX kariotípusú nők (10.16C. ábra) és 48,XXXY férfiak sejtmagjaiban, stb.

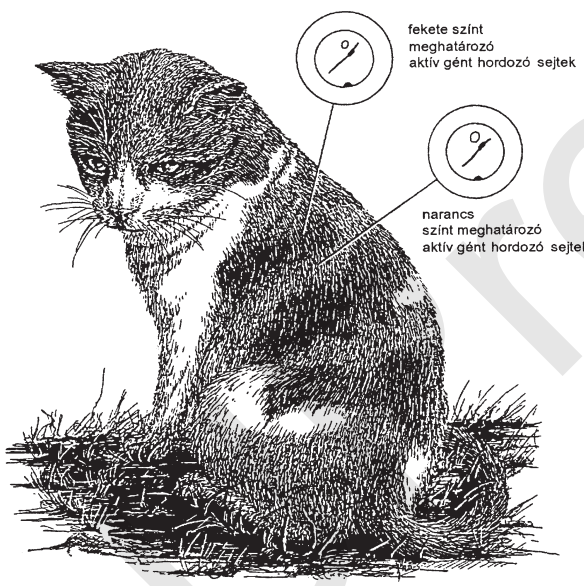
Az X-inaktiválódást Lyon tiszteletére ma *lyonisatio* néven szokták emlegetni. A Lyon hipotézist bizonyítja az ő eredeti vizsgálataiban szerepelt egerek szőrszínének mintázata: X-hez kötötten öröklődő pigmentációra nézve heterozigóta nőstény állatok foltosak, a hemizigóta hímek viszont valamelyik genotípus szerint mindig egyszínűek. Bizonyos tarka (*calico*) macskák is csak nőstényként ismertek (10.17. ábra), ezek hímjei vagy vöröses-sárga, vagy fekete bundájúak (amint a homozigóta nőstények is).[24]

Emberben is számos olyan megfigyelést tettek, ami alátámasztja Lyon hipotézisének helyességét. X-hez kötötten öröklődik pl. a G-6-PD (glükóz-6-foszfát-dehidrogenáz) defektus. Az ezt az enzimet tartalmazó vörösvérsejtek megfelelő citokémiai reakcióval kékre színezhetők. Heterozigóta nők vérkenetében ez az eljárás mintegy a sejtek felét tünteti fel kék színnel, a többiek negatívak (= az eredeti vörösvérsejt színt mutatják). Magyarázat: a vérképző őssejtek egyik felében a vad típusú (domináns) *Gd* (más jelöléssel: *G6PD*) gént hordozó X marad aktív, így ezen sejtek utódaiban a G-6-PD enzim termelődik, aktivitása kimutatható, míg azokban a sejtekben, amelyekben ez az X kromoszóma vált Barr-testté, a másikon levő hibás (recesszív) gd (másképpen: g6pd) allél nem tudja biztosítani az enzim produkcióját. Továbbá: amikor heterozigóta nők bőréből indított in vitro fibroblaszt kultúrák sejtjeit klónozták, azaz egyetlen sejtből hoztak létre új tenyészetet, ezek a tenyészetek teljes egészükben vagy G-6-PD-pozitívak, vagy G-6-PD-negatívak voltak. Egy sejtre vonatkoztatva az aktivitást, egy bizonyos jellemző érté-

[24] Ha – nagyon ritkán, kivételképp – találtak is a tarka bundájú nőstényekhez hasonló megjelenésű hímet, arról mindig kiderült, hogy nemi kromoszómaképlete XXY. Ez, az emberi Klinefelter szindrómának megfelelő állapot, az érintett kandurok esetében is nemzőképtelenséggel jár.

ket állapítottak meg, ill. nullát, köztes méréseredményt nem lehetett felmutatni egyetlen klónban sem. Ha kvantitatív analízisnek vetették alá az említett defektust nem hordozó homozigóta nők és értelemszerűen hemizigóta férfiak vörösvérsejtjeit, azonos G-6-PD aktivitásokat állapítottak meg. 47,XXY kariotípusú férfiakban és 47,XXX nőkben sem találtak magasabb enzimaktivitást.

Ritka rendellenesség az *anhydroticus* vagy *hypohydroticus ektodermalis dysplasia*, ami az izzadságmirigyek hiányát, vagy erősen csökkent számát jelenti. Heterozigóta nőkben megfigyelhető, hogy bőrük egyes foltjaiban megvannak ezek a mirigyek, másutt viszont hiányzanak. Egypetéjű (monozigóta) ikrekben a mintázat nem egyforma (10.18. ábra).

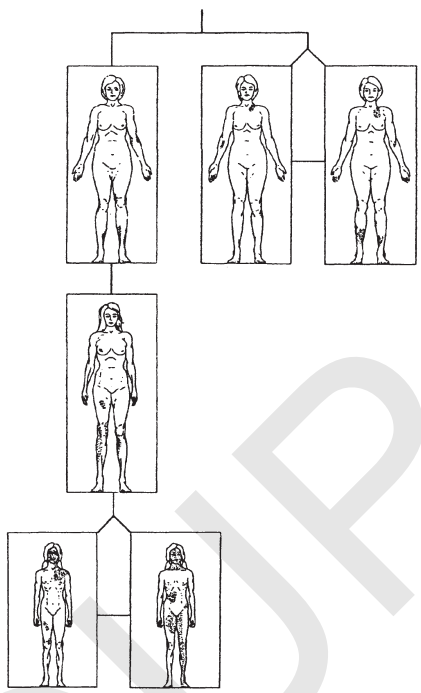


10.17. ábra. *Calico (tarka) macska bundájának foltjai.* Az X kromoszómán elhelyezkedő domináns *O* allél (narancs-)sárgás, recesszív *o* párja fekete szőrpigmentet határoz meg. Egy-egy sejt utódai, amelyikben vagy az egyik, vagy a másik X inaktiválódott, nagyobb bőrfelületen elhelyezkedve a heterozigótában az egyik, ill. a másik színt fejezik ki. (A macska bundájának színét autoszomális lokalizációjú gének is befolyásolják!)

Mint említettük, a molekuláris mechanizmus, ami az egyik, de csakis az egyik X véletlenszerű inaktiválódásához vezet, részleteiben nem ismeretes. Tudjuk, hogy ez a hosszú karon a centromerhez közeli régióban kezdődik, majd innen két irányban kiterjed, alkalmasint egy X-re transzlokálódott autoszóma-részletre is. Ebben szerepet játszik a *XIST* gén (*X Inactivation Specific Transcript*, helye: Xq13.2) terméke, ami RNS, és amiről fehérje nem szintetizálódik. A két *XIST* gén közül csak az fejeződik ki, amelyik az

inaktív X-en helyezkedik el[25], és a róla szintetizált RNS molekulák mintegy bevonják, beborítják ezt – és csak ezt – a kromoszómát.

Kérdés ezek után, hogy az inaktiválódás az X teljes génállományára igaz-e? Ma már megfelelő bizonyítékok alapján állíthatjuk: a rövid kar végén levő pszeudoautoszomális régióra (10.19. ábra) biztosan nem igaz. Pl. szemben a fent részletesebben tárgyalt G-6-PD defektussal, az Xg vércsoportra bizonyítottan heterozigóta genotípusú nők minden vörösvérsejtjén kifejeződik az Xg^a antigén. Ugyanezt a mindkét X-re igazolható aktivitást írták le a szteroid szulfatáz (*STS*) lokuszról is (aminek hemizigóta recesszív állapota az X-hez kötött *ichthyosis*ért felelős férfiakban). A sor még folytatható néhány más génnel (de amint említettük, a szóban forgó régióban igen kevés gén található).

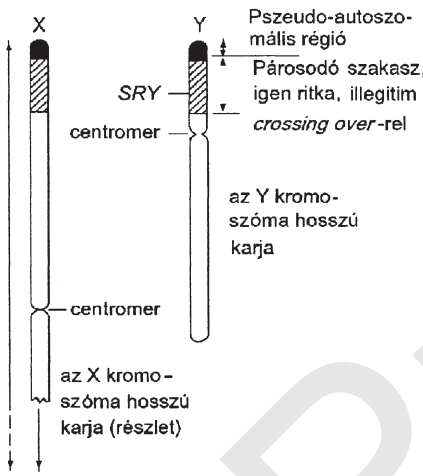


10.18. ábra. *Anhydroticus ektodermalis dysplasia.* Az ábra egy családfa kicsiny részletét, a heterozigóta nőket mutatja, a hemizigóta férfiak és a rendellenességtől nem érintett személyek kihagyásával. A pontozással kiemelt bőrterületeken állapították meg (a bőr elektromos vezetőképességének mérése alapján) az izzadságmirigyek teljes vagy részleges hiányát. A családban két egypetéjű ikerpár is született. Különösen a fiatalabb esetén szembetűnő az elváltozás kiterjedésének és elhelyezkedésének különbsége a pár tagjai között. (Egyébként a gén hatása pleiotróp: száraz, törékeny haj mellett fog abnormalitásokban is jelentkezik. Ezek úgyszintén különböztek az egypetéjű ikerpárok tagjai között.)

Ha az X inaktiválódás teljes és tökéletes lenne, akkor nehéz volna magyarázatot találnunk arra, hogy a Turner (45,X) ill. Klinefelter szindrómás (47,XXY) betegek nemi fejlődése miért szenved zavart. Ezek kérdését egyelőre nem zárhatjuk le, az viszont tény,

[25] Az aktív X-en lévő gén a megfelelő helyén hipermetilált, ez a DNS-módosítás az expresszió gátlója, míg az inaktív X-en lévő példány hipometilált (l. 16. fejezet). A tényt csak példaként említjük a metiláció szerepére a génműködés szabályozásában. Egyébként pedig figyeljük meg: az inaktiválás is aktív folyamat!

hogy ha az X inaktiválódás pontos ideje emberben nem is ismert, ez semmiképpen sem történik meg az embrionális fejlődés első két hetében, azaz a számfeletti X-nek van ideje hatását sok sejtben kifejteni a hímnemű előembrióban, megfordítva pedig: a két X együttes korai hatása a nőnemű egyed fejlődésének elején minden sejtjében elmarad. A zavartalan nemi differenciálódást illetően az 8. fejezetben leírtakra utalunk.



10.19. ábra. *Pszeudo-autoszomális régiók az X és Y kromoszómán.* Az X ill. Y kromoszóma rövid karján levő pszeudoautoszomális régiónak és az ez alatt (a centromerhez közelebb) fekvő területnek a vázlata. (Legújabban még egy további pszeudo-autoszomális régiót azonosítottak a hosszú karok végén, valamint néhány, az X-szel homológ lokuszt is felfedeztek az Y rövid, ill. hosszú karján, a centromerhez közel.)

DUPress

Összefoglalás

(*1*) A kromoszómák hordozzák az öröklődést meghatározó faktorokat, a géneket, és biztosítják a generációk közötti genetikai kapcsolatot. A testi sejtekben homológ párok formájában találhatók. Minden pár egyik tagja anyai, a másik pedig apai eredetű.

(*2*) A kromoszómák a sejtosztódás időszakában figyelhetők meg a sejtben. Ekkor erősen kondenzálódott állapotban vannak. Minden kromoszóma a replikáció után két azonos kromatidból áll, melyeket összeköt az egyelőre egységes közös centromerjük. Genetikai értelemben a kromoszómák az egyed, ill. faj génjei meghatározott csoportjának hordozói (meghatározott sorrendben), a sejtben természetszerűleg mindig jelen vannak.

(*3*) A magasabbrendűek kromoszómái DNS-t (a génikus információt tartalmazó molekulát), hiszton-fehérjét, nem-hiszton-jellegű fehérjéket tartalmaznak, egy fonalszerű komplex formájában.

(*4*) A kromoszómákban a DNS hiszton fehérjékből képződő korong alakú struktúrák köré csavarodva alkotja a nukleoszómákat, ezekből állnak a kromatin fonalak. A nukleoszómák további felcsavarodása révén alakul ki az ún. szolenoid struktúra. A kromatin szerkezet változásai összefüggést mutatnak a gének aktivitásának változásával.

(*5*) A kromatinra jellemző a 75-220 kbp-nyi DNS-t magában foglaló hurkok képződése fehérje váz-elemekhez való kapcsolódás által. Ez utóbbiakat nevezzük nukleáris matrixnak az interfázisban és scaffoldnak a mitotikus kromoszómákban.

(*6*) Az ember kromoszómáinak vizsgálatát számos citogenetikai módszer segíti. Kiemelhető közülük a fehérvérsejtek rövid idejű tenyésztése, a különféle sávfestési technikák és a legmodernebb molekuláris módszerek, amilyen pl. a FISH (fluorescens *in situ* hibridizáció) technika, valamint ennek különféle változatai.

(*7*) Minden kromoszóma egyértelműen azonosítható a metafázis vagy a kései profázis időszakában a méret, az alak és a sávmintázat alapján. Az emberi kariotípus 44 autoszómából (22 párból) és két szex-kromoszómából (egy pár) áll. A férfi képlete 46,XY, a né 46,XX. A normális kariotípuson belül időnként sajátos, fenotípusos következményekkel nem járó variabilitás figyelhető meg (például az Y-kromoszóma hosszában).

(*8*) A sávtechnikákkal kimutatható és azonosítható kromoszómarészletekben mindig több (sok) gén foglal helyet.

(*9*) Individuális gének csakis a legújabb molekuláris eljárásokkal (FISH, *in situ* PCR, PRINS, stb.) azonosíthatók citogenetikai szinten. Ezek az eljárások azonban mindjárt azt is lehetővé teszik, hogy ne csak metafázis kromoszómákon, hanem interfázisos sejtmagokban is megtörténhessen a kimutatás.

PUPress

(*10*) Kromoszómáink lineáris DNS-ének végi részeit a telomeráz enzim tartja ép, funkcióképes állapotban. Összefüggést találtak a telomeráz működés és a sejtvonalak élettartama között.

(*11*) Kromoszómáinkban a különböző gének és egyéb szekvencia-féleségek elrendeződése nem véletlenszerű, a kromoszómák terminális régiói génben gazdagabbak, itt találhatók a (CpG szekvenciában gazdag) háztartási gének, a centromerekhez közelebb találhatók viszont a szöveti fajlagosságot meghatározó gének.

(*12*) A soksejtűek egyedfejlődésének szabályozásában meghatározó jelentőségű a kromatinszerkezet időbeli változása, ami a gének nagyobb csoportjainak inaktiválódását eredményezi. Ennek jellegzetes megnyilvánulása pl. az X kromoszóma inaktiválódása nőkben.

(*13*) Nőkben (és nőstény emlős állatokban), ill. minden olyan egyénben, akinek sejtmagjaiban egynél több X kromoszóma található, ezek közül csak egy aktív, a másik (a többi) inaktiválódik és Barr-testként látható mikroszkóppal a magboríték belső felszínéhez tapadva.

Kérdések

(*1*) Vesse össze egymással az alábbi fogalmakat:
akrocentrikus – metacentrikus
centromer – NOR
kromoszóma – kromatid
fragilis hely – szatellit
heterokromatin – eukromatin
G-sávok – Q-sávok – R-sávok – C-sávok – nagyfelbontású prometafázisos sávok
autoszóma – szex-kromoszóma
centromer-index – relatív hosszúság
diploid – haploid
genotípus – kariotípus
hiszton – nem-hiszton fehérje
sejtmag – sejtmagvacska – nukleoszóma

(*2*) a) Milyen fehérjék a hisztonok?
b) Milyen fajtái vannak?

DUPress

c) Melyik vesz részt a nukleoszómák magjának kialakításában és melyik nem?

(*3*) Mi a jelentősége a nukleoszómák jelenlétének a kromatinban?

(*4*) H1 hiszton elhelyezkedése és szerepe.

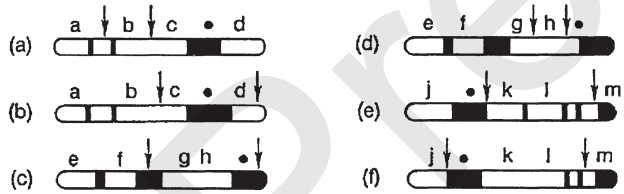
(*5*) A kromatin hurkos szerkezete, és annak funkcionális jelentősége.

(*6*) Mi a nukleáris matrix, és mi a kromoszóma scaffold? Milyen összefüggésben vannak egymással?

(*7*) Mi a biológiai és mi a gyakorlati jelentősége a telomeráznak?

(*8*) Mit értünk azon, hogy a kromoszómák 4 dimenziós struktúrák?

(*9*) Ha egy kromoszómában bekövetkezik két törés, a köztük levő szakasz 180°-os fordulatot tehet, mielőtt a törések összeforrnak. A jelenséget inverziónak nevezzük. Az inverzión belül az a *b c o d* sorrend *a o c b d* sorrendre változhat. Az alábbiakban néhány inverzió rajza látható. Mindegyik esetében állapítsa meg (1) az új génsorrendet, a centromer (=o) helyzetét és a sávmintázatot; (2) kimutatható lenne-e az inverzió olyan festett preparátumokban is, ahol sávmintázat nem látható; (3) kimutatható-e, ha a sávmintázat látható?



(*10*) Írja le szimbólumok segítségével a következő kariotípusokat.

a) A Klinefelter szindrómás férfiak egy számfeletti X-kromoszómával rendelkeznek.

b) A Turner szindrómás nők sejtjeiben eggyel kevesebb nemi kromoszóma található.

(*11*) Az autoszómák számfeletti példányainak jelenléte általában már születés előtti halált okoz. Ismerünk azonban néhány életképes variációt is. a) A leggyakoribb a Down-szindróma (700 szülésenként 1 eset), amelyben a 21-es kromoszómából van jelen három példány. b) A 13-as kromoszómára nézve triszómiás esetek ritkák és korai halállal járnak. c) Hasonlóképpen rövid életűek a 18-as kromoszómára nézve triszómiások. Írja le a három szindróma kariotípusát szimbólumok segítségével, feltételezve, hogy az a) nő, a b) férfi és a c) nő.

ELTE Press

Válaszok

(*1*) Keresse ki a megfelelő vastagbetűs fogalmakat a szövegben.

(*2*) a) A hisztonok kis molekulatömegű (11-23 kDa) bázikus fehérjék.

b) H2A, H2B, H3, H4 és H1.

c) A nukleoszómák magjában a H1 nincs jelen, ez utóbbi a DNS be- és kilépési pontjainál található a nukleoszómákon.

(*3*) A DNS-nek a nukleoszómákra való feltekeredése a DNS térben való megrövidülését, kisebb térfogatban való elhelyezhetőségét teszi lehetővé. A DNS nukleoszómákhoz való kapcsolódása az RNS szintézist nem akadályozza meg.

(*4*) A H1 hiszton a DNS nulkeoszómákra való be- és kilépési pontjainál elhelyezkedvén akadályozza a transzkripciót. Szervezi a kromatin szálak szolenoid struktúrába való rendeződését.

(*5*) A kromatin 75-220 kbp-nyi DNS-t magában foglaló hurkokba rendeződve található mind az interfázisban, mind az osztódás alatt. A hurok-határok valószínüleg az egész sejtciklus alatt változatlanok maradnak, és egységeit képezik mind a replikációnak, mind a génaktivitás szabályozásának.

(*6*) A nukleáris matrix a sejtmagban az interfázisban található, fehérjékből álló váz-elem. A kromoszóma scaffold valószínűleg a nukleáris matrix átrendezéséből származik, ami az osztódás folyamán figyelhető meg. Ehhez kapcsolódnak a kromatin hurkai.

(*7*) A telomeráz képes kipótolni a lineár DNS végének minden osztódáskor bekövetkező megrövidülését. Nem minden sejtféleségben működik, és ez az élettartam egyik korlátozó tényezője. Mesterséges befolyásolásától egyesek az élet meghosszabbíthatóságát remélik.

(*8*) A kroszóma szupramolekuláris szerkezetének időbeli változása egyben a gének működésének időbeli szabályozását is jelenti. Így magyarázzuk pl. az egyedfejlődés folyamán a gének aktivitásának (hosszabb tartamra szóló) időbeli változásait.

(*9*) Az új sorrend

	kimutatható a sávmintázat nélkül is	a sávmintázat ismereteismeretében mutható ki
(a) a b c • d	nem	igen
(b) a b d • c	nem	nem
(c) e f • h g	igen	igen
(d) e f g h •	nem	nem
(e) j • f k m	nem	igen
(f) j i k • m	igen	igen

(*10*) (a) 47,XXY (b) 45,X

(*11*) (a) 47,XX,+21, (b) 47,XY,+13 (c) 47,XX,+18

Függelék

10.1. táblázat. *A kariotípusokban használt jelölések.*

Jelölés	Értelmezés
A - G	Kromoszómacsoportok jelölése (a Denveri Nómenklatura szerint)
1 - 22	Az egyes autoszómák számozása
X és Y	Nemi kromoszómák
ace	Acentrikus fragment
b	Törés (break)
cen	Centromer
chi	Kiméra
ct	Kromatid
del	Deléció
der	Kromoszóma derivátum (származék)
dic	Dicentrikus kromoszóma
dir	Direkt
dmin	Double minute
dup	Duplikáció
end	Endoreduplikáció
fra	Törékeny (fragilis) hely
h	Heterokromatikus terület, kromoszómarészlet. Más értelmezésben és használatban: másodlagos befűződés
hsr	Homogénen festődő régió
i	Izokromoszóma
ins	Inszerció
inv	Inverzió
inv (p+q-)	Pericentrikus inverzió
inv (p-q+)	Pericentrikus inverzió
mar	Marker kromoszóma
mat	Anyai eredet
mos	Mozaicizmus
p	Rövid kar
pat	Apai eredet

DLPress

Ph vagy Ph[1]	Philadelphia kromoszóma (újabban csak a Ph jelölést alkalmazzák)
pter	Rövid kar terminális (telomérikus) szakasza
q	Hosszú kar
qter	Hosszú kar terminális része
r	Gyűrűkromoszóma
rec	Rekombináns kromoszóma
rep	Reciprok transzlokáció
rob	Robertson-féle transzlokáció
s	Szatellita
SCE	Testvérkromatid kicserélődés (sister chromatid exchange)
t	Transzlokáció
ter	Terminális (telomérikus) kromoszómarész
tri	Tricentrikus kromoszóma
var	Variáns (eltérő) vagy heteromorph kromoszóma
ismételt jel	Az ezzel jelölt kromoszómarész duplikációja
-	-tól -ig
,	A kromoszómaszám elválasztása a többi jeltől, ill. ezek egymástól való elválasztása
;	Két, transzlokációban részes kromoszóma(részlet) elválasztása
:	Törés(pont)
::	Törés és újraegyesülés(i pont)
?	Kérdéses azonosítás kromoszóma vagy kromoszómastruktúra vonatkozásában
( )	t után: zárójelben állnak a transzlokációban résztvevő kromoszómák vagy -részletek
/	Különböző kariotípusú sejtvonalak leírásának elválasztása kromoszóma mozaicizmus esetén
+	Kromoszóma jele előtt: extra kromoszóma, a jelzett kromoszómából eggyel több található. Kromoszómacsoport betűjele előtt: az illető csoportban egy számfeletti kromoszóma. Közvetlenül egy kromoszóma-részlet jele után: az illető rész megnagyobbodott
-	Kromoszóma jele előtt: az illető kromoszóma hiányzik. Kromoszóma-csoport betűjele előtt: az illető csoportban egy kromoszóma hiánya Közvetlenül egy kromoszómarészlet jele után: az illető kar megrövidült, a megfelelő részlet megkisebbedett
*	Utalás arra, hogy a jel előtt álló kromoszóma(részlet) leírása szövegben (vagy lábjegyzetben) bővebben megtalálható

DUPress

10.2. táblázat. *Humán kariotípusok* (Néhány fontosabb példa az 10.1. táblázatban felsoroltak alkalmazására)

Kariotípus	Leírás
46, XX	Normál (diploid) női kariotípus
46, XY	Normál (diploid) férfi kariotípus
45, X	Aneuploidia (hypodiploidia): 45 kromoszóma, a nemi kromoszómák közül csak egy X kromoszóma van meg (Turner szindróma)
47, XXY	Aneuploidia (hyperdiploidia): 47 kromoszóma, a nemi kromoszómák között egy számfeletti X van (Klinefelter szindróma)
47, XYY	Aneuploidia (hyperdiploidia): 47 kromoszóma, a nemi kromoszómák között egy számfeletti Y van
48, XXXY	Aneuploidia (hyperdiploidia): 48 kromoszóma, a nemi kromoszómák között két számfeletti X van (Klinefelter szindróma)
47, XX,+21	Aneuploidia (hyperdiploidia): 47 kromoszóma, XX (normális női) nemi kromoszómaképlet, számfeletti 21-es kromoszóma, azaz a 21-es autoszóma triszómiája (Down szindróma)
47, XY,+21	Aneuploidia (hyperdiploidia): 47 kromoszóma, XY (normális férfi) nemi kromoszómaképlet, számfeletti 21-es kromoszóma, azaz a 21-es autoszóma triszómiája (Down szindróma)
47, XX,+13	Aneuploidia (hyperdiploidia): 47 kromoszóma, XX (normális női) nemi kromoszómaképlet, számfeletti 13-as kromoszóma, azaz a 13-as autoszóma triszómiája (Patau szindróma)
47, XY,+18	Aneuploidia (hyperdiploidia): 47 kromoszóma, XY (normális férfi) nemi kromoszómaképlet, számfeletti 18-as kromoszóma, azaz a 18-as autoszóma triszómiája (Edwards szindróma)
46, XY,del(5)(p13)	46 kromoszóma, XY (normális férfi) nemi kromoszóma képlettel. Az egyik 5-ös kromoszóma rövid karjának terminális deléciója, az 5p13-as sávnál letörve (Cri du chat szindróma)
46, XX,t(2;8)(p13;q12)	46 kromoszóma, XX (normális női) nemi kromoszómaképlet. Reciprok transzlokáció az egyik 2-es és az egyik 8-as kromoszóma között, törési pont a 2-esen a rövid kar 13-as sávja (2p13), ill. a 8-ason a hosszú kar 12-es sávja (8q12)
46, XY,fra(X)(q27)	46 kromoszóma, XY nemi kromoszómaképlettel. Az X kromoszóma hosszú karján, a 27-es sávban (Xq27) törékenység

DUPress

46, X , Xp-	46 kromoszóma, az egyik X rövid karjának delációja (Turner szindróma)
46,X,i(Xq)	46 kromoszóma, az egyik X hosszú kar izokromoszóma; más szavakkal: X kromoszóma rövid kar monoszómia, hosszú kar triszómia (Turner szindróma)
46, X , r(X)	46 kromoszóma, az egyik X gyűrűkromoszóma (Turner szindróma)
46, XX/45,X	Mozaicizmus, az egyik sejtvonal X monoszómiás (definíció szerint Turner szindróma, de – az aneuploid sejtek rész arányától és az érintett szervektől függően – lehet többé-kevésbé tünetmentes)
46, XY,t(9;22)	Diploid kromoszómaszám, XY (normális férfi) nemi kromoszómaképlet, (reciprok) transzlokáció az egyik 9-es és az egyik 22-es autoszóma között (Ph-pozitív CML)
46, XX,t(9:22)(q34:q11)	Diploid kromoszómaszám, XX (normális női) nemi kromoszómaképlet, (reciprok) transzlokáció az egyik 9-es (töréspont a hosszú kar 34-es sávjában) és az egyik 22-es (töréspont a hosszú kar 11-es sávjában) között. Ph-pozitív krónikus myeloid leukémia. (Ugyanaz az elváltozás, mint a megelőző kariotípusban, de itt a törésponto k is pontosan azonosítottan vannak leírva.)

DUPLOSS

DUPress

11. FEJEZET

CITOGENETIKA

Számbeli kromoszóma rendellenességek

Autoszómák triszómiái
Nemi kromoszómák számbeli rendellenességei
Kimérizmus

Uniparentális diszómia és kromoszómális imprinting

Strukturális kromoszóma rendellenességek

Deléciók
Duplikációk
Transzlokációk
Inverziók
Izokromoszóma
Kromoszómatörés

Vetélések, halvaszületések és kromoszóma rendellenességek

Daganatok és kromoszóma rendellenességek

DUPress

Számbeli kromoszóma-rendellenességek

Mint láttuk a fentiekben, az ember normális kromoszómaszáma, ***diploid kromoszóma-garnitúrá***ja a ***haploid szortimentum*** kétszerese: 2n = 46. Ha egy egyed egy sejtmagjában található kromoszómák n egész számú többszörösét adják, akkor ***euploidiá***ról[1] beszélünk. Teoretikusan euploidia ennek megfelelően a 3n (***triploid***), 4n (***tetraploid***), 6n (***hexaploid***) kromoszómaszám, azaz általában a ***poliploidia***, ami sokszor kifejezetten előnyös termesztési és/vagy gazdasági tulajdonságokat kölcsönöz egyes növényfajoknak. Emberben (általánosságban: magasabbrendű állatokban) azonban a 3n, 4n állapot össszeegyeztethetetlen az élettel, triploidiát vagy tetraploidiát spontán vetélésből származó abortumokban (11.1. táblázat) vagy – sokkal ritkábban! – halvaszületett magzatokban írtak le, azaz a poliploidia *Homo sapiens* esetén számbeli rendellenességnek minősül.[2]

1959-ben írták le először, hogy egy jól ismert tünetegyüttes, a ***Down szindróma*** oka olyan számbeli rendellenesség – egy számfeletti, kettő helyett három 21-es kromoszóma megjelenése –, ami az ***aneuploidiák*** közé sorolandó. Nem n egész számú többszöröse észlelhető az érintett egyén kariotípusában, hanem kromoszómagarnitúrája 2n+1-nek felel meg. Tulajdonképpen ezzel a felismeréssel kezdődött el a humán citogenetika napjainkig tartó rendkívül gyors ütemű fejlődése.

Az aneuploidiákat feloszthatjuk ***hiper-*** és ***hipodiploidiák***ra, aszerint, hogy 46-nál több, vagy kevesebb kromoszóma található egy-egy sejtmagban. Egy bizonyos kromoszómából a szokásos homológ pár mellett megjelenő számfeletti példány esetén az illető kromoszóma ***triszómiá***járól beszélünk. Igen ritkán előfordulhat ***tetra-,*** ill. ***pentaszómia*** is: 4 vagy 5 példány van valamelyik kromoszómából. (Ez utóbbiakat az élettel összeegyeztethető formában csak az X kromoszómával kapcsolatosan írták le, autoszómákra nézve csak tumorsejtekben figyelték meg.) Lehetséges természetesen összetett abnormalitás létrejötte is: ahol a 2n+2, 2n+3 stb. képlet nem egy homológ párra, hanem különböző kromoszómák egyidejű számfeletti megjelenésére utal; ez azonban vagy irodalmi ritkaság: súlyos, atípusos fejlődési rendellenességekben észlelik, ill. esetleg autoszómák és nemi kromoszómák egyidejű rendellenességeként, vagy daganatsejtekben mutatható ki. ***Monoszómiá***ról beszélünk, ha a homológ párnak csak az egyik tagja van meg. (Általánosságban többlet, vagy hiány megjelölésére szokás a megnevezett kromoszóma ***aneuszómiá***járól beszélni, ez *a terminus technicus* azonban nem nagyon terjedt el.)

---

[1] Görög: *eu* = jó, *ploid* = sorozat.

[2] Gerincesekben (mint legmagasabb rendszertani egységben), kifejlett állatban a szalamandrák között említ poliploidiát a szakirodalom, ennél magasabbrendűekben nem.

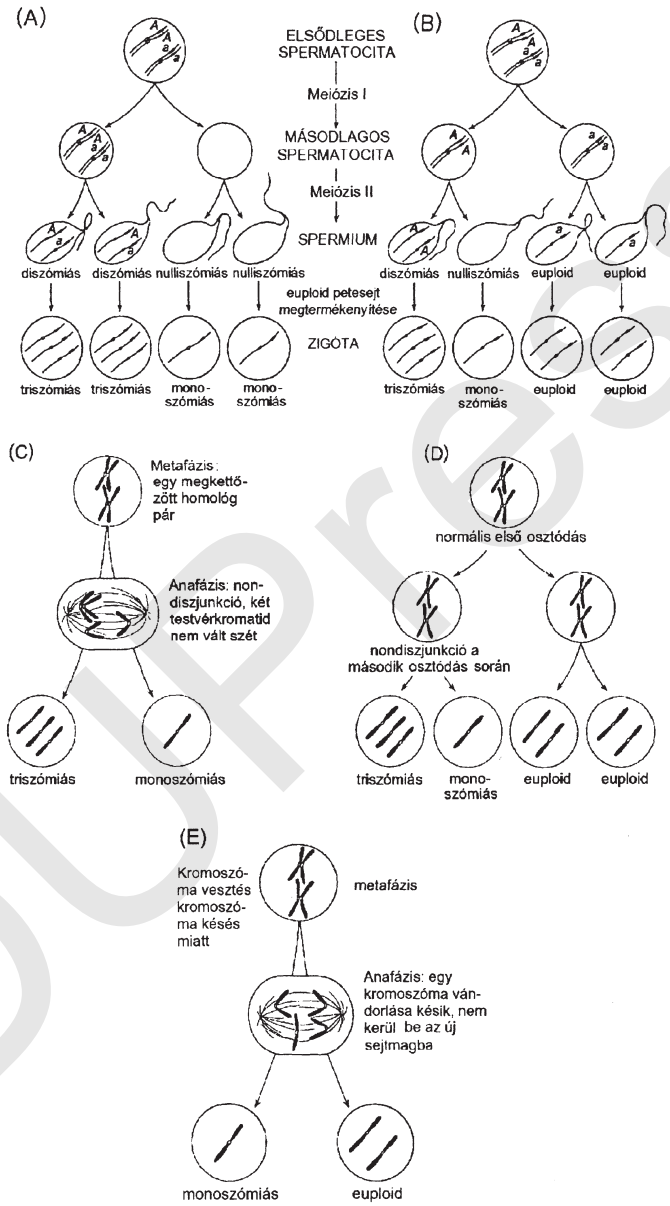
11.1. táblázat. *Kromoszómaaberrációk 100 000 terhességben*

Kromoszómális állapot	Spontán vetélés	Élveszülött
Normális (46,XX vagy 46,XY)	7 500	84 450
Poliploidia		
Triploidia	1 275	0
Tetraploidia	450	0
Autoszomális triszómia		
13-as	128	17
18-as	223	13
21-es	350	113
egyéb	3 176	0
Nemi kromoszómák		
47,XYY	4	46
47,XXY	4	44
45,X	1350	8
47,XXX	21	44
Transzlokációk		
Kiegyensúlyozott	14	164
Kiegyensúlyozatlan	225	52
Egyéb (mozaicizmus stb.)	280	49
Összesen	15 000	85 000

Az adatsor (egy adott vizsgálati területen élő népességből) 100 000 válogatatlan, egymást követően észlelt terhességre vonatkozik. Ne felejtsük el: megfogant terhességekről van szó. Létezik azonban zigotikus (már az első mitózis sem játszódik le) és beágyazódás előtti preembrionális szelekció is, vagy a beágyazódás idejében bekövetkező elhalás, mely esetekben terhesség egyáltalán nem is jön létre. A legsúlyosabb rendellenességek minden valószínűség szerint pont ezekben az esetekben volnának megfigyelhetők, ha valamilyen vizsgálati módszer számára elérhetőek lennének.

Nagyobb populációs felmérések szerint a legtöbb kromoszóma-rendellenesség spontán vetélésekben fordul elő (amint azt a 11.1. táblázatban összefoglalt adatok is mutatják). Ezek között egyaránt van számbeli és strukturális hiba. A legkevésbé sem elhanyagolható azonban az élveszülöttek körében észlelhető kromoszómaaberrációk száma (ha arányaiban a táblázatból esetleg alacsonynak tűnhet is: 85 000 újszülött közül „csak" 550 volt érintett, és ezen belül 208 fenotípusa normális lehetett). Más statisztikák,

amelyek csakis az élveszületettek adataira támaszkodnak, magasabb arányban mutatják ki e rendellenességeket.



DUPress

11.1. ábra. *Nondiszjunkció és kromoszóma késés.*

Fent: Kromoszómák szét-nem-válása spermiogenezis során meiózis I-ben (A), ill. II-ben (B). Az ábra feltüntet egy heterozigóta lokuszt is a homológ pár tagjain. Figyeljük meg: a végeredmény különböző, mind a diszómiás, ill. nulliszómiás ivarsejtek számát, valamint az euploidok keletkezésének lehetőségét, mind pedig az A és a allél továbbadási mintáit illetően. Ugyanakkor egy adott megtermékenyítés esetén teljesen érdektelen, hogy milyen egyéb normális, vagy abnormális sejtek keletkeztek még, ill. voltak jelen.

Középen: Kromoszómák szét-nem-válása a zigóta mitótikus oszlásai során. Ha az első mitózis hibás, csak aneuploid sejtekből álló utód keletkezhet (C), míg a második osztódásban bekövetkezett hiba már csak az egyik sejtet érintheti, következésképpen az így fejlődő egyed sejtjeinek többsége euploid lesz (D). Ha autoszómát érint a hiba, a monoszómiás sejt általában nem életképes, így a (C) esetben igen nagy valószínűséggel hiperdiploid: 2n+1 (triszómia) lesz a kromoszómaszám, míg a (D)-ben 2n/2n+1 mozaicizmus.

Lent: Kromoszómakésés (mitózisban), aminek eredménye 2n/2n–1 mozaicizmus (E). A késlekedő kromoszóma nem kerül be az új sejtmagba. Autoszómák monoszómiája általában letális, az X kromoszómáé az élettel összeegyeztethető lehet. (Daganatsejtekben viszont többszörös monoszómia is megfigyelhető.)

Hogyan jöhetnek létre a kromoszómák számbeli eltérései? A legegyszerűbb lehetséges mechanizmus a ***kromoszóma késés.*** Ez azt jelenti, hogy egy kromoszóma mozgása akadályozott a sejtosztódás anafázisában, és a telofázisban lekési a sejtmag újraszerveződését, kívül kerül a maghártyán. A citoplazmában maradt kromoszóma áldozatául esik az ott idegen elemeket lebontó folyamatoknak és elvész. A következmény: monoszómia. Mivel ez az X kromoszóma kivételével az élettel tiszta formában összeegyeztethetetlen, ezért a kromoszóma késést csak a Turner szindróma (45,X) okaként tételezhetjük fel, valamint bizonyos mozaik állapotok és daganatos kromoszóma-rendellenességek kialakulásának magyarázatára (amelyekre az alábbiakban még visszatérünk).

Mind a kromoszóma-többlet, mind pedig a -hiány létrejöttét megmagyarázhatja a ***szét-nem-válás*** (*nondisjunctio*) jelensége, aminek mechanizmusát a 11.1. ábrán láthatjuk. Lehetséges következményeit illetően élesen el kell különítenünk egymástól a mitotikus és a meiótikus nondiszjunkciót.

Ha az ivarsejtek érési oszlása során lép fel a hiba (a meiózis I-ben a homológok, a II-ben a testvérkromatidák szét-nem-válása), kromoszóma-hiányos (nulliszómiás) és -többletes (diszómiás) spermium, vagy petesejt egyaránt keletkezhet. Normális gamétával való egyesülést feltételezve, a létrejött zigóta az aberráció jellege szerint hipo- vagy hiperdiploid, azaz mono- vagy triszómiás lehet. Az előbbi – a Turner szindróma: 45,X esetét kivéve, amint azt fentebb említettük – az élettel összeegyeztethetetlen. Bizonyos triszómiás állapotok, ha csökkent életképességgel járnak is, elérhetik az élőben való észlelést. Értelemszerűen ilyen esetekben az érintett egyed minden sejtje aneuploid.

A testvérkromatidok szétválásának elmaradása mitózisban csak az ebből származó két leánysejtben, valamint ezek utódsejtjeiben eredményez aneuploidiát, az egyén többi sejtje természetesen euploid marad. Genetikában azon állapotok egyikét, amelyben egyetlen egyedben eltérő genotípusú – nem daganatos! – sejtek találhatók, ***mozaicizmus***nak nevezzük. (A másik a kimérizmus, l. alább.) Ilyenkor mindig egyetlen petesejt egyetlen spermium általi megtermékenyítéséből származó zigótáról, pontosabban az abból fejlődő egyed sejtjeiről van szó. Ha ez citogenetikai rendellenességként jelentkezik, ***kromoszóma mozaik***ról beszélünk. Elvileg ilyen esetekben három: egy euploid, egy hiper- és egy hipodiploid sejtvonal létével kellene számolnunk, a gyakorlatban azonban ez utóbbi általában életképtelennek bizonyul, és ezért a 2n/2n+1 képletű kariotípust észleljük. (Mitótikus kromoszómakéséssel csak a 2n/2n-1 mozaik jöhet létre normális zigótából kiindult fejlődés esetén, ami irodalmi ritkaság, de triszómiás zigótából ez a hiba éppen normális kariotípust eredményezhet.) Attól függően, hogy az osztódási zavar az egyedfejlődés mely stádiumában és milyen elkötelezettségű sejtben következett be, lehet az egyén több, vagy kevesebb sejtje aneuploid egyrészt, másrészt érinthet a rendellenesség több, vagy kevesebb, ill. más-más szövetet, szervet. Ez a változatosság megnyilvánul a fenotípusos tünetek súlyosságában, eloszlásában stb. Mozaik formában számos olyan kromoszóma számbeli anomália is előfordul, aminek tiszta (= az egész szervezetre kiterjedő) megjelenése élőben sohasem észlelhető. A kromoszóma mozaicizmus meglehetősen ritka elváltozás, diagnosztikus megközelítése komoly gondot okozhat, a kórisme pontos felállítása azonban elemi érdeke nemcsak magának az érintett betegnek, hanem szüleinek (újabb gyermek vállalása, vagy nem vállalása, ill. ennek előzetes vizsgálati stratégiája) és alkalmasint lehetséges utódainak is.

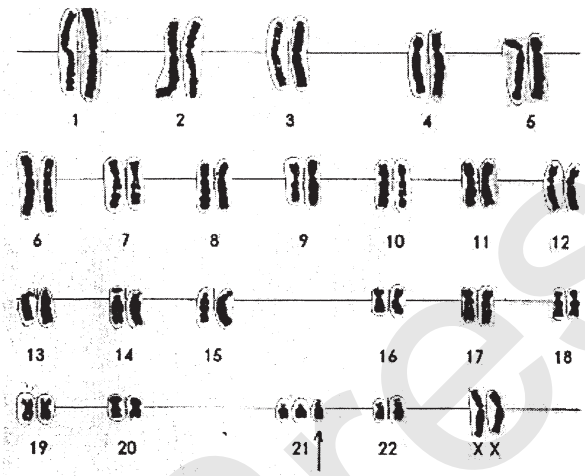
2n+1/2n mozaik létrejöhet úgy is, hogy az eredeti zigóta aneuploid (2n+1), és mitótikus nondiszjunkcióval (vagy kromoszóma késéssel) pont a számfeletti kromoszóma vész el egy sejtből. A 2n kromoszómagarnitúrájú sejt és utódai szelekciós előnyt élveznek a 2n+1 képletű társaikkal szemben, így a zigóta fejlődésének korai szakaszában bekövetkezett „korrekció" eredményezheti azt is, hogy az egyed sejtjeinek többsége euploid lesz. (A szét-nem-válás alapján létrejövő 2n+2 hiperdiploid sejt igen nagy valószínűséggel életképtelen.) Ismeretesek a szakirodalomban olyan mozaik Down szindrómás esetek, akik kariotípusa csak úgy volt levezethető, ha feltételezték a 21-es triszómiában bekövetkezett kromoszóma késést.

AUTOSZÓMÁK TRISZÓMIÁI

Down szindróma, a 21-es kromoszóma triszómiája. Kariotípusa 47,XX,+21 (11.2. ábra) vagy 47,XY,+21. A fajra jellemző humán kromoszómaszám (1956-ban történt) meghatározása után három évvel írták le először, hogy a Down-kór oka a 21-es kro-

DUPLICÁS

moszóma triszómiája. Ez az egyedüli autoszomális hiperdiploidia, amelyik ***tiszta*** vagy ***egyszerű*** (= nem mozaik) formájában az élettel összeegyeztethető. Szokás ***nondisz-junkciós Down-kór***ként is említeni a később tárgyalandó transzlokációs formától való megkülönböztetés okán.



11.2. ábra. *21-es triszómia Down szindróma.* Kariotípusa: 47,XY,+21.

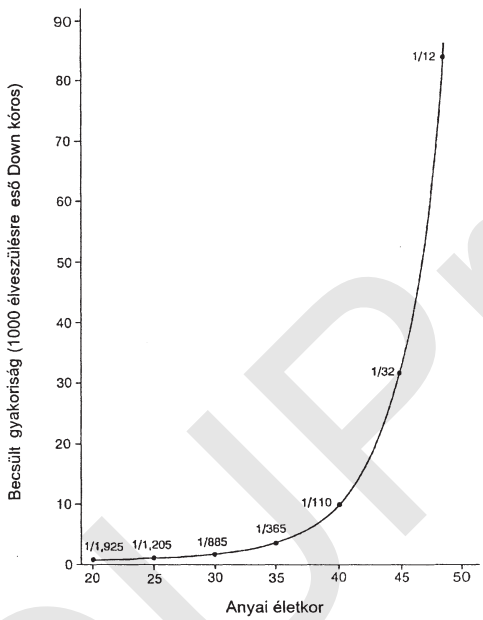
A tünetegyüttes eredeti megjelölése „mongolizmus" vagy „mongoloid idiócia" volt. Még ma is sokszor olvasható egyik vagy másik név régebbi tan- és szakkönyvekben. Modern szemléletünk szerint azonban nem etikus egy kórállapot megnevezéséhez valamely rassz, etnikum vagy nép nevét kötni. Kétségtelen tény, hogy a legszembetűnőbb morfológiai jel ebben az esetben a mongoloid szemforma, de ezen túlmenően még számos egyéb tünet is hozzátartozik a Down szindróma képéhez, ugyanakkor az idiócia nem, mert bár az értelmi visszamaradottság is kifejezett és jellemző, ez általában nem éri el a legsúlyosabb fokozatot, hanem a debilitás szintjén realizálódik.

A Down szindróma tüneteinek összességére általában ugyanaz jellemző, mint bármilyen más jellegzetes tünetegyüttesre: vannak kardinálisak (alapvetően jellemzőek) és kevésbé fontosak, de minden lehetséges ide tartozó elváltozásnak nem kell feltétlenül megjelennie egy egyénben. Szembetűnő karaktert ad az érintetteknek a mongoloid megjelenésű arc: a ferde szemállás és a felső szemhéj epikanthus redője mellett a szélesebb (és lapos, kerek) arcforma is hozzájárul ehhez. Nemcsak az említett értelmi visszamaradottság, hanem pszichés lelassultság és szomatikus retardáció (alacsonyabb testmagasság, mikrokefália, stb.) is jellemzőek. Az izmok csökkent tónusához az izületek hiperflexibilitása társul. Nagy és harántul barázdált a nyelv (az utóbbi neve: *lingua scrotalis*). Jellegzetesen rövid, kerekded alakú a kéz, a tenyéri bőrlécrajzolat mintázatának elváltozása is a Down-kór tünetei közé tartozik. Gyakori a veleszületett szívhiba. A 21-

DUPress

es triszómiások fogékonyabbak a fertőzésekre, körükben az átlagosnál többször fordul elő leukémiás megbetegedés. Felnőtt férfiakban a szindróma sterilitással jár, nők azonban teherbe eshetnek.

A felsoroltak közül több tünet már újszülött korban megfigyelhető (mongoloid arc, izomzat erősen csökkent tónusa, az izületek fájdalom jelzése nélküli túlfeszíthetősége stb.), ami lehetővé teszi a klinikai diagnózis korai felállítását és ennek megerősítésére a citogenetikai vizsgálat mielőbbi elvégeztetését. Korrigálhatatlan állapotról van szó, a szülő időben történő megfelelő felvilágosítása elsőrendű orvosi kötelesség.



11.3. ábra. *21-es triszómiás gyermek születésének tapasztalati kockázata a születéskori anyai kor függvényében.* Emlékeztetünk rá, hogy 20 éves anyai kor alatt valamivel nagyobb a gyakoriság, mint a 20 éves korcsoportban. Más számbeli kromoszóma rendellenességek is mutatnak bizonyos összefüggést a szülői korral, de nem olyan erőteljesen növekvő mértékben, mint ami az ábrán látható. Különböző népességekben elvégzett felmérések eredményei a konkrét számokat illetően eltérhetnek egymástól, a tendencia azonban mindenütt az itt bemutatotthoz hasonló.

Alapvető fontosságú megfigyelés az egyszerű 21-es triszómia előfordulási gyakoriságával, kockázatával kapcsolatosan, hogy ez jelentősen emelkedik a születéskori anyai életkor előrehaladtával. Kiolvasható a 11.3. ábrából, hogy szinte exponenciálisan nő a triszómiás Down-kóros gyermek születésének kockázata, különösen a 35. événél idősebb szülő nők körében. Ez önmagában indikációja az ebben az életkorban fogant terhességekben a prenatális kromoszómavizsgálatnak.[3] (l.

[3] A 35. életév természetesen nem merev határt jelent. Két szempont alapján tartják megfontolandónak az e feletti anyai életkorban a kromoszómavizsgálat felajánlásának kötelezettségét az orvos számára (amit természetesen az érintett házaspár elfogadhat vagy visszautasíthat). (1) Mint minden invazív beavatkozásnak, az amniocentesisnek vagy a CVS-nek (l. részletesebben a 22. fejezetben) is van kockázata, ami ebben az esetben elsősorban a következményes vetélésben nyilvánul meg. Az orvosnak mérlegelnie kell, minek nagyobb a veszélye: a Down-kóros gyermek szü-

22. fejezet). A jelenség magyarázatára általában azt hozzák fel, hogy mivel a petefészekben a meiózis I. még az embrionális korban elkezdődik, de – ismeretesen – csak az aktuális tüszőérésben fejeződik be (sőt, a második osztódás tulajdonképpen csak a megtermékenyítés kapcsán), és minél hosszabb ideig van egy sejt a meiózis I. profázisában, annál több károsító hatás érheti, ami végülis osztódási hibához vezet.[4]

Napjainkban a Down-kór előfordulási gyakoriságának csökkenése észlelhető. Ebben szerepe van a születés előtti vizsgálattal kiszűrt és orvosi indokból elvégzett terhesség megszakítással befejezett eseteknek csakúgy, mint a csökkenő gyermekszámnak (az egy- és kétgyermekes családokban az apróságok általában az anya fiatalabb korában jönnek a világra).[5]

Nem mutatható ki hasonló összefüggés a mozaik 21-triszómiák esetén, amelyek az összes Down-kóros eset mintegy 1%-áért felelősek. Ezekre a tünetek nagyfokú variabilitása jellemző (nyilvánvalóan annak függvényében, hogy milyen szerveket és mekkora részaránnyal népesítenek be a hiperdiploid sejtek). Leírtak már kifejezetten mongoloid külső jegyek mellett is szinte ép intellektust stb. A lehetőségeket, mint ahogy – értelem-

---

letésének vagy a beavatkozás miatt fellépő vetélésnek (ami – statisztikailag – az esetek többségében egészséges magzatot érint)? Úgy tűnik, az előbbi kockázata a 35 éves anyai kor tájékán haladja meg az utóbbiét. (2) Mint minden laboratóriumi vizsgálat, úgy a prenatális kromoszóma-analízis is meglehetősen drága. A költség-haszon viszony elemzése – bármennyire sajnálatos is ez – az egészségügyi ellátásban is megszorító elvként jelenik meg.

Valamelyes támpontot nyújt a vizsgálat javallatának felállításához az a megfigyelés, hogy az anyai vérszérumban az alfa-foetoprotein szint az átlagosnál alacsonyabb szokott lenni Down szindrómás magzat hordása esetén, másrészt a nem invazív jellegű ultrahang-vizsgálat a terhesség meglehetősen korai szakában szolgáltat gyanújeleket, amelyek 21-triszómiára utalhatnak. Mindezek egybevetése az anyai életkorral megalapozottabbá, célirányosabbá teheti az amniocentesis, ill. CVS indokoltságának megítélését, ide értve a 35. életév alatti korosztály racionális bevonását is a vizsgálatokba.

[4] Ésszerűnek tűnő meggondolás, de amióta a kromoszómák individuálisan azonosíthatóakká váltak, tudjuk, hogy a számfeletti 21-es mintegy 20%-ban apai eredetű. Más, újabb statisztikai adatok egyértelműen bizonyítják, hogy a magasabb apai kor is kockázatot növelő tényező. Így manapság sokan a gonádokban jelentkező mikrocirkulációs zavarok következtében fellépő hipoxiára vezetik vissza az oszlási hibát. (Csak zárójelben emlékeztetünk arra, hogy a 20. életév alatti anyai életkorban is valamivel magasabb a 21-triszómia kockázata, tehát alkalmasint több oki tényező is szóba jöhet.)

[5] Nem lehetetlen azonban ez utóbbi tendencia olyan értelmű megfordulása, hogy növekedni látszik azon nők száma, akik először a foglalkozási karrierjük megteremtésével vannak elfoglalva, s csak ennek megnyugtató rendezése után, így általában igencsak jóval a 35. évük után vállalkoznak terhességre. A prenatális vizsgálat lehetősége mellett egyre jobban terjed az ilyenek körében a fiatal korban elvégzett IVF-ből (l. 8. és 22. fejezet) származó előembrió lefagyasztásának és hosszabb idejű, folyékony N_2-ben tárolásának igénye majdani beültetésre, vagy – még meg nem talált partner esetén – indukált többszörös tüszőrepedésből származó petesejtjeik későbbi megtermékenyítésre való elraktározása. Ne feledjük: az életkor előrehaladtával nemcsak a 21-triszómia, hanem az egyéb kromoszóma-rendellenességek előfordulásának kockázata is nő, valamint több mutagén hatás is éri a szervezetet.

szerűen – a kórkép számos klinikai és társadalmi vonatkozását, e helyen nem részletezhetjük. Szemléletileg fontos azonban annak elfogadása, hogy az „általános", az „átlagos" mellett mindig megjelenhet a „különleges", az „elütő" forma, és az orvosnak a ritkaságokra is mindig nyitottnak kell lennie.

A Down-kór a legismertebb autoszomális kromoszóma-rendellenesség. Modern gondozási és orvosi ellenőrzési, kezelési gyakorlat mellett az érintettek várható élettartama majdnem eléri az egészségesekét. Az egyre hatékonyabbá váló mentális fejlesztési programok is javítják a prognózist.[6] Vessük össze ezt a tényt a 11.1. táblázatban leírt adatokkal: 100 000 válogatatlan terhességből 350 spontán vetélés esetén diagnosztizáltak 21-es triszómiát, és 113 Down szindrómás gyermek született élve. Ez azt jelenti, hogy igen erőteljes prenatális szelekció működik az e rendellenességet hordozók ellen, mintegy 3/4-ük *in utero* elpusztul. Így azt kell megállapítanunk, hogy a 21-es triszómiának mint a legkisebb kromoszóma – ami az emberi genom DNS mennyiségének 1,5%-nál nem nagyobb hányadát tartalmazza – feleslegének az élettel való összeegyeztethetősége is igencsak viszonylagos. Tekintettel arra, hogy nem gén-hiányról, hanem többletről van szó, mind a fokozott embrionális veszteség, mind pedig az élőben megnyilvánuló tünetek hátterében általánosságban működési, szabályozási zavarokat, vagy konkrétabban bizonyos fehérjék túlprodukcióját kell feltételeznünk. Az már ismert, hogy nem az egész 21-es kromoszóma többlete szükséges a Down-kór jellegzetes tünetei létrehozásához, hanem csak a hosszú kar egy részlete (a 21q22.1–21q22.3 régió).[7]

Két másik autoszomális triszómia tiszta formájáról tudjuk úgy, hogy az élve megszületés lehetőségével jár, de hosszabb távon az élettel összeegyeztethetetlen (l. 11.1. táblázat). Ezek közül tanulságosabb számunkra a 47,XX,+13 vagy 47,XY,+13 (11.4. ábra).

Patau szindróma[8]**, a *13-triszómia,*** amelynek tünetei között jellemzően előfordul a *hexadaktylia* (hatujjúság) és a farkastorokkal együttjáró nyúlajak. Ezeken kívül súlyos testi és szellemi visszamaradottsággal és számos egyéb fejlődési rendellenességgel sújtottak az ebben szenvedő csecsemők, átlagos túlélésük mindössze 3 hónap. Ami az említett két tünet kiemelését indokolja: a polidaktília ismert mint önálló autoszomális domináns öröklődésű rendellenesség, a nyúlajak (farkastorokkal vagy anélkül) pedig mul-

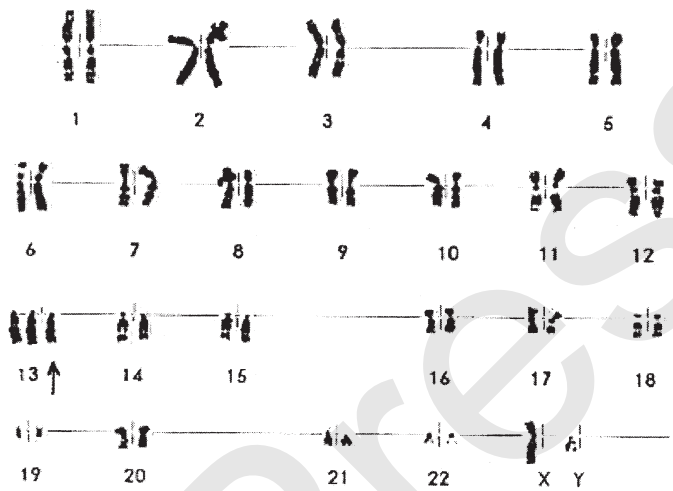
---

[6] Vannak adatok arra, hogy az egy éves Down-kóros gyermekek IQ pontértéke még elérheti a 75-öt is, és csak fokozatosan csökken ez az érték IQ ≅ 30-ra.

[7] Hasonlóságot vélnek felfedezni az Alzheimer-kórban talált szellemi leépülés és a Down szindrómások értelmi fogyatékossága molekuláris mechanizmusában, a beta-amyloid protein egyik prekurzora túlprodukciójának formájában. Ennek génje a jelzett területen van, és családi halmozódású Alzheimer-kórban kimutatták a gén duplikációját. Más gének hatását is vizsgálják, e jegyzet írásának pillanatában korai lenne még általánosan elfogadható magyarázat adásával próbálkozni.

[8] Az első leíró neve eredeti helyesírással Pätau, azonban az Amerikai Egyesült Államokba kivándorolt német orvos nevéből eltűnt az umlaut.

tifaktoriális (poligénes) eredetű formában. Születéskor így ezek élesen elkülönítendők, hogy a Patau szindroma részeként vagy különálló entitásként jelennek-e meg egy újszülöttben. (Az utóbbi esetben a korrekciós műtét megoldja a problémát, a 13-as kromoszóma triszómiája viszont letális.)

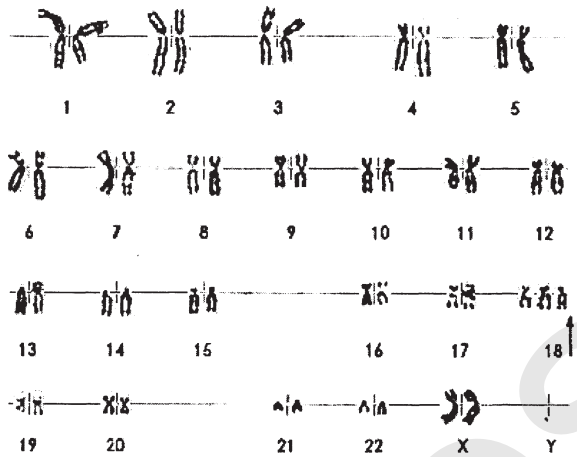


11.4. ábra. *13-as triszómia Patau szindrómás fiú kariogramja. Kariotípus: 47,XY,+13.*

Edwards szindróma néven ismert a ***18-triszómia***. Kariotípusa: 47,XX,+18 (11.5. ábra) vagy 47,XY,+18. Sokszoros fejlődési rendellenességgel, valamint testi és szellemi viszszamaradottsággal járó tünetegyüttes. Az ilyen gyermekek 90%-a meghal egy éves kora előtt (és a többieknek sincs hosszú túlélési esélyük).

E két utóbb említett rendellenességre is igaz: az ilyen indíttatású zigóták többsége *in utero* elpusztul, és csak kisebb hányaduk születik meg élve (11.1. táblázat). Arra a kérdésre, hogy a 13-as, ill. 18-as kromoszómánál jóval kisebb 22-es (vagy 20-as, 19-es) triszómiája miért 100%-ban letális, ma még nem ismerjük a választ. (A 11.1. táblázat 3167 „egyéb" jelzésű triszómiája a spontán vetélések között bármelyik kromoszómára utalhat a 13., 18. és 21. kivételével.)

DUPress



11.5. ábra. *18-as triszómia.* Edwards szindrómás leány kariogramja. Kariotípus: 47,XX,+18.

NEMI KROMOSZÓMÁK SZÁMBELI RENDELLENESSÉGEI

A szexkromoszómák triszómiáit (47,XXX, 47,XXY és 47,XYY) az élettel relatíve jól összeférhetőeknek mutatják a 11.1. táblázat adatai. Klinikai tapasztalatok alapján ugyanezt gondolnánk az X monoszómiáról is, ám ezt már igen határozottan megkérdőjelezi, hogy spontán abortumokban 1350 45,X kariotípust találtak, míg élő újszülöttek között csak 8 ilyen fordult elő az említett százezres felmérésben (11.1. táblázat). Érdekes módon, szemben ezzel a kiugróan magas vetélési aránnyal, a Turner szindrómások életkilátásai jók (l. alább).

Számfeletti Y jelenléte gyakorlatilag semmiféle fenotípusos elváltozást sem okoz. Ez megérthető azáltal, hogy ezen a kromoszómán nagyon kevés gén helyezkedik el (vö. 10. fejezet, valamint 10.17. ábra). Az X-többlet is lehet praktikusan tünetmentes (47,XXX esetben), ami magyarázható – a Lyon hipotézis szerint – a számfeletti X kromoszóma inaktiválódásával. Ugyanakkor mind a 47,XXY (Klinefelter szindróma), mind a 45,X (Turner szindróma) súlyos fejlődési rendellenességgel, nevezetesen: sterilitással jár. Ebből arra következtethetünk, hogy egyrészt vagy nem teljes a második X-en lévő gének expressziójának gátlása, vagy ezek még azelőtt ki tudják fejteni a hím irányú differenciálódás megzavarását, mielőtt a második X Barr-testté alakulna. Másrészt a két X □ hasonló megfontolásokkal – mindenképpen szükséges a teljesértékű női fejlődéshez (l. még 8. fejezet).

Klinefelter szindróma. Kariotípusa általában 47,XXY (11.6. ábra), de ismert 48,XXXY, 48,XXYY, 49,XXXXY és 49,XXXYY kromoszómális képlettel, valamint mozaik formákban is. A számfeletti X inaktiválódik, Barr-testet képez, ezért szokták ezeket a személyeket „kromatin pozitív férfi"-ként is említeni. Ebből a megfogalmazásból következik, hogy a fenotípus alapvetően férfias. A rendellenesség lényege a herék kicsinysége (kb. 1/3-a az átlagosnak) és szöveti elfajulása (a *tubuli seminiferi* és a Leydig sejtek helyét kötőszövetes állomány foglalja el), aminek eredményeképpen sem spermiogenezis, sem tesztoszteron szintézis nincs. Az utóbbiból következnek a fenotípusban észlelhető nőies jegyek (*eunuchoid* jelleg, *gynekomastia*, hiányzó vagy gyenge szakáll- és testszőrzet, nőies fanszőrzet), valamint az agyalapi mirigy fokozott gonadotrop hormon termelése (a negatív visszacsatolási mechanizmus kiesése miatt). A spermiumok termelésének hiánya sterilitással jár, de az erekció és közösülési képesség – különösen fiatal korban – nem szenved zavart. Általában magasabbak (5-10 cm-nyivel) az ilyen személyek mint az arra a népességre jellemző érték. Intellektusuk lehet átlagos, vagy enyhén csökkent értelmi képességgel járhat a kórkép. Ha két vagy három a számfeletti X kromoszóma, ez mindig kifejezett mentális retardációval jár. Gyakori a pszichés instabilitás.

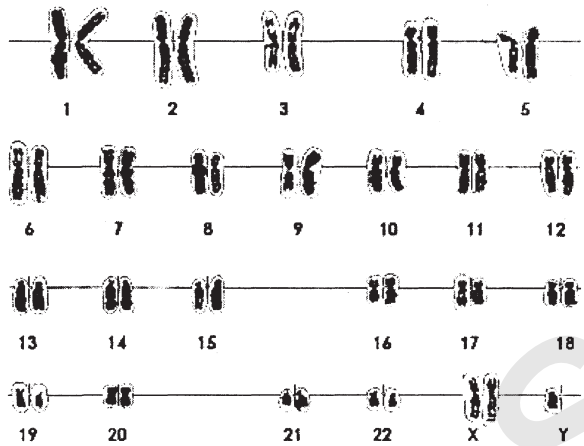
A rendellenesség gyakorisága népességenként változhat, nagyjából 1/2000 körüli érték. Ha nem is annyira feltűnő az összefüggés az aneuploidia kialakulása és a születéskori anyai életkor között, vannak olyan adatok, amelyek egyértelműen bizonyítják, hogy 30 év felett már nagyobb a veszélye Klinefelter szindrómás fiú születésének.[9]

Külön kell szólnunk a mozaicizmus orvosi jelentőségéről a Klinefelter szindróma kapcsán. Előfordulhat, hogy 46,XY/47,XXY állapotban történetesen a here euploid sejtekből fejlődött, van spermiogenezis – bizonyos mértékben legalábbis –, ugyanakkor számos testi jelleg az aneuploid állapotnak felel meg. Az orvosi kivizsgálást nem mindig és feltétlenül sterilitási panaszok indokolják, megfontolandó tehát, hogy az érintett személy mikor és milyen felvilágosítást kaphat.

Ha időben felfedezik a kromoszóma-rendellenességet, tesztoszteron adagolásával az eunuchoid jellegek kialakulása megelőzhető (a hang és az izomzat férfiasabb, az intellektuális teljesítmény jobb lehet), ha a terméketlenség nem is.

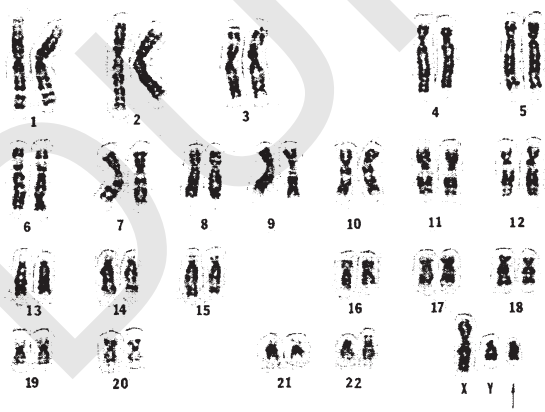
---

[9] Modern kromoszómavizsgálati eljárásokkal igazolható volt, hogy a nondiszjunkció az esetek mintegy 2/3-ában anyai, 1/3-ban apai. (Az utóbbi esetben egy 24,XY spermium termékenyít meg 23,X petesejtet.) Ez nem mond ellent az anyai életkor előrehaladásával növekvő kockázatnak, mivel a férj általában idősebb a feleségnél. Ugyanakkor talán helyesebb inkább szülői életkort, mintsem csak anyait említeni.



11.6. ábra. *Klinefelter szindrómás férfi kariogramja.* Kariotípus: 47,XXY.

46,XX kariotípusú férfiak. Úgyszintén a Klinefelter tünetcsoportot mutatják. Kialakulásuk magyarázatát ma abban vélik megtalálni, hogy az X és Y kromoszómán meglevő pszeudoautoszomális régiótól proximálisan lejátszódó illegitim rekombináció (l. 10.17. ábra) révén a hím irányú elkötelezettségért alapvetően felelős *SRY* átkerülhet az X-re, és így megnyilvánul a fenotípusban Y hiányában is (l. még 8. fejezet).



11.7. ábra. *47,XYY kariotípus.*

47,XYY kariotípus (11.7. ábra). Tudománytörténeti érdekességű állapot, amit egy időben emlegettek „47,XYY szindróma"-ként csakúgy mint „szuper férfi"-ként. Jóllehet az első leírás véletlenszerű felfedezésen alapszik (egy Down-kóros gyermek apjában), nagyobb számban

DUPress

47,XYY kariotípusú férfiakat egy skót börtönben találtak az átlagosnál magasabbak és valamilyen erőszakos jellegű bűn elkövetői között. További hasonló vizsgálatok hibás statisztikai értékelése vezetett ezek után ahhoz az állításhoz, hogy a második Y az átlagosnál nagyobb magasságot és agresszívebb természtet, enyhébb fokú, a kritikai érzéket csökkentő értelmi korlátozottságot eredményez a fenotípusban, ezért bűnözésre hajlamosít. Gondos utánvizsgálatokkal kiderült, hogy ezek a következtetések, ebben a formában, nem állják meg a helyüket, még akkor sem, ha a börtönbe jutott férfiak között valóban nagyobb a gyakoriságuk mint egy válogatatlan újszülött népességben, és a 47,XYY kariotípusúak nem stigmatizálhatók leendő bűnözőkként (mint ahogy nem is menthetők fel tényleges bűnelkövetés esetén olyan személyként, akinek a kromoszómális rendellenessége okozza devianciáját, s mint ilyen, ezért felelősségre nem vonható).

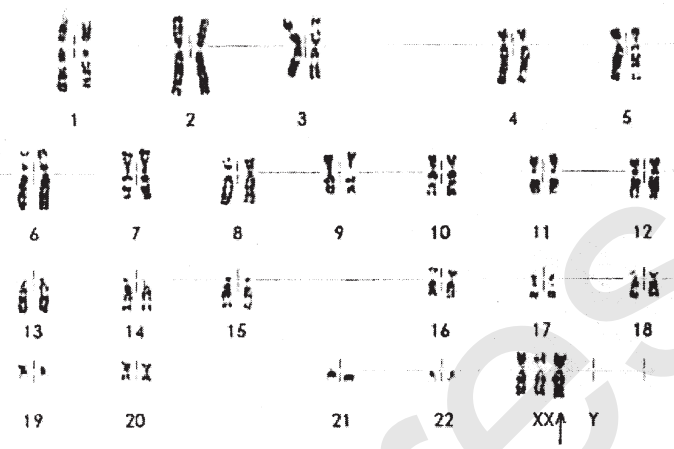
A 47,XYY kariotípus fertilitási problémát nem okoz, az utódok prenatális kromoszómavizsgálata viszont indokolt, mert azok Klinefelter szindrómásak (47,XXY) lehetnek.

47,XXX kariotípus (11.8. ábra). Régebben említették ezt „triplo X szindróma" néven, utóbb azonban kiderült, hogy semmilyen jellegzetes tünet nem jár együtt a számfeletti X-szel (minden bizonnyal annak inaktiválódása miatt, amikor is a sejtmagokban két Barr-test látható). Így legfeljebb ***triplo X állapot***ként definiálhatjuk. Bár írtak le ilyen esetekben enyhe értelmi visszamaradást vagy pszichés labilitást, esetleg menstruációs zavarokat, általánosságban elmondható, hogy érdemben semmilyen kóros tünettel sem jár a 47,XXX kariotípus, fertilitási zavarokkal sem. Az ilyen egyének utódai között lényegesen kevesebb a Klinefelter szindrómás, mint az statisztikailag várható lenne (24,XX petesejt megtermékenyítése 23,Y spermium által), ennek ellenére a prenatális genetikai vizsgálat ajánlható.

Szemben a triplo X állapottal, az ***X kromoszóma tetraszómiája*** (48,XXXX, három Barr-test a sejtmagokban) mindig súlyos fokú értelmi visszamaradással (és néhány egyéb fejlődési rendellenességgel) jár. Fokozottan igaz ez az ***X kromoszóma pentaszómiájá***ban (49,XXXXX, 4 Barr-test) szenvedőkre.

Turner szindróma. 45,X kariotípus (11.9. ábra), „kromatin negatív nő". Helytelen – ami egyébként gyakori – az „egyik X hiányá"-ról beszélni, jóllehet a nőies jellegű fenotípus ezt magyarázhatja, mert ugyanolyan joggal említhetnénk az Y hiányát is (ami a női irányú differenciálódás automatizmusának érvényesülését eredményezi). Régen úgy vélték, hogy az X kromoszóma monoszómiája jól összeegyeztethető az élettel, mára tudjuk, hogy ez hamis ítélet. Való igaz, az élveszületett 45,X kariotípusú egyének életkilátásai jók, ugyanakkor a spontán vetélésekben kiemelkedően nagy arányban szerepelnek az X monoszómiás embriók. (Vö. az 11.1. táblázat adataival: a 45,X konceptumoknak csak kb. 0,5%-a születik meg! Más statisztikák is nagyjából hasonló adatokat közölnek.)

Ennek megfelelően a születéskori gyakoriság jóval alacsonyabb a Klinefelter szindrómásokénál, populáció-függően 1/2500 – 1/10 000.



11.8. ábra. *Az X kromoszóma triszómiája.* 47,XXX kariotípus.

A Turner szindrómára a szexuális infantilizmus és a sterilitás jellemző. Az előbbin a pubertás elmaradását, a másodlagos nemi jellegek kifejlődésének hiányát értjük. A *primer amenorrhoea* oka a petefészkek hiánya, helyükön ún. „csíkgonád" található, ami kötőszövetes jellegű, benne tüszők nincsenek, szükségképpen petesejtérés és hormontermelés sem. Ezek magyarázzák a sterilitást és nemi fejlődés hiányát. Mindezekhez a belső nemi-szervek fejletlensége, alacsony testmagasság is társul. Nagyon ritkán írtak le enyhe értelmi fogyatékosságot, sokszor a pszihés fejlődés zavarát, ami az előadottakból megérthető. Az agyalapi mirigy gonadotrop hormontermelése emelkedett. Néhány jellegzetes testi tünet is társul a felsoroltakhoz (*cubitus valgus* – előrefordított tenyér mellett az alkar elál a testtől, *pterygium colli* – a tarkóról a vállra húzódó köteg, ponty-száj, stb.), valamint meglehetős ellentétet képez a gyermekded alkat és a – már igen fiatalon – öregnek mutatkozó arc.

Nagyon fontos annak ismerete, hogy a Turner szindróma bizonyos jelei már az újszülöttön felismerhetők. Ide tartozik mindenekelőtt a lábháti (és kevésbé kifejezetten a kézháti) *lymphoedema*. Ugyanez megfigyelhető a tarkótájon is (ennek felszívódásából származik a későbbi korban látható pterygium colli). Azért van ennek különös orvosi jelentősége, mert bár korrigálhatatlan állapotról van szó, de (*1*) nem mindegy, hogy a pszichoszomatikus nem kialakulásában milyen környezeti hatások érik a fejlődő gyerme-

ket, (*2*) megfelelő és időben megkezdett hormonális kezeléssel a másodlagos nemi jellegek és a belső nemiszervek bizonyos fokú kifejlődése biztosítható, ami megelőzheti a pszichés tünetek legalább egy részének megjelenését. (Ma már arra is gondolhatunk, hogy IVF-ből származó embriókezdemény beültetésével esetleg a kívánt gyermekáldás is biztosítható lehet egy Turner szindrómás nő számára.)

11.9. ábra. *Turner szindrómás nő kariogramja.* Kariotípus: 45,X. Szokták ezt 45,X0 formában is írni, hangsúlyozandó az egyik nemi kromoszóma hiányát, de ez az írásmód nem vált általánossá.

KIMÉRIZMUS

A fentiekben már láttunk példát arra, hogy egy egyedben eltérő kariotípusú sejtek lehetnek jelen egyidejűleg, és ezt mint mozaicizmust tárgyaltuk, aminek eredete az egyetlen zigótából származó sejtek valamelyikében mitótikus nondiszjunkció (esetleg kromoszómakésés).

Hasonló állapotot jelent, de elvileg különbözik a kimérizmus. Ebben is különböző geno- ill. kariotípusú sejtek lelhetők fel egyetlen egyedben, de ezek két különböző zigótából származnak (és egyik sejtvonalnak sem kell aneuploidnak lennie).

Kiméra kialakulásához vezethet pl. a kétpetéjű ikrek közötti *főto-főtális transzfúzió*, aminek lehetőségét a közös méhlepény teremti meg. Ezen keresztül vérképző ősejtek kerülhetnek át az ikertestvérbe (egy- vagy kétirányúan), és ott megtelepedve saját klónt hoznak létre. Ennek eredménye lehet génszintű kimérizmus, pl. egy egyénben

PUPress

eltérő AB0 fenotípusú vörösvérsejtek jelenléte, de leány-fiú pár esetén 46,XX/46,XY kiméra kariotípus is előfordulhat a csontvelői és onnan származó sejtekben.

Lehetségesnek kell azonban tartanunk két zigóta összeolvadását is. Ilyen esetben kettős megtermékenyítés eredménye a kiméra: két petesejtet, vagy ami sokkal valószínűbb: egy petesejtet és egy polocitát termékenyít meg két különböző spermium. Ez utóbbi elvileg nem életképes, de maradhat olyan szoros kapcsolatban a valódi zigótával és az abból származó sejtekkel, hogy az egyed végülis a két megtermékenyített sejtből egyesült embriókezdeményből fejlődik ki. Ez génszintű különbséget minden esetben jelent, feltűnő következménye általában viszont csak a 46,XX/46,XY kariotípusú kiméra kialakulása esetén észlelhető: a nemi fejlődés zavaraiban, különféle hermafroditákban írtak le ilyen kariotípust.

Uniparentális diszómia és kromoszómális imprinting

Az uniparentális diszómia (UPD) felismerését a modern molekuláris citogenetikai eljárások hozták magukkal, amelyek által lehetővé vált egy-egy homológ kromoszómapár tagjai anyai (maternális, rövidítve: mat), ill. apai (paternális, pat) eredetének azonosítása. Ebben a rendellenességben a kromoszóma garnitúra diploid (2n), de valamelyik pár mindkét példánya csak az egyik szülőtől származik. ***Uniparentalis izodiszómia*** esetén elvben két azonos példányról van szó, azaz az ezt hordozó egyén ezen kromoszóma minden lokuszára nézve homozigóta (eltekintve a *crossing over* által esetleg létrehozott rekombinációs változatosságtól), ***uniparentális heterodiszómiá***ban egy – azaz csakis az egyik – szülő homológ kromoszómapárját kapta a gyermek. A rendellenesség eredete leggyakrabban az anyai első meiotikus osztódásban lelhető fel, ennek megfelelően az UPD az esetek túlnyomó többségében maternális. A kialakulásról azt tartják, hogy diszómiás (n+1) petesejt termékenyül meg, ennek megfelelően 2n+1 (triszómiás) zigóta keletkezik, és ebből elvész az egyik számfeletti kromoszóma.[10] Az esetek 2/3-ában ez a diszómiás szülői kromoszóma pár egyike, és ilyenkor az ivarsejtben volt rendellenességet már nem észlelhetjük. A maradék 1/3-ban viszont a monoszómiás ivarsejtből kapott példány vész el, s előáll az UPD képe. (A paternalis UPD kialakulásának magyarázatára posztzigótikus eseményeket tételeznek fel.)

---

[10] Egymás mellett fennmaradhat a 2n+1 és a 2n sejtvonal: mozaikosság. Ez érinthet különböző szöveteket, de előfordul, hogy csak a placentában észlelhető.

Előfordul, hogy a rendellenesség csak a magzatfüggelékekben jelentkezik: „placentára korlátozott mozaikosság". (Megfigyelték ezt a jelenséget egyes aneuploidiák esetében is.) Ez chorion boholy mintavétellel (CVS) végzett kromoszómavizsgálatnál jelenthet diagnosztikus nehézséget, hibalehetőséget. (A trophoblast rendellenesség felismerését követően az esetek mintegy 1/3-ában bizonyult utóbb a magzat is UPD-snek.)

Az UPD-t legelőször egy cisztás fibrózisban (autoszomális recesszív állapot, l. 5. fejezet) szenvedő gyermekben ismerték fel, akinek apja nem, hanem csak az anyja volt heterozigóta génhordozó. A *CFTR* gén lokalizációjának megfelelően az állapot UPD7mat. Eddig összesen 11 autoszómával kapcsolatban írtak le olyan homozigóta recesszív állapotot, ami izodiszómián alapult. Heterodiszómiás esetekre vonatkozóan viszont az adódott, hogy rekombináció révén került a recesszív allél két példánya az UPD-t mutató utódba, a két anyai eredetű homológnak csak egy szakasza volt azonos egymással.

Különleges jelentőségre tehet szert az UPD egyes olyan kórformák kialakulásában, amelyekben genomikus imprinting[11] is szerepet játszik (molekuláris részleteket illetően l. 16. fejezet) Nagy általánosságban: a ***genomikus*** (vagy ***kromoszómális***) ***imprinting*** következménye valamilyen kromatin-területben a génkifejeződés tartós (szomatikus sejtgenerációk hosszú során át megőrzött) represszió-ja. (Ilyen pl. az X-inaktiváció, a Barr-test kialakulása. Nagyon ritkán előfordulhat ennek az ellenkezője, a tartós és egyoldalú aktiválódás is.) Mindennek eredményeként előáll az a jelenség, hogy vannak olyan gének, amelyeknek csak az apai, vagy csak az anyai példánya fejeződik ki az emberben, és ez független ezen allélek domináns vagy recesszív voltától (azaz az öröklésmenet eltér a mendelitől). Ha csak anyai vagy csak apai eredetű példány létezik egy egyedben az UPD miatt, ez a rendszer szabályozási zavarát idézheti elő (pl. nincs meg a kromoszómális lokalizáció szerint kifejezendő allél). Több olyan szindróma ismert (Beckwith-Wiedemann, Prader-Willi és az Angelman, l. 16. fejezet), melyeknek létrejötte sokszor ezen az alapon magyarázható.

Ezek a példák felhívják a figyelmünket, hogy egy adott rendellenességnek különböző eredetű génikus okai lehetnek, és ha alkalomadtán ezek felderítése egy beteg szempontjából esetleg csakis akadémikus érdekességű, az érintett család számára a genetikai tanácsadáson sokszor rendkívül fontos lehet a legpontosabb molekuláris diagnózis felállítása.

---

[11] Imprinting (angol) = be- (le)nyom(ód)ás, be- (le)nyomat, bevés(őd)és. A magyar genetikai szaknyelvben nincs még rá megfelelő és általánosan elfogadott kifejezés. Magunk a ***genomi rögzítés***t használjuk (l. 16. fejezet).

Strukturális kromoszóma rendellenességek

Ezek szisztematikus és szélesebb körű áttekintésére a jelen jegyzet keretei szűknek bizonyulnának, így kísérletet sem tehetünk arra, hogy valamennyire is teljes képet állíthassunk az Olvasó elé. Néhány főbb típus és bizonyos rendszerező elvek bemutatásán nem léphetünk túl.

Ugyanúgy, ahogy a számbeli anomáliák, a strukturális kromoszóma aberrációk is lehetnek öröklöttek vagy *de novo* létrejöttek, meiotikus és mitótikus eredetűek. Ha egy érett ivarsejtben van jelen rendellenes kromoszóma – függetlenül attól, hogy valamelyik korábbi, mitotikusan szaporodott előalakban jelent-e meg az, vagy az éppen aktuális meiózisban keletkezett –, az ebből származó egyed minden egyes testi sejtjében megtalálható lesz ugyanez, és természetesen bekerülhet annak ivarsejtjeibe is. Az embrió vagy magzat valamelyik sejtjében létrejött rendellenes alak viszont csak e sejt utódaiban jelentkezik, azaz mozaikos formában detektálható. Ilyen esetekben – az ivarmirigyek vizsgálatra való nehezebb hozzáférhetősége miatt – alkalmasint kideríthetetlen marad, hogy a rendellenesség érinti-e az ivarsejteket, ill. preimplantációs genetikai vizsgálattal dönthető el, hogy egy adott zigótában előfordul-e vagy sem.

Számbeli rendellenességben egy kromoszóma teljes génállománya fe-leslegben jelenik meg a genotípusban, ill. – kivételképpen – hiányozhat. Szerkezeti aberrációk esetén a genomnak csak egy kis hányada hiányzik vagy van meg fölös mennyiségben, de az is lehet, hogy sem hiány, sem többlet nem mutatható ki, hanem a gének átrendeződése vezet különböző elváltozásokhoz vagy – akár fatális – kóros következményekhez.

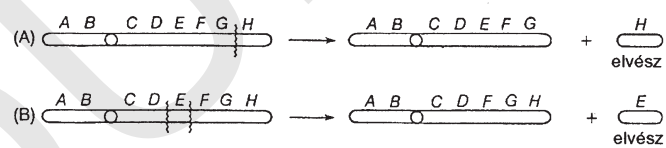
Mindezek vizsgálata akkor vált először objektíven lehetségessé, amikor az 1970-es évek elején elterjedtek a különböző sávtechnikák. Durvább szerkezeti anomáliák megfoghatók voltak már a 60-as évek egyszerű festési és mérési (összehasonlítási) eljárásaival is, de a strukturális aberrációknak az a sajnálatos „gazdagsága", amit ma ismerünk, a sávtechnikák alkalmazásának köszönhető. Nem szabad elfeledkeznünk arról, hogy egy ma általános megközelítési módon kimutatható, fénymikroszkóppal láthatóvá tehető kromoszóma sávban legalább 50 gén lehet. Egy ekkora terület hiánya vagy éppen megduplázódása tehát sok lokuszt érint. Nem véletlen ennek megfelelően, hogy a szerkezeti rendellenességek tünettana szinte kimeríthetetlen bőségű. A napjainkig részletesebben és klinikumában is leírt szerkezeti kromoszóma-rendellenességek száma meghaladja a 2000-et, ezek között alig 100 van, ami szindrómaként azonosítható, a többi rendkívül heterogén csoportot képez, általában a fejlődési rendellenességek közé besorolható körben. Megfordítva: mindenféle *dysmorphia* esetén feltétlenül kell gondolni a kromoszómarendellenesség lehetőségére. Mindezekkel részletesen a klinikai genetika foglalkozik.

A ma standardnak tekinthető módszerekkel összességében mintegy 550 kromoszóma sáv azonosítható a genomban. Az eljárások finomításával ez kb. 2000-es nagyságrendig emelhető. További bővülést ígérnek a felismerhető rendellenességek azonosításában a legmodernebb molekuláris technikák, mint amilyen a ***FISH***, az *in situ* ***PCR*** és a ***CGH*** (l. 10. és 18. fejezet).

A szerkezeti rendellenességek létrejöttének magyarázataként régen a „törés és újraegyesülés" mechanizmusát fogadták el. Ma ez már kissé egyszerűsített modellt jelent, ha az eseményeket és azok eredményét a DNS molekula szintjén akarjuk meghatározni. Itt és most mégis érjük be annyival, hogy jóllehet ismert a meiótikus vagy mitótikus DNS kölcsönhatások révén kialakuló rendellenesség, amelyben nem pontosan azonos szakaszok és alkalmasint nem egymással cserélnek helyet, a genom kromoszómális szintű átrendeződésében jelentős szerepet tulajdonítunk a mobilis genetikai elemeknek is (amelyekből és amelyek maradványaiból meglepően sok van az emberi génállományban), és így tovább, az egyes aberráció-típusokat mégis legcélszerűbb a „törés–újraegyesülés" modelljével bemutatni. Úgy is értelmezhető a mechanizmus, hogy bármilyen DNS sérülés automatikusan indukálja annak kijavítását (l. 13. fejezet), és ha két törés következett be (egymáshoz fizikailag igen közel), a helytelen párosításnak deléció, transzlokáció, inverzió, stb. lehet az eredménye.

Elvileg bárhol kialakulhat törés (és újraegyesülés) a genomban, és ez a gyakorlatban is igazolódik, ám vannak ún. *forró pontok*, olyan kromoszómaterületek, ahol ezek bekövetkeztének nagyobb az esélye. Általában ezek szoktak szerepelni az ismétlődően és jellemzően előforduló átrendeződésekben.

Amióta tudjuk, hogy egy kromoszóma létének alapfeltétele – a centromerikus szakasz mellett – a karok telomerikus darabjának épsége, bizonyos rendellenességek létrejöttét kissé másképpen kell elképzelnünk mint régebben, de ez nem változtat a hagyományos terminológián, pl. a terminális deléció emlegetésén.

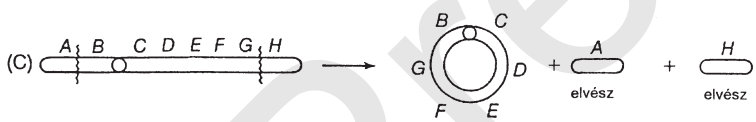


11.10. ábra. *Deléció.* Terminális (A) és intersticiális (B) deléció. (Az első forma autentikussága kérdéses, mert – amint a szövegben ezt tárgyaljuk – telomerikus szekvencia a DNS-ből nem veszhet el a kromoszóma további sorsát illető súlyos következmények nélkül.) Az acentrikus fragmentum elvész, a centromert hordozó darab megmarad mint delécios kromoszóma. A deléció egyéb lehetséges mechanizmusait l. még a 11.11. és 11.13. ábrán, valamint a szövegben, az inverziókról szóló szakaszban.

DUPress

DELÉCIÓK

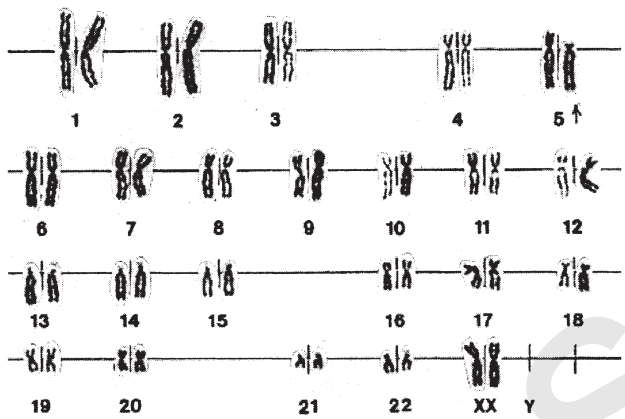
Egy (vagy több) kromoszómarészlet elvesztése (11.10. ábra). Lehet egyszeres és többszörös. Az elhelyezkedés szerint beszélünk ***terminális*** és ***intersticiális deléció***ról. Érdemben ebbe a körbe sorolandó a ***gyűrűkromoszóma*** is: a rövid és a hosszú kar vége egyaránt elvész és a terminális törvégek összeforrnak (11.11. ábra). Delécióval járhatnak az egyéb strukturális rendellenességek, bonyolultabb, kiegyensúlyozatlan átrendeződések is. (Pl. a transzlokáció folyamatában a résztvevő partnerek valamelyikének egy része eltűnhet. Duplikációk járhatnak együtt deléciókkal.) Az ún. „acentrikus fragment"-eknek nincs fennmaradási esélyük, legkésőbb a soron következő sejtosztódás során elvesznek. Akármelyik formáról legyen is szó, a lényeg minden esetben több-kevesebb gén elvesztése. Ez az adott lokuszok hemizigóta állapotát hozza létre, a homológ kromoszóma azonos szakaszán levő bármilyen allél kifejeződésének a lehetőségével. Elveszhetnek természetesen nem csak polipeptidek struktúrgénjei, hanem szabályozó szekvenciák is, amelyek hatása alkalomadtán nem csak a cisz-, hanem a transz helyzetű génekre is érvényesült.



11.11. ábra. *Gyűrűkromoszóma képződése.* Két terminális szakasz elvesztése után a keletkezett „ragadós„ végek összeforrnak. A gyűrűkromoszóma egyrészt génhiányos, másrészt zavart lehet párosodása normális szerkezetű homológ párjával a meiózis I-ben.

Nagyobb autoszomális kromoszómarészlet elvesztése – a tapasztalatok szerint – letális. (Végső soron ez részleges monoszómiaként is értelmezhető.) Az élettel összeegyeztethetőnek az eddigi megfigyelések szerint a nagyobb részletek közül a 4p, 5p, 9p, 11p, 11q, 13q, 18p, 18q, 21p és 21q elvesztése bizonyult, azaz többségében rövid kar deléciók, ill. kisebb kromoszómák hosszú karja (egy részének) elvesztése. Mindezek közül az 5p– ismert önálló és jól jellemzett kórkép entitásként?.

Cri du chat szindróma (macskanyávogás betegség). Kariotípus: 46,XX,5p– (11.12. ábra) vagy 46,XY,5p–. A név az ebben szenvedő újszülöttek kismacska nyávogására emlékeztető sírásából származik (amit gégefejlődési rendellenesség okoz). Ami ennél sokkal fontosabb és súlyosabb: kifejezett mentális retardációval, mikrokefáliával, egyéb fejlődési rendellenességekkel (és diagnózis felállításában jelentős ún. „holdvilág arc"-cal) jár a kórkép, meglehetősen rossz életkilátásokkal (bár manapság a gyermekkort már túlélik a páciensek).



11.12. ábra. *Cri du chat szindróma kariogramja.* Kariotípus 46,XX,5p-, sávtechnika segítségével pontosabban azonosítva: 46,XX,del(5)(p13).

A Prader-Willi szindróma (többszörös fejlődési rendellenességekkel) érdekessége, hogy leírták az apai 15-ös kormoszóma hosszú karja egy rövid szakasza (15q11.2-q12) deléciójának és UPD15qmat következményeként egyaránt. Az apai és csak az apai szegmens elvesztésének kóroki szerepe az érintett régió kromoszómális imprintingjével magyarázható. (Ugyanezen szakasz anyai példányának deléciója az Angelman szindrómában figyelhető meg.)

A daganatok génikus okait a 17. fejezetben tárgyaljuk részletesen. A rend kedvéért megemlítjük itt is: a daganatos elfajulás oka lehet intersticiális deléció, és ezáltal a tumor szuppresszor gén elvesztése (pl. retinoblasztómában).

DUPress

DUPLIKÁCIÓK[12]

Egy kromoszómarészlet megkettőződése (11.13. ábra). Lehet tandem: a „másodpéldány" szakasz közvetlenül követi az eredeti szekvenciát, de járhat áthelyeződéssel (átrendeződéssel) is. Értelemszerűen a kis duplikációk kevésbé súlyos fenotípusos következményekkel járnak, mint a velük összevethető nagyságú deléciók, de a nagyobb kiterjedésűek, amelyek részleges triszómiaként értékelhetők, súlyos fejlődési rendellenességeket okozhatnak. Mindez függ természetesen az érintett szakasz nagyságától, elhelyezkedésétől, és az oda lokalizált gének milyenségétől.

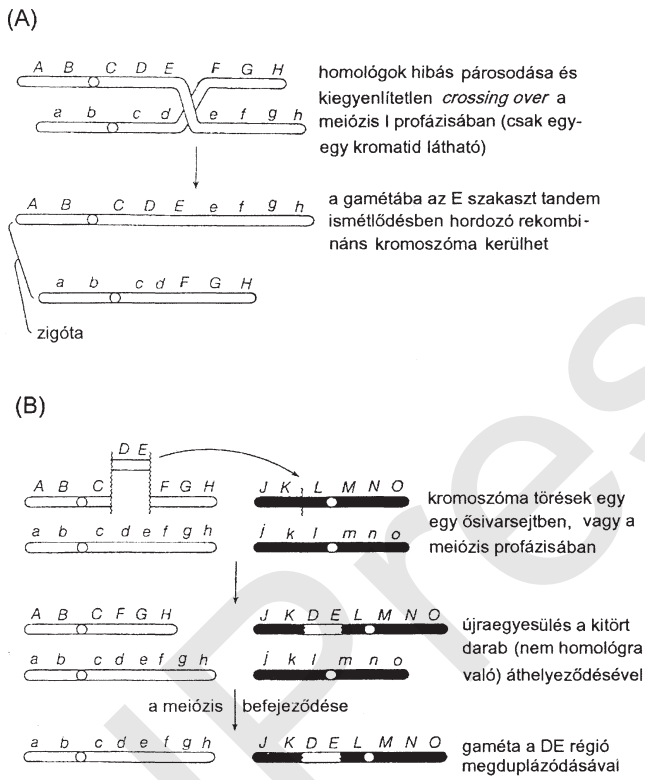
TRANSZLOKÁCIÓK

Lehetnek – elvileg – egyirányúak (nem reciprok forma): egy kromoszómarészlet áthelyeződése egy másik kromoszómára. ***Inszercióról*** beszélünk, ha egy kromoszómán létrejött törésbe egy másikból származó darab illeszkedik be és a törvégek összeforrnak. Gyakorlatilag általában ***reciprok transzlokációk*** fordulnak elő: (nem homológ) szakaszok kicserélődése következik be különböző kromoszómák között (11.14. ábra).

Kiegyensúlyozott transzlokáció esetén a génállományban nincs mennyiségi változás, csak az elhelyezkedésben észlelhető átrendeződés. Ennek megfelelően ez a rendellenesség lehet teljesen tünetmentes (l. alább), de bekövetkezhet olyan átszerveződés is, ami génszekvenciát szakít meg, vagy egy adott gént a számára fiziológiás szabályozási környezetből olyanba helyez át, ahol vagy nem funkcionál, vagy éppen ellenkezőleg: túlműködik (úgyszintén l. alább). Kiegyensúlyozott és tünetmentes transzlokáció-hordozók is átadhatják azonban a rendellenességet ***kiegyensúlyozatlan transzlokáció*** formájában, ami súlyos fenotípusos elváltozásokkal járhat (duplikáció, deléció vagy egyidejűleg mindkettő következtében).

---

[12] Bár tárgyalásunk humán citogenetikai célzatú, és ezen belül a kóros elváltozások okait mutatja be elsősorban, meg kell említenünk a duplikációk feltételezett szerepét a törzsfejlődésben. Lehetnek ezek természetesen génszintűek; már egyetlen gén megkettőződése is megteremti a feltételét annak, hogy a másodpéldányból egy új működést megvalósító fehérje genetikai kódja alakuljon ki, az eredeti funkció elvesztése nélkül. Ennél hosszabb, de kóros fenotípust még nem okozó darabok duplázódásának minden bizonnyal fontos (ha nem is egyedüli) szerepe volt a genom evolúcióban. Számos olyan emberi géncsaládot ismerünk a DNS nukleotidsorrend szintjén, melyek tagjainak duplikációs eredete erősen valószínűsíthető.

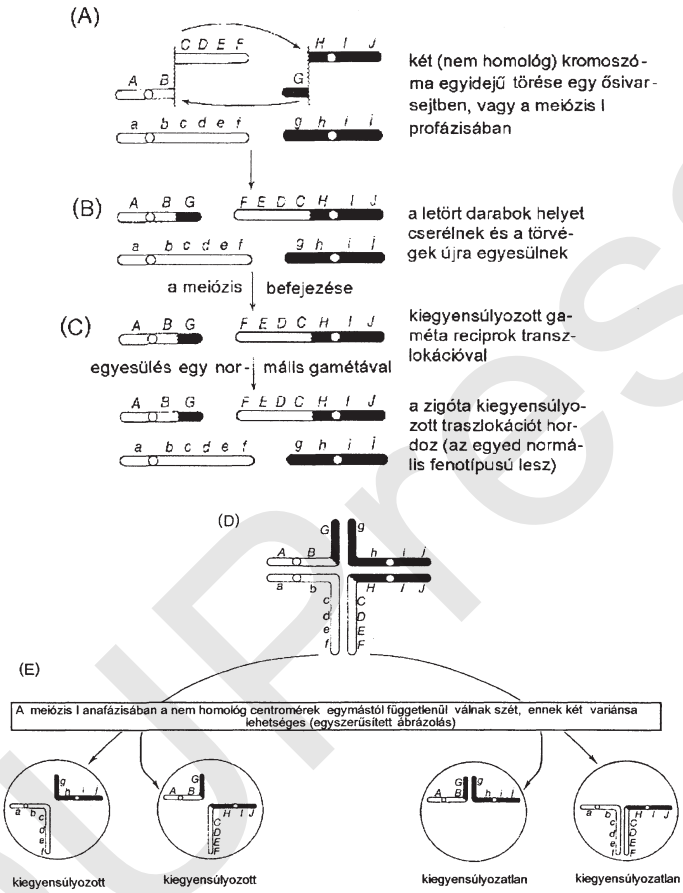


11.13. *ábra. Duplikáció.* Tandem duplikáció (és következményes deléció a homológ kromoszómán) inekvális crossing over következtében (A). Transzlokáció is eredményezhet duplikációt (és úgyszintén következményes deléciót is), ha az áthelyezett darabot hordozó kromoszóma és annak ép homológja kerül egy ivarsejtbe (B).

Fennáll annak a veszélye is, hogy jóllehet önmagában a kiegyensúlyozott transzlokáció észlelhető kóros fenotípust, fejlődési rendellenességet, stb. nem okoz hordozójának, de lehetetlenné teszi a meiózis normális lefolyását. Ebben az esetben előfordulhat, hogy részben vagy kizárólag csak kiegyensúlyozatlan kromoszóma-garnitúrájú ivarsejtek képződnek, mely utóbbiak inkább vezetnek korai vetéléshez, mintsem rendellenességgel sújtott utód születéséhez, vagy egyáltalán nem is jön létre terhesség (a zigóta életképtelen a

DUPress

kromoszóma rendellenesség miatt), és a kiegyensúlyozott hordozónak meddőségi panaszai vannak.



11.14. ábra. *Nem reciprok transzlokáció és következményei.* Egy kromoszóma hosszú karjának terminális vége és egy másik rövid karjának disztális szakasza kicserélődik (A). Az átrendeződés után génállomány-változás nincs (B). A meiózis úgy is végbemehet, hogy annak eredménye a transzlokáció kiegyensúlyozott formában való továbbadása (C).

Mivel a meiózis I. profázisban mindig a homológ szakaszok párosodnak, a transzlokáció különleges (kereszt alakú) meiótikus figurákat hoz létre (D). Ezek szétválásának különböző lehetőségei vannak, kiegyensúlyozott és kiegyensúlyozatlan kromoszóma-összetételű ivarsejtek egyaránt létrejöhetnek (E).

DuPross

Különleges formája a ***reciprok transzlokáció***knak a ***Robertson-féle transzlokáció***, vagy más nevén centrikus fúzió. Ez két akrocentrikus kromoszóma centromerikus régiója között lejátszódott átrendeződés (11.16. ábra) következménye, úgy, hogy az egyik partner rövid karja helyére a másik hosszú karja lép. (Leírták egy és két centromert tartalmazó formáját is.) Legismertebb következménye a ***transzlokációs Down szindróma.*** Az ilyen betegek sejtjeiben darabszám szerint 46 kromoszóma van, azonban a génállomány lényegében a 21-es triszómiáéval azonos. A kariotípus leggyakrabban 46,XY,-14,t(14;21)(14q;21q)[13] – férfi beteg esetén (11.15. ábra) – de a 13-as, 15-ös, másik 21-es vagy a 22-es kromoszómára is áthelyeződhet a 21-es hosszú kar.

Lehet a transzlokáció új, az érintett egyedet létrehozó ivarsejt meiózisában keletkezett, de lehet kiegyensúlyozott transzlokáció hordozó szülőtől kiegyensúlyozatlan formában átörökített is. Az ilyen szülő kariotípusa, pl. női hordozó esetén (11.15. ábra): 45,XX,-14,-21,t(14;21)(14q;21q). Ennek megfelelően a transzlokációs Down szindróma gyakorisága nem függ az anyai életkortól (amint azt a nondiszjunkciós forma esetén láthattuk), de mutathat családi halmozódást, lehet öröklött. Ennek messzemenő következményei vannak a genetikai tanácsadást illetően.

Ha egy fiatal asszonynak Down-kóros gyermeke születik, aki az ún. tiszta triszómiás formát mutatja, az ismétlődés kockázata nem nagyobb az anyai kornak megfelelő populációs értéknél.[14] Transzlokációs Down-kór kiderítése esetén azonban az orvos kötelessége a szülők kariotípusának meghatároztatása is, mert előfordulhat, hogy egyikőjük kiegyensúlyozott hordozó. Azaz 21-es triszómia gyanúja esetén az újszülött kromoszóma-vizsgálata semmiképpen sem kerülhető el. Legjobb ezt, ha egyáltalán még lehetséges, a köldökvérből elvégeztetni. Amennyiben valamelyik szülő hordozónak bizonyul, elméletileg 1/3 valószínűséggel, nagyobb statisztikai felmérések szerint azonban „csak" 1/10–1/20 gyakorisággal kell az ismétlődéssel számolni. Az 1/20 is elég nagy kockázatot jelent azonban ahhoz, hogy a következő terhességben prenatális kromoszóma-vizsgálat történjen, s ennek eredménye függvényében dönthessen a házaspár a terhesség megtartásáról vagy esetleges megszakításáról.

---

[13] A 46,XY,-14,t(14;21)(14q;21q) kariotípus leírás értelmezése: 46 kromoszóma látható az egyedre jellemző tipikus kariogramon, ezek közül a nemi kromoszómák egy X és egy Y. Egy 14-es hiányzik, viszont van egy olyan transzlokációt hordozó 14-es, amire egy 21-es került át, pontosabban: az egyik 14-es hosszú kar és egy 21-es hosszú kar alkotja a Robertson-féle transzlokációt mutató kromoszómát. Hasonló módon értelmezhető a kiegyensúlyozott transzlokációt hordozó anya kariotípusa is. 45,XX,-14,-21,t(14;21)(14q;21q): 45 kromoszóma közül kettő X, hiányzik egy 14-es és egy 21-es, helyettük van egy transzlokációs 14/21-es.

[14] Kétségtelen, vannak családok, amelyekben kimutathatóan emelkedett a nondiszjunkció gyakorisága. Ez megfelelő anamnesztikus kikérdezéssel feltárható, és az esetleges félreinformálás megelőzhető.

A)

B)

11.15. ábra. *Transzlokációs Down szindróma.*
A): 46,XY,-14,t(14;21)(14q;21q) kariotípusú Down-kóros fiú. B): kiegyensúlyozott hordozó, 45,XX,-14,-21,t(14;21)(14q;21q) kariotípusú anyjának a kariogramja látható.

DUPress

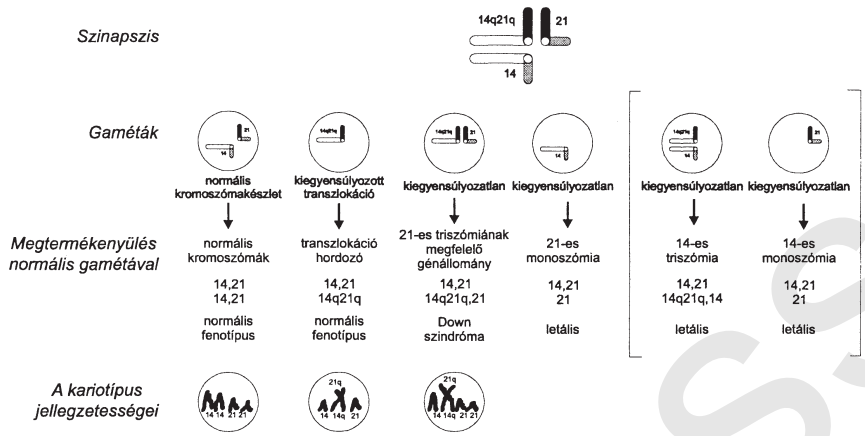
Fel kell tennünk azt a kérdést, hogy a kiegyensúlyozott transzlokáció hordozók – ebben az esetben – miért teljesen tünetmentesek, hiszen belőlük hiányzik az egyik 14-es és az egyik 21-es kromoszóma rövid karja. (A leggondosabb vizsgálatok sem tudtak kimutatni az ilyen egyénekben egy t(14p;21p) minikromoszómát.) A ma elfogadott nézet szerint az adott területeken nincs életfontos gén, a nukleolusz organizátor régiót (NOR) kivéve, ami viszont még nyolc példányban megvan a többi akrocentrikus kromoszómán (éppen az itt található NOR-ok homológiáját teszik egyesek felelőssé a Robertson-típusú transzlokációk létrejöttéért.)

Nem kizárt Robertson-féle transzlokáció két 21-es kromoszóma között sem. Ez – a szerencsére nagyon ritka eset – azért érdemel különös figyelmet, mert a kiegyensúlyozott 21/21 transzlokáció hordozónak nem szület-het egészséges gyermeke. A 21-es kromoszóma monoszómiája életképtelenséggel jár, ha az ivarsejtbe a transzlokációs kromoszóma kerül, az mindenképpen 21q triszómiát eredményez a zigótában.

INVERZIÓK

Egy kromoszómarészlet eredeti helyén való megfordulása. ***Pericentrikus inverzió***ról beszélünk, ha a megfordult darabban benne van a centromer is, azaz az abnormalitás kialakulásához szükséges két kromatid-törés a centromer két átellenes oldalán jött létre. A ***paracentrikus inverzió*** egy kromoszómakaron belüli részlet megfordulását jelenti (11.17. ábra). Az inverzió nem jár feltétlenül fenotípusos következményekkel a hordozójában, de ha a törés fontos kódoló szekvenciákban történt, ezek elvesztésének tünete(i) lép(nek) fel. Úgyszintén okozhat valamilyen szabályozási hibát is az átrendeződés. Legnagyobb veszélye azonban a meiózis megzavarásában van. A homológ kromoszómák meiózis I-ben való szinapszis-képzése mindig a homológ szakaszok egymás mellé illesztésén alapszik. Ha ezek egy szakaszon egymáshoz képest fordítottan helyezkednek el, akkor vagy létrejön a szinapszis-képzés, egészen különleges meiotikus alakzatok kialakulásával, vagy elmarad. Ha megvalósul és a párosodott szakaszon crossing over játszódik le, az tovább ronthatja most már mindkét partner strukturális szervezettségét. Duplikáció és deléció lehet a következmény, dicentrikus és acentrikus utódkromoszómák alakulhatnak ki. Mindebből komoly fertilitási zavarok és/vagy az utódba kiegyensúlyozatlan génállomány átadása következhet. Minél hosszabb a megfordított szegmens, annál nagyobb a valószínűsége, hogy crossing over abban a területben valóban bekövetkezzék.

Dunapress

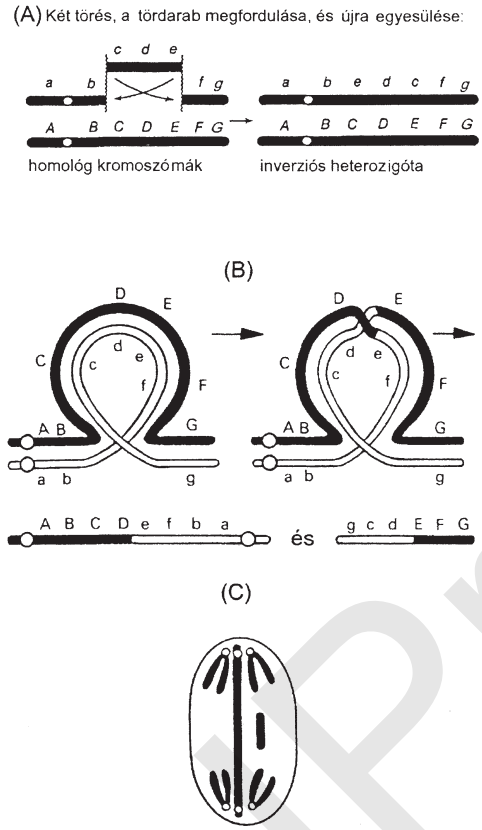


11.16. ábra. *Robertson-féle transzlokáció vagy centrikus fúzió vázlata.* A kisebb kromoszóma hosszú karja a nagyobb rövid karjának a helyére kerül. A rövid karok elvesznek. (Nem tartalmaznak olyan géneket, amelyek hiánya fenotípusos következményekkel jár.) Kiegyensúlyozott hordozó t(14q;21q) kromoszómájának sorsa a meiózisban, és az így keletkezett gamétákból származó zigóták (normális kariotípusú ivarsejttel való megtermékenyülést feltételezve). Felhívjuk a figyelmet arra, hogy az ábra jobb oldali része hipotetikus. Egyes szerzők szerint a zárójelben szereplő verziók nem léteznek.

IZOKROMOSZÓMA

Két hosszú vagy két rövid kart tartalmaz az adott kromoszómából. Létrejöttét úgy magyarázzák, hogy nem a testvérkromatidok válnak el egymástól, a metafázisos szétválás nem a kromoszóma hossztengelye mentén, hanem arra merőlegesen történik. Más magyarázat: rekombináció (*crossing over*) a centromerikus területen (11.18. ábra). Akármelyik mechanizmust fogadjuk is el, az eredmény egy, a rövid kart kétszer, és egy másik, a hosszú kart két példányban tartalmazó kromoszóma. Ezek különböző sejtekbe kerülnek, így az egyik utódsejtben (mitózis után), ill. egy zigótában (meiózisban bekövetkezett rendellenesség esetén) az adott kar három példányban, a másik csak egyben lesz jelen, a másik utódsejtben éppen fordítva. Mitózisban bekövetkezett rendellenes szétválás mozaicizmushoz vezet, de ha ős-ivarsejteket is érint, tiszta fromában adódhat tovább a rendellenesség az utódokba, azaz ezek minden sejtje hordozza a hibás kromoszóma-összetételt csakúgy, mintha a hiba meiótikus oszlásban alakul ki.

DUPPress



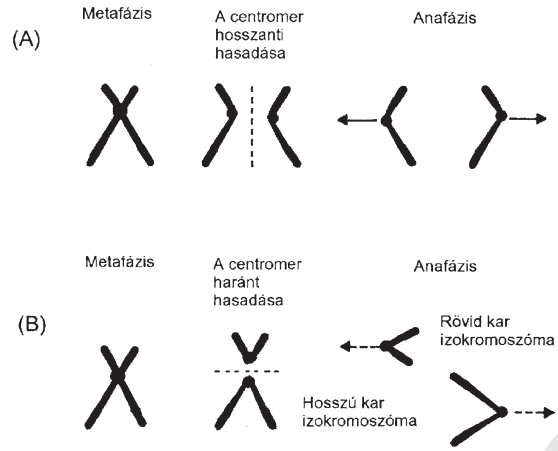
11.17. ábra. *Paracentrikus inverzió vázlata.* (A) A kromoszóma hosszú karján két törés alakul ki, az így szabaddá vált darab eredeti helyére kerül viszsza, de fordítva = paracentrikus inverzió. (B) Meiózisban tetrádképzéskor a homológ szakaszok párosodásának kényszere különleges, hurok alakzatú szinaptonemális figurát hoz létre. Ha a megfordult szakaszban jön létre *crossing over* a normális sorrendű homológgal, atípusos, szerkezeti rendellenességet mutató kromoszómák keletkeznek. (C) Anafázisban a dicentrikust két irányban húzhatják a húzórostok. A dicentrikus eltörhet, az acentrikus fragmentum pedig elvész. (Az egyszerűség kedvéért a homológokat csak egy-egy kromatid képviseli, amelyek között létrejön az átkereszteződés. Amelyek nem vesznek részt *crossing over*ben, azok gamétába kerülve normál ill. kiegyensúlyozott kromoszómakonstitúciójú ivarsejtet eredményeznek.)

Legismertebb az iXq, az X hosszú kar izokromoszóma, amit Turner szindrómás betegekben írtak le. Kariotípusban: 46,X,iXq, azaz nem valódi X monoszómia, hanem Xp monoszómia és Xq triszómia áll fenn. Értelemszerűen az ilyen betegek sejtjeiben van Barr-test, amit az esetek tulnyomó többségében a rendellenes kromoszóma alkot, ennek megfelelően ez a heterokromatikus szemcse az átlagosnál nagyobb.

Írtak már le olyan Down szindrómás beteget, akinek kariotípusát először
46,XY,-21,+t(21;21)(21q;21q) –nak vélték, utóbb viszont
46,XY,-21,+i21q-ként azonosították.

Erre ugyanaz a megközelítési elv érvényes, amire már hivatkoztunk: az orvosnak nyitottnak kell lennie a ritka, a megszokottól eltérő jelenségekre is. Genetikában pedig ľokozottan igaz, hogy alkalomadtán nem az érintett személy, hanem családtagjai, közeli rokonai számára fontos a pontos diagnózis.

DUPress



11.18. ábra. *Izokromoszóma képződés vázlata.* A centromer régióban a kromatidok hosszára merőleges tengely mentén bekövetkezett *crossing over* miatt a szétválással hosszú- ill. rövid kar izokromoszóma képződik.

KROMOSZÓMATÖRÉS

A kifejezés itt a metafázis kromoszóma mindkét karján azonos helyen látható folytonossági hiányra (elvékonyodásra) utal[15], amitől disztálisan folytatódik a kromatinállomány. Nem valamilyen jól azonosítható génikus, hanem fénymikroszkópos morfológiai jelenség, a DNS ezen a területen áthalad a távolabbi kromoszómaszakaszba. Ugyanakkor mindenképpen figyelmeztető jel atekintetben, hogy valamilyen *clastogen* („kromoszómatörő") ártalom érte az egyént, ill. azt a sejtet, amelyben a törést detektálták. Kémiai és fizikai mutagén hatások jelentősen fokozhatják a kromoszómatörések gyakoriságát, olyannyira, hogy ennek kimutatását szűrővizsgálati eljárásként szokták alkalmazni olyan dolgozók terhelésének ellenőrzésére, akik ilyen veszélyeknek kitett munkahelyeken tevékenykednek (atomipar, bizonyos vegyipari ágazatok stb.). Az itt leírt kromoszómatörés alapja lehet azoknak a törési és újraegyesülési mechanizmusoknak, amelyeket a strukturális rendellenességek kialakulásának magyarázataként a fentiekben említettünk. Ismételten hangsúlyozzuk azonban, hogy nem azonosságról van szó.

Nem tartozik szorosan ide (részletesen l. a 13. fejezet), mert önmagában semmiképpen sem rendellenesség, de meg kell itt említenünk a ***testvérkromatid kicseré-***

---

[15] Ha csak az egyik karon van folytonossági hiány, azt „hézag" -nak (*gap*) nevezik (a *break*-kel szemben), és nem tulajdonítanak neki olyan jelentőséget, mint a törésnek.

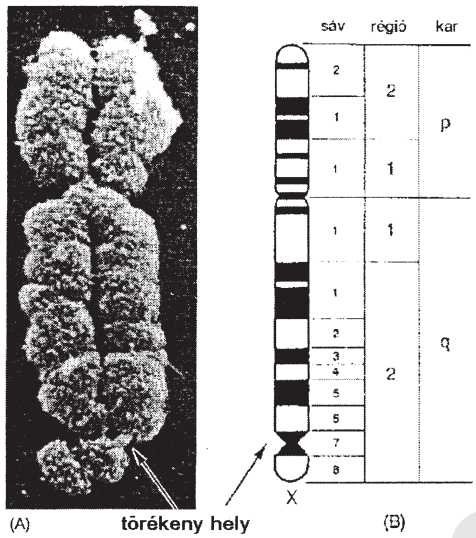
lődést (SCE = *sister chromatid exchange*). Ez a meiótikus *crossing over*rel állítható párhuzamba, de mivel testvérkromatidok között történik mitótikus sejtciklusban, így tökéletesen azonos DNS szakaszok kicserélését jelenti, tehát genetikai következményei nincsenek. Megfelelő technikákkal a mitótikus testvérkromatid kicserélődés jól kimutatható, és egy bizonyos gyakoriságig ez teljesen normálisnak mondható. Kóros viszont, ha egy egyénben megnő az SCE-k száma! Ez egyfelől ugyanúgy lehet *clastogen* hatás következménye, mint a kromoszómatörés, és ezért ugyanabból a szűrővizsgálati célból alkalmazható a kimutatása, mint amit fent említettünk. Másrészt olyan örökletes betegségekhez társul, mint pl. Bloom szindróma, Fanconi anémia, *xeroderma pigmentosum*, amelyekben génikusan zavart a DNS reparáció. Ha viszont hibásan játszódik le a folyamat (pl. egymáshoz képest eltoltan elhelyezkedő, de azonos bázisszekvenciájú ismétlődő DNS szakaszok között), akkor deléciót és duplikációt eredményezhet.

Vannak génikusan meghatározott tipikus kromoszóma törési helyek, ezek közül egyről kell részletesebben szólnunk.

Fragilis X szindróma. Évtizedekkel ezelőtt feltűnt már, hogy a mentális retardációban szenvedők között mintegy negyedével több a férfi páciens a nőknél. Családvizsgálatok során derült fény arra, hogy ennek a statisztikai adatnak a hátterében az X hosszú karon megfigyelt, minden esetben azonos lokalizációjú kromoszómatörés is állhat. Később ezt a helyet pontosabban azonosították: Xq27.3 (11.19. ábra). Az ilymódon X-hez kötötten öröklődő értelmi fogyatékosságot (Martin–Bell szindróma) fragilis X szindrómának nevezték el. Mára tudjuk, hogy ez a leggyakoribb X-hez kötött rendellenesség (mintegy 1/2000 a férfiak körében), és a kromoszomális eredetű mentális retardációk között a Down szindróma után a második leggyakoribb oki tényező.

Prenatálisan kimutatható a fraX a megfelelő kromoszómavizsgálati eljárással (de emlékeztetnünk kell rá, hogy ez a ténylegesen érintetteknek csak mintegy 50%-ában nyilvánul meg látható expresszióval), a meghosszabbodott DNS-szakasz pedig PCR technikával detektálható (ma ezt kell a megbízhatóbb diagnosztikus módszernek tekintenünk, de itt is utalnunk kell arra, hogy az érintett szakasz fizikai hossza és a tünetek kifejlődése között nem áll fenn tökéletes korreláció).

DUPress



11.19. ábra. *Fragilis X kromoszóma.* A törékeny X (fraX) nem azt jelenti, hogy az érintettek sejtjeiben rutinszerűen kimutatható az említett helyen a kromoszómatörés. Ez ott megfelelő módszerekkel indukálható[16], maximum a sejtek felében. Érdemben tulajdonképpen nem a kromoszóma törékenysége a lényeg, ez csak felhívja a figyelmet egy génikus elváltozásra. Az *FMR-1* gén egy szakaszában $(CCG)_n$ ismétlődés található. *n* értéke átlagosan 30 (6-60). Mivel a területen citozin-metiláció történik, ennek valamilyen hibája (alkalmasint megfelelő időben a demetiláció elmaradása) egyrészt zavart okoz a gén működésében, másrészt az ismétlődő szakasz megszaporodásához vezet (valamint a metafázis kromoszómán törésként azonosított folytonosság-megszakadáshoz, ami – mint már fentebb említettük, nem valódi törés, a DNS az adott szakaszon áthaladva a hosszú kar disztális végéig terjed – valószínűleg kromoszóma-szerveződési zavar). Ha ez kb. 200-500 bp hosszúságot ér el, és nincs kóros metiláció, lehet az egyén tünetmentes vagy a mentális retardáció rizikója alacsonyabb fokú. 600 bp felett az értelmi fogyatékosság esélye nagyobb (hemizigóta férfiakban gyakorlatilag eléri a 100%-ot) és a tünetek súlyosabbak. Hordozó nőkben – akik általában heterozigóták – a képet tovább színezi, valamint az utódok esélyeit befolyásolja az X inaktiválódás és az ezzel járó metilálás.[17]

---

16 Mindenben a szokásos kromoszóma-vizsgálati protokollt követik, de folsav- és timidin-hiányos tápfolyadékot alkalmaznak a sejtek tenyésztésére, ez váltja ki látható formájában a rendellenességet. Alkalmazható metotrexat (folsav antagonista) és FudR (5-fluoro-2-dezoxi-uridin, timidin analóg) is a törés-indukcióhoz. (Nagyon sok kromoszóma-rendellenességgel szemben ez pásztázósugaras elektronmikroszkópos [scanning EM] vizsgálattal is jól azonosítható.)

17 A mentális retardációként felismert – és majd csak később fraX-ként azonosított – esetek családfái néhány meglepetéssel szolgáltak. Pl. tünetmentes hordozó nagyapától öröklött értelmi fogyatékosság a probandusban, esetleg úgy, hogy az anyában is megnyilvánult a jelleg, végül pedig a nagyapa férfi testvérében kimutatták a fraX kromoszómát (a probandushoz hasonlóan). Ma ezt úgy magyarázzuk, hogy a nagyapában még nem ért el a gén meghosszabbodása egy kritikus hosszt, és ehhez nem társult kóros metiláció. Ugyanakkor nőben az egyik X inaktiválódása törvényszerű, ami metilációval (is) jár. Viszont minden egyes S-fázisban a Barr-testet alkotó X (ha később is, mint a többi kromoszóma) DNS-e megkettőződik, ami demetilációt igényel. Ha ez elmarad ill. elégtelen, az adott CCG szakasz meghoszszabbodása lehet az eredmény egyrészt, másrészt a kóros metiláció *imprinting*-je („beíródása") az adott kromoszómán. Ez defektesebb gén továbbadását eredményezheti, mint amilyet az érintett nő örökölt az apjától. Minél hosszabb az ismétlődő szekvencia, és minél kórosabb a metiláltsága, annál nagyobb az esélye a rendellenesség megnyilvánulásának, és egyben súlyosabb formájának is. Sokan feltételezik ugyanakkor – és a családfavizsgálatok alapján

Vetélések, halvaszületések és kromoszóma rendellenességek

Spontán abortuszok nagy gyakorisággal fordulhatnak elő környezeti ártalom, az anyai szervezet valamilyen rendellenessége (pl. *uterus subseptus, bicornis*), és egyéb nem génikus okokból is. Itt most csak a genetikai, és ezen belül különös hangsúllyal a kromoszómális okokat emeljük ki.[18]

Az 11.1. táblázat adataiból kiolvasható, hogy a spontán vetélések feléért valamilyen kromoszóma-rendellenesség tehető felelőssé. Természetesen egy statisztikai felmérés eredménye nem tekinthető általános érvényűnek, másrészt bizonyos szempontok szerint szelektál, így pl. itt a halvaszületések felsorolása nem található meg (és a forrás nem jelöli, hogy esetleg ezek is szerepelnének a vetélések kategóriájában), de ettől függetlenül fontos és tanulságos következtetések vonhatók le ebből csakúgy, mint egyéb felmérések adataiból. Ha vizsgálódásainkat nem szűkítjük le a citogenetikára, hanem általában a génikus okokat is ide soroljuk, akkor még nagyobb hányad tárgyalandó a Genetika címszó alatt.

A sporadikus esetek kisebb gondot jelentenek mint a habituális vetélések.[19] Mindenekelőtt ez utóbbiak azok, ahol nagyon gondos genetikai anamnézis és/vagy kromoszómavizsgálat vezethet el az ok(ok) feltárásához. Ne felejtsük el azonban, hogy a házaspár mindkét tagja szóba jön, mint a rendellenesség hordozója! Pl. kiegyensúlyozott transzlokációnak az utódba (zigótába) kiegyensúlyozatlan formában való továbbadása, a szülőben elváltozást nem okozó inverzió által a meiózisban létrehozott abnormális kromoszóma-szortimentum, stb. lehet az oka a habituális vetéléseknek. Ha egy mód van rá (intézetben befejezett vetélés, egyéb feltételek megléte), nagyon fontos az abortum kariotipizálása. Ez összevethető az esetleges szülői rendellenességgel.

Láttuk azt (11.1. táblázat), hogy a triszómiák, ezen belül még a 21-es triszómia eseteinek többsége is, valamint az X monoszómiások döntő hányada a spontán abor-

---

jogosan –, hogy az érintett szakaszban inekvális *crossing over* játszódhat le, ami az egyik X-ben megnyújtja, a másikban viszont megrövidíti a $(CCG)_n$ szakaszt. Ennek eredménye az addig hibás gén „megjavulása", vagy legalábbis némi korrekciója lehet, ami úgyszintén váratlan jelenségként léphet fel egy adott családban. Heterozigóta nőkben – egyfelől a hiba nagyságától, másfelől pedig attól függően, hogy a hibás és ép X kromoszóma közül melyik szövetben és milyen arányban inaktiválódott esetleg többségben az utóbbi – is kifejeződhet az értelmi visszamaradottság, általában enyhébb formában, mint a férfiakban.

[18] Egy párizsi kórházban hat év alatt 1500, 12 hetesnél nem idősebb, spontán abortuszból származó embrió kromoszómáit vizsgálták meg. A kariotípusuk 61%-ban volt abnormális. Ugyanakkor a maradék 39%-ban az elvetélt embriók mintegy fele mutatott olyan fejlődési rendellenességet, aminek minden bizonnyal génikus okának kellett lennie.

[19] Egy házaspár első három terhességének spontán megszakadása veti fel a habituális vetélés diagnózisát.

tumok között észlelhető. Ezek *de novo* keletkező rendellenességek (nondiszjunkció, esetleg kromoszómakésés eredményeképpen). Régi megfigyelés azonban az, hogy egyes családokban az oszlási zavarok halmozódnak, de nem feltétlenül az anya korával párhuzamosan. (Vélhetően a meiotikus apparátus valamelyik fehérjéjének génje mutáns; nem teljesen funkcióképtelen, de zavart okoz az általa determinált polipeptid hibás vagy nem kielégítő, nem eléggé precíz működése.)

A kromoszomális okokra visszavezethető halvaszületések gyakorisága kisebb: a magzat nem jut el odáig, hogy addig fejlődjön *in utero*, ami már ebbe a kategóriába esik. (Vetélésről a terhességnek a 28. gesztációs héttel bezárólag történő megszakadása esetén beszélünk, ez után halvaszületésről szólunk, ha a magzat élettelenül jön a világra.) Ha genetikai, akkor inkább génikus (mono- vagy poligénes), mintsem kromoszómális a halvaszületés oka.

Az 11.1. táblázat adataiból, valamint számos más statisztikai felmérésből úgy tudjuk, hogy a terhességek mintegy 15-20%-a ér véget spontán vetéléssel. Ha a termékenységi problémákat nem szűkítjük le a spontán (habituális) vetélések körére, a veszteségek még nagyobbra becsülhetők. Vannak szerzők, akik 50, sőt 60%-ra teszik a megtermékenyített, de elvesztett peték arányát. Ha a zigóta nagyon súlyos kromoszóma-rendellenességben vagy génikus defektusban szenved, alkalmasint már az első mitózist sem éri meg, avagy az osztódások ugyan megindulnak, de elmarad a beágyazódás. Ez azt jelenti, hogy az asszony nem is esik teherbe, a megtermékenyülés észrevétlen marad. Előfordulhat az is, hogy a beágyazódás ugyan megindul, mégis létrejön a méhnyálkahártya leválása, s az előembrió úgy távozik a menstruációs vérzéssel, mintha nem következett volna be megtermékenyülés. Ennek úgyszintén lehet anyai (pl. hormonális), de zigótikus – kromoszómális vagy génikus – oka is. Mindennek súlyos pszichés következményei lehetnek. Genetikai szempontból itt azt kell hangsúlyozni, hogy az okok – az esetek nem kis hányadában – objektíven feltárhatók. A többi az orvosi empátia és bölcsesség körébe tartozik.

Daganatok és kromoszóma rendellenességek

25–30 évvel ezelőtt még úgy tűnhetett, a tumorsejtekben észlelt kromoszóma-elváltozások oki szerepét kutatók erőfeszítéseit nem fogja egyhamar siker koronázni. Amióta megismertük a sejtek malignus elfajulásának molekuláris genetikai alapjait (l. 17. fejezet), számos kromoszóma-rendellenesség bizonyos daganatféleségekben való notórius, diagnosztikus értékű ismétlődésének sikerült megtalálni a magyarázatát, azaz

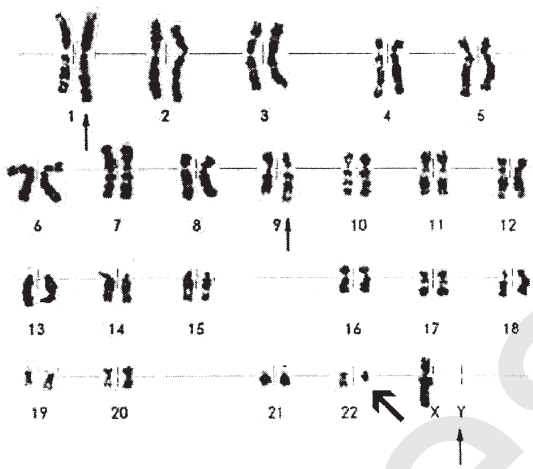
kiderült, hogy vannak ***tumorspecifikus kromoszómaeltérések***, amelyeknek oki szerepük van a daganat keletkezésében, és így elsődlegeseknek is mondandók. A ***szekunder kromoszómaeltérések*** a daganatsejtek szaporodása során, a daganatfejlődés egy későbbi szakaszában jelennek meg.

Ezzel kapcsolatban hangsúlyoznunk kell, hogy bármiféle daganatban leírt kromoszóma-rendellenesség csakis az adott tumorra és nem a beteg kariotípusára jellemző. A daganatok kialakulásának lényegi mechanizmusa, a ***klonális evolúció*** (17. fejezet) a kromoszómák rendellenességeiben és azok változásaiban is (kariotípus fejlődés) jelentkezik. A daganatosan elfajult sejtekben a már létrejött kromoszóma-aberrációt gyakran követi egy második, harmadik, stb., így a dagantok szövettani mintáiban azok – bizarr – kombinációi figyelhetők meg. Ezt a jelenséget ***kromoszómális instabilitás*** néven említik, mivel azonban ez általánosabban jellemző, egyes gének szintjén is (akár kromoszómaelváltozás nélkül) helyesebb a ***genomikus instabilitás*** kifejezést használni. Az(oka)t a kromoszómá(ka)t amely(ek) jellemző(ek) egy adott daganat sejtjeire, ***marker kromoszómá***(k)nak nevezik. Marker kromoszóma lehet egy számfeletti csakúgy, mint egy strukturális aberrációt mutató; nem ritka a számfeletti és egyben szerkezeti rendellenességet is hordozó példány.

Az első olyan kromoszóma rendellenességet, amely egy daganatos megbetegedésben nagy szabályszerűséggel fordult elő, 1960-ban írták le. Ez volt a krónikus myeloid leukémiában (CML) észlelhető Philadelphia (Ph vagy Ph^1) kromoszóma. A korabeli technikákkal ezt az egyik 22-esként azonosították, amelynek a hosszú karja terminális deléciót szenvedett, és így egy nagyjából metacentrikus alak maradt vissza, ami jelentősen kisebb volt a homológ párjánál. Csak a sávtechnikák kifejlesztése után derült ki, hogy a hiányzó rész az egyik 9-es kromoszóma hosszú karjának végére áthelyeződve megtalálható (11.20. ábra). A molekuláris genetikai analitikai módszerek érdeme annak igazolása, hogy reciprok transzlokációról van szó: t(9;22)(q34;q11.2). Ennek az átrendeződésnek az eredményeként alakul ki a *bcr-abl* fúziós gén, aminek oki szerepet tulajdonítanak a daganat keletkezésében (l. 17. fejezet). A Ph kromoszóma általában kimutatható a CML-es betegek malignusan transzformált csontvelői sejtjeiben. Nem ritkán észlelhető a keringésbe kikerült leukémiás sejtekben is. Lehet kétszeres (két Ph kromoszóma egy sejtben), és társulhatnak hozzá egyéb rendellenességek.[20] Vannak ugyanakkor Ph-negatív esetek is. Ezek egy részében is igazolható volt a *bcr-abl* fúziós gén jelenléte, kimutatható kromoszóma-elváltozás nélkül.

---

[20] Nagy általánosságban azt mondhatjuk, hogy súlyosabbak azok a CML esetek, amelyekben a keringésben is megjelennek a Ph-pozitív sejtek, és még rosszabb a prognózisa azoknak, ahol egyéb rendellenesség is társul a Ph kromoszómához. A kromoszóma-rendellenesség és a daganatos betegség prognózisa azonban nem feltétlenül mutat ilyen összefüggést, írtak már le kezelésre jobban reagáló és hosszabb túléléssel járó leukémiás eseteket, amelyekben éppen a súlyosabb kromoszóma rendellenesség volt jellemző.



11.20. ábra. *Philadelphia kromoszóma.* Krónikus myeloid leukémiás férfi daganatsejtjének jellemző kariogramja:

45,X,t(9;22)(q34;q11),1qh+,–Y.

A vastag nyíl mutat a Ph kromoszómára. Az egyik vékony nyíl azt a 9-est jelzi, amelyikre a 22-es hosszú karjának darabja transzlokálódott. Az ábra egyben példát ad a társuló egyéb rendellenességekre is: az egyik 1-es kromoszóma hosszú karján egy heterokromatikus plusz szakasz jelent meg (1qh+, homogénen festődő régió, l. 17. fejezet). Az alsó vékony nyíl viszont azt mutatja, hogy az Y elveszett. (A Ph kromoszómákkal kapcsolatban l. még a 17.4 és 17.5 ábrákat.)

A *bcr-abl*hez hasonló fúziós géneket (melyek többségükben tirozin kináz fehérjéket kódolnak) az utóbbi években eléggé nagy számban fedeztek fel. Úgy tűnik, hogy ezek nem véletlenszerű összetételben keletkeznek (bár heterogenitás észlelhető bennük), hanem valamilyen rendszer szerint alakulnak ki. Sokan ezt arra vezetik vissza, hogy a kialakulásukban szereplő kromoszómáknak az interfázisban egymáshoz viszonyított térbeli helyzete, elrendeződése meghatározott. (Azaz az interfázisos kromatin térgeometriája meglehetősen nagymértékben kötött.) Így bizonyos szegmensek között gyakrabban játszódik le kicserélődés (transzlokáció). Ha ez bekövetkezett, a tumorsejt számára kedvező szelekciós tulajdonság(ok) alakulhat(nak) ki a proliferációs képességet illetően. Ugyanakkor az is ismertté vált, hogy míg pl. a kötőszöveti és limfoid szövetekben jelentkező daganatokra általában jellemző a fúziós gén, mint kóroki tényező, a hám eredetű karcinómákra nem.

Jelentőseknek bizonyultak a citogenetikai vizsgálatok a tumor szuppresszor gének felfedezésében. Mikrodeléció következtében elveszhet egy ilyen gén akkor, amikor az

érintett sejtben már eleve működésképtelen, mutáns allélpárjával volt együtt (l. 17. fejezet), és ennek daganatkeletkezés lesz a következménye. A 13q14 régió közepének retinoblasztómában észlelt elvesztése mutatta ki először az *Rb* gén létét és helyét. A Wilms tumorra a 11p13-as régió deléciója jellemző.

További citogenetika rendellenességek, amelyeket daganatsejtekben figyeltek meg (és alkalomadtán markernek is tekinthetők), a homogénen festődő régiók, ill. az ún. „dupla parány" (*double minute*) kromoszómák (l. 17. fejezet).

Zárszóként azt írhatjuk még le a daganatokban észlelhető kromoszóma-rendellenességekről, hogy a malignusan elfajult sejtekre – citogenetikai szempontból – általában jellemző a kromoszómák replikációjának és a DNS javításának, valamint az oszlási orsó működésének a zavara (kromoszomális instabilitás), ami rendkívül bizarr számbeli és alakbeli elváltozásokhoz vezethet, túl azokon a rendellenességeken, amelyeket a fentiekben már említettünk. Ezek részben belefférnek a klonális evolúció jelenségébe, részben azonban már messze meghaladják azt. (Pl. daganatszövetben nem ritka a tripoláris sejtoszlás, az endoreduplikáció, stb.) A tumorcitogenetika további részleteit illetően a megfelelő szakkönyvekre, ill. a klinikai genetikai tanulmányokra kell utalnunk.

Összefoglalás

(*1*) A kromoszómák vizsgálatára a hagyományos technikákkal legalkalmasabb a mitózis metafázisa. Ember esetén ilyen preparátum nyeréséhez általában fitohemagglutininnel blasztosan transzformált T limfocitákat használnak. Az *in vitro* tenyészet proliferációját colchicinnel állítják le a metafázisban, így nyernek elegendő számú vizsgálatra alkalmas sejtet. Ezeket hipotonizálják, fixálják, tárgylemezen kiterítik és festik. Az egy sejthez tartozó kromoszómák fényképe a kariogram.

(*2*) A *Homo sapiens* diploid kromoszómaszáma 2n = 46. Nemcsak a kromoszómák száma, hanem alakja és (relatív) nagysága, valamint sávmintázata is a fajra jellemző állandó bélyeg. Egy ember több kariogramját összehasonlítva a standard idiogrammal, meghatározható az illető egyén kariotípusa.

(*3*) Ember esetén a poliploidiák (n 2-nél nagyobb egész számú többszörösei) számbeli rendellenességet jelentenek és az élettel összeegyeztethetetlenek.

(*4*) Aneuploidiáról beszélünk, ha egy egyed kromoszómáinak száma nem 2n; hipodiploidia esetén kevesebb, hiperdiploidiában több.

(*5*) Számbeli kromoszóma rendellenességet nondiszjunkció és kromoszómakésés okozhat, az első mind többletet, mind hiányt, az utóbbi csak hiányt.

(*6*) Meiótikus nondiszjunkció esetén a hibás gamétából származó egyed minden sejtje aneuploid, a zigóta osztódásai során fellépő mitótikus nondiszjunkció kromoszóma mozaicizmust eredményez, az egyén nem minden sejtje aneuploid. A kromoszóma-hiányos sejtek nagyobb valószínűséggel szelektálódhatnak ki, vesznek el, mint hiperdiploid társaik.

(*7*) A kromoszóma mozaikok mindig egyetlen megtermékenyített petesejtből származnak. Ezzel szemben a kimérákban két zigótából származó sejtek mutathatók ki.

(*8*) Kromoszóma mozaicizmus esetén a rendellenesség foka és jellege erősen függ attól, hogy az abnormális kromoszómagarnitúrájú sejtek mekkora részarányt képviselnek a szervezetben és milyen a szöveti- és szervi megoszlásuk.

(*9*) Az aneuploidiák többsége olyan súlyos fejlődési rendellenességeket, működési zavarokat okoz, amelyek az élettel összeegyeztethetetlenek.

(*10*) Az autoszómák nondiszjunkciós (ún. tiszta) triszómiái közül a Down- (+21), Patau- (+13) és az Edwards szindrómák (+18) figyelhetők meg élőben, de az utóbbi kettő a születés után rövid idő alatt halálhoz vezet. Az autoszómák monoszómiái mind letálisak.

(*11*) A leggyakoribb számbeli kromoszóma aberráció a 21-es triszómia. Ennek kockázata jelentősen nő a születéskori anyai életkor előrehaladásával. Ez indoka prenatális kromoszómavizsgálatnak.

(*12*) Nemi kromoszóma monoszómiára vezethető vissza a Turner szindróma (45,X), ami sterilitást okoz, de az ezzel a kromoszóma rendellenességgel élve megszületettek életkilátásai jók. Ez utóbbi még inkább igaz a szexkromoszómális triszómiákra, mint amilyen az úgyszintén sterilitást okozó Klinefelter szindróma (47,XXY), és a fertiliási gondokkal nem járó triplo X állapot (47,XXX). Mindezen rendellenességekben a Barr testek (női nemi kromatin) száma lefelé ill. felfelé eltér a normálistól. A nemi kromoszómák triszómiájának tekintendő a 47,XYY állapot is.

(*13*) A kromoszómák szerkezeti rendellenességei lehetnek kiegyen súlyozottak és tüneteket nem okozók, de járhatnak jellegzetes vagy szerteágazó fenotípusos elváltozásokkal is. Lehetnek újonnan keletkezettek (*de novo* létrejöttek), de örökölhetők kiegyensúlyozott hordozóktól is, ugyanolyan formában csakúgy mint kiegyensúlyozatlanul.

(*14*) A deléciók közül jellegzetes tünetegyüttest hoz létre az 5p-: *cri du chat* szindróma.

(*15*) A transzlokációk között a 14/21-es (esetleg 13/21-es vagy 15/21-es) Robertson-féle emelhető ki, ami kiegyensúlyozatlan formában Down-kórt okoz. Az egészséges hordozók felderítése és az általuk vállalt terhességben a prenatális kromoszómavizsgálat elvégzése elemi orvosi kötelesség.

DUPress

(*16*) A kromoszómatörések közül kiemelendő a fragilis X, ami a mentális retardációk második leggyakoribb kromoszómális oka.

(*17*) Mind a számbeli, mind pedig a szerkezeti kromoszóma aberrációk jelentős szerepet játszanak a vetélések, halvaszületések okai között. Különösen habituális vetélések esetén merül fel a valamelyik szülőben kiegyensúlyozott formában észrevétlenül meglevő, de a zigótába már kiegyensúlyozatlanul bekerülő strukturális rendellenesség gyanúja.

(*18*) Uniparentális diszómia (UPD) esetén egy kromoszómapár mindkét tagja csak az egyik szülőtől származik. Ennek lehet következménye a kiterjedt homozigótaság az illető kromoszómán elhelyezkedő lokuszokon (uniparentális izodiszómia), és/vagy a szülői eredet függésében való kifejeződés, ill. ki nem fejeződés miatt kialakuló fenotípusos eltérés.

(*19*) Számos összefüggésre bukkantak egyes sejtek daganatos elfajulásának oki vizsgálata kapcsán bizonyos strukturális kromoszóma rendellenességekkel.

Kérdések

(*1*) Vizsgálja meg a következő állítás helyes vagy helytelen voltát: „Ha a spermiogenezis során lép fel nondiszjunkció az első meiótikus oszlásban, az eredmény diszómiás vagy nulliszómiás spermium, de a másodikban bekövetkező ilyen hiba már nem zárja ki normális ivarsejt keletkezését. Ugyanez az oogenezisben nem igaz, bármikor következzék is be a szét-nem-válás, csak diszómiás vagy nulliszómiás petesejt keletkezhet." Rajzolja meg egy homológ kromoszómapár feltüntetésével a történéseket!

(*2*) Vezesse le, milyen petesejtek ill. spermiumok keletkezhetnek, ha egy kromoszóma elvész a meiózis I. ill. II. során!

(*3*) Milyen petesejtjei keletkeznek egy 47,XX,+21 kariotípusú egyénnek és milyen arányban?

(*4*) Egy családban halmozottan fordulnak elő Down-kóros gyermekek. Mi lehet ennek a magyarázata?

(*5*) Egy ikerpár egyik tagja Down szindrómás. Minden vizsgálat (vércsoport, stb.) azt igazolja, hogy egypetéjűek. Hogyan fordulhat akkor elő, hogy a Down-kórra nézve nem identikusak?

(*6*) Polani és munkatársai leírták, hogy 20 „kromatin negatív" nő közül 4 volt vörös-zöld színtévesztő, míg 55 „kromatin pozitív" férfi közül egy sem, jóllehet ez a

rendellenesség sokkal gyakoribb a férfiak mint a nők körében. Mi lehet a magyarázata ennek a megfigyelésnek?

(*7*) Leírták már színtévesztő Turner szindrómás nő ill. Klinefelter szindrómás férfi születését ép színlátású szülőpártól. Levonható-e valamilyen következtetés ebből a konstellációból arra, hogy a nondiszjunkció melyik szülőben következett be?

(*8*) Turpin és munkatársai leírtak egy ikerpárt, melynek tagjai a vércsoport antigének és egyéb vizsgálatok alapján egypetéjűeknek bizonyultak, de az egyik egészséges férfi volt, a másik viszont steril nő. Hogyan lehetséges ez?

(*9*) Normális fenotípusú szülőpárnak 47,XXY kariotípusú utóda születik. Melyik szülő melyik meiotikus osztódásában történhetett nondiszjunkció?

(*10*) Normális kariotípusú szülőpárnak 47,XYY utóda születik. Hol történhetett nondiszjunkció?

(*11*) A leggyakoribb mozaicizmus forma Klinefelter szindróma esetén a 47,XXY/46,XY. Hogyan jöhet ez létre?

(*12*) Egy statisztikai felmérésben jelentős különbséget találtak azon Klinefelter szindrómások tünetei gyakorisági adataiban, akik fertilitási panaszokkal fordultak a megfelelő szakrendeléshez, ill. akik endokrinológiai kivizsgálásra jelentkeztek:

	Gyenge szakállnövés	Mell-növekedés	Nôies szeméremszôrzet
Subfertilitas	32,2%	25,8%	32,2%
Endocrinologiai panaszok	87,5%	62,5%	54,2%

Mivel magyarázhatjuk meg ezt a különbséget?

(*13*) Hány Barr test mutatható ki a következő személyek sejtmagjaiban? (a) Kariotípusosan normális nő; (b) Turner szindrómás beteg; (c) kariotípusosan normális férfi; (d) Klinefelter szindrómás beteg; (e) 46,XYY kariotípusú egyén; (f) triplo X nő; (g) 46,XX férfi; (h) *testicularis feminisatio*ban szenvedő egyén; (i) 46,XX férfi pszeudohermafrodita; (j) 46,XY női pszeudohermafrodita.

(*14*) A *calico* (cirmos: sárgás és sötét sávok váltakozása a szőrzetben) macskák tipikusan nőstények. Mi lehet a magyarázata annak, ha találunk egy hím *calico* macskát? Milyen eséllyel tenyészthető tovább ez az állat?

(*15*) A Down-kóros gyermekek szülei között előfordul, hogy egyikük csak 45 kromoszómával rendelkezik. Ilyenkor mutatható ki valamilyen kiegyensúlyozott Robertson-féle transzlokáció az érintett egyénben. Milyen tanácsot tud adni egy 21/21 kiegyensúlyozott transzlokációt hordozónak további gyermekei esélyét illetően?

(*16*) Hogyan alakulhat át egy metacentrikus kromoszóma akrocentrikussá?

PUPress

(*17*) Egy asszony habituális vetélés miatt került kivizsgálásra: 12 spontán abortusza volt. A citogenetikai vizsgálat 45 kromoszómát talált a kariotípusában, ezen belül egy t(15q;15q) Robertson-féle transzlokációt. Megmagyarázza-e ez a gyermektelenségét?

(*18*) Milyen megoldást javasolna az előző példában szereplő asszonynak a gyermektelenség megoldására?

Válaszok

(*1*) Igaz. A különbség oka a polocyták keletkezése az oogenesisben.

(*2*) Meiózis I-ben bekövetkezett kromoszóma vesztés esetén 2 normális és 2 nulliszómiás spermium keletkezik, ha meiózis II-ben állt elő a hiba, 3 normális és 1 nulliszómiás hímivarsejt az eredmény. Petesejtre vonatkozóan elvileg azonos a kromoszómák megoszlása, de az eredmény attól függ, hogy a sarki sejtbe vagy az érett petesejtbe kerül-e az euploid szortimentum, tehát itt az említett számok valószínűségi arányként jelennek meg.

(*3*) 23,X ill. 24,X,+21, 1:1 arányban. (Down-kóros nők szülései a gyakorlatban alátámasztották ezt az elméleti arányt, még akkor is, ha az irodalom nagyon kevés ilyen esetről tud.)

(*4*) Több oka is lehet. (1) Tiszta triszómiás gyermekek születése esetén: anyai kromoszóma mozaicizmus, ahol az egyébként testi tüneteket nem okozó aneuploid sejtvonal a petefészek csírahámját adja. (2) Kiegyensúlyozott Robertson-féle transzlokáció valamelyik szülőben.

Megemlíthető még az oszlási orsó működési zavara is, ami öröklődhet egy családban. Ilyen esetben általában emelkedik az aneuploid utód születésének valószínűsége; mivel azonban az ilyen állapotok többsége letális, így előtérbe kerülhet a 21-es triszómia.

(*5*) Az egypetéjű pár a zigóta első oszlása utáni szétválásból keletkezett. A két utódsejt közül az egyikben nondiszjunkció történt, eredményeként egy hiper- és egy hipodiploid sejttel, melyek közül az utóbbi elpusztult.

(*6*) A Turner szindrómás nők hemizigóták az X-hez kötött génekre, ugyanúgy, mint a normális kariotípusú férfiak, míg a Klinefelter szindrómás férfiak lehetnek heterozigóták a X-en levő lokuszokra vonatkozóan, hasonlóan a normális kariotípusú nőkhöz. (Egyébként ne feledjük: a mintaszám elég kicsi ahhoz, hogy a negatív adat: 55 közül egy sem, akár a véletlen műve is lehessen.)

DUPRESS

(*7*) A színtévesztő Turner szindrómás nő csak az anyától kaphatta a defektes gént, azaz az apában következett be a nondiszjunkció vagy kromoszóma késés. A Klinefelter szindrómás férfi két példányban örökölte ugyanazt az anyai X-et, azaz a nondiszjunkció az anyai meiózis II-ben történt.

(*8*) A sterilitási panaszokat Turner szindróma okozta. Feltehetően a 46,XY zigóta a hibás első osztódás befejeztével kettévált, és a pár második tagját eredményező sejtbe nem került be az Y, kromoszóma késés miatt.

(*9*) Ha a rendellenesség anyai eredetű, vagy az első vagy a második oszlásban, eredménye 24,XX petesejt, ha apai, az első meiótikus osztódásban, aminek eredménye 24,XY spermium.

(*10*) A 24,YY kromoszómaképletű spermium a második meiótikus osztódásban bekövetkező szét-nem-válás eredménye. (Spermiogenezis során a meiózis I-ben az X és az Y válik el egymástól.)

(*11*) (1) 47,XXY zigóta oszlásai során elvész egy X. (2) Nem kizárható a mitotikus nondiszjunkció, aminek eredményeképpen 46,XY és 48,XXXY sejt keletkezik, az utóbbi elpusztul. (3) 46,XY zigóta mitotikus oszlásai során bekövetkező nondiszjunkció 47,XXY és 45,Y sejteket eredményez, az utóbbi életképtelen.

(*12*) Endokrin szakrendelésre azok jelentkeznek, akik másodlagos nemi jellegeinek fejlődése szemlátomást kóros és ez már korán feltűnik (a szülőknek, stb.). Fertilitási problémák azoknál jelentkeznek, akik eléggé férfias alkatúak ahhoz, hogy megnősüljenek, tehát az ő tüneteik kevésbé feltűnőek, de a házasságban a sterilitás nyilvánvalóvá válik.

(*13*) (a) 1; (b) 0; (c) 0; (d) 1, ha 47,XXY vagy 48,XXYY, amennyiben 48,XXXY akkor 2, ha 49,XXXXY, akkor 3; (e) 0; (f) 2; (g) 1; (h) 0; (i) 1; (j) 0.

(*14*) A nőstények heterozigóták egy X-hez kötött lokuszon, ami a szőrszínt befolyásolja. Csak két (vagy több) X kromoszóma esetén lehet egy hím állat heterozigóta, ami megfelel az emberi Klinefelter szindróma kariotípusának, és így macskában is sterilitással jár.

(*15*) Nem lehet egészséges gyermeke. Ivarsejtjeinek a fele a t(21q;21q) kromoszómát hordozza és ebből csakis Down szindrómás utód születhet, míg ivarsejtjei másik felébe nem kerül 21-es kromoszóma, és a 21-es monoszómia a zigótában letális.

(*16*) Pericentrikus inverzióval.

(*17*) Igen. A 15-ös kromoszómák rövid karjának az elvesztése a transzlokáció következtében nem járt az asszonynál semmilyen fenotípusos rendellenességgel, de petesejt képzésekor az érett ivarsejtbe vagy kétszeres dózisban került be a 15-ös kromoszóma hosszú karja, ami a zigótában 15q triszómiát okoz, és mint a példa is mutatja az élettel hosszabb távon összeegyeztethetetlen, vagy csak egy 15-ös kromoszómát hordoz a zigóta (az apait), ami úgyszintén letális állapot.

Dubress

(*18*) (1) Az asszony nőtestvérétől (ha van ilyen) kapott petesejt *in vitro* megtermékenyítése a férj spermiumával és megfelelő előkészítés után beültetése az asszony méhébe. Így a gyermeket ő hordaná ki, s a testvérével közös gének valamint az apai gének alapján a házaspár mintegy 3/4 részben saját génállományúnak tudhatná a gyermeket. (2) Idegen (ismeretlen) donortól kapott petesejt *in vitro* megtermékenyítése a férj spermájával és beültetése az asszony méhébe. Ez a házaspárt „félig" saját gyermekhez juttatná. (3) Idegen házaspárnál elvégzett IVF beavatkozásból „kimaradt" előembrió beültetése. Génikusan a gyermek nem saját, de a terhesség és szülés élménye révén az anyaság örömét meghozná az asszonynak. (4) Örökbefogadás.

DUPress

DUPress

12. FEJEZET

GÉNFOGALOM, GÉNSZERKEZET ÉS GÉNMŰKÖDÉS

A DNS – örökítőanyag

A gén fogalma

Az egy gén egy enzim hipotézis és továbbfejlesztése
A génfogalom definíciója genetikai módszerrel. A cisztron fogalma

A DNS szerkezete

A DNS – kettős hélix
Denaturáció, renaturáció és hibridizáció
A DNS szuperhelikális szerkezete

Replikáció: DNS → DNS

Replikációs buborékok és villák
A bakteriális DNS replikációjához szükséges fehérjék
Az eukarióta DNS-replikáció egyedi sajátosságai

Transzkripció: DNS → RNS

Az RNS molekulák különböző fajtái

Transzláció: RNS → fehérje

Az eukarióta transzláció jellegzetességei

A katalitikus RNS (ribozim)

DUPress

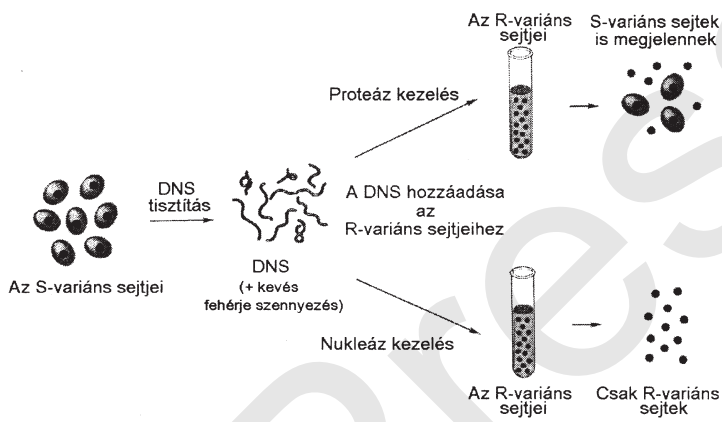
A DNS – örökítő anyag

A klasszikus genetika, amely a tulajdonságok öröklődését vizsgálja, nem ad felvilágosítást a gének mibenlétére és működésének módjára. Az öröklődés mechanizmusának megértéséhez szükség volt annak megállapítására, hogy milyen molekula v. molekulák felelősek a tulajdonságok öröklődéséért, fel kellett tárni a genetikai anyag kémiai természetét.

Miescher a XIX. században felfedezett egy enyhén savas anyagot a fehérvérsejtek magjában, amelyet később nukleinsavnak neveztek el. Kimutatták, hogy kétféle nukleinsav létezik, DNS és RNS. Később fénymikroszkópos festési eljárással igazolták, hogy a kromoszómák DNS-t és fehérjét tartalmaznak. Ekkor már közvetett bizonyítékok utaltak arra, hogy a DNS a genetikai anyag: egy szervezet testi sejtjei azonos mennyiségű DNS-t tartalmaznak, míg az RNS és fehérje mennyisége nagyon eltérő lehet különböző sejtféleségekben. Az ivarsejtekről kimutatták, hogy a testi sejtek DNS-mennyiségének csak a felét tartalmazzák. Mégis, voltak kétségek a DNS genetikai anyag mivoltát illetően, mivel kémiai összetétele alapján azt gondolták, hogy nem tartalmaz elég sokféle komponenst ahhoz, hogy az örökítő anyag szerepét betölthesse. Legtöbben a fehérjéket tartották erre alkalmasnak, amelyek összetevői nagyobb diverzitást mutatnak. A DNS örökítő szerepének tisztázásában két klasszikus kísérletnek volt nagy jelentősége.

A *Streptococcus pneumoniae* nevű baktérium emlősökben tüdőgyulladást (*pneumonia*) okoz. Poliszaharid tokot képez maga körül, mely védi a baktériumot a szervezet védekező mechanizmusaitól. Ez a tok felelős a baktérium patogenitásáért (kórokozó hatásáért). Szilárd táptalajon a tokképző baktérium sima, fényes telepeket képez, ezért ezt elnevezték S-variánsnak (*smooth* = sima). Vannak mutánsok, melyek nem képesek szintetizálni a tok poliszaharidját, s szilárd táptalajon durva felszínű telepeket képeznek (R-variáns, *rough* = durva, érdes). Az R-variáns nem okoz tüdőgyulladást. Az S és R-variánsra jellemző fenotípust ugyanazon gén vad típusú és mutáns allélje határozzák meg. Ha élő R-variánssal, vagy hővel elölt S-variánssal oltottak egereket, azok nem betegedtek meg. 1928-ban Griffith azt tapasztalta, hogy élő R-variáns és hővel elölt S-variáns keverékével beoltott egerek gyakran elpusztultak pneumoniában. Az elpusztult egerek véréből S-variáns volt kitenyészthető. Feltételezhetően az elölt S-sejtekből származó és az R-sejtekbe bejutó valamely anyag állíthatta helyre a baktérium tokképzését és patogenitását. A jelenséget ***genetikai transzformáció***nak nevezték el. Hogy milyen vegyület felelős a transzformációért, azt Avery és munkatársai mutatták ki 1944-ben. S-sejtekből izolált DNS-t adtak R-sejtek tenyészetéhez, a baktériumokat szilárd

táptalajra szélesztve a telepek között találtak sima felszínű telepeket is. Mivel a DNS-preparátumok általában tartalmazhatnak fehérjét és RNS-t is, mint szennyező anyagot, el kellett dönteni, hogy melyik okozza a jelenséget. Proteáz és ribonukleáz kezelés nem érintette a transzformáló aktivitást, míg a DNáz kezelést teljesen megszüntette azt (12.1. ábra). Ezzel bebizonyosodott, hogy a DNS a genetikai transzformációt létrehozó anyag, tehát az örökítő anyag is.

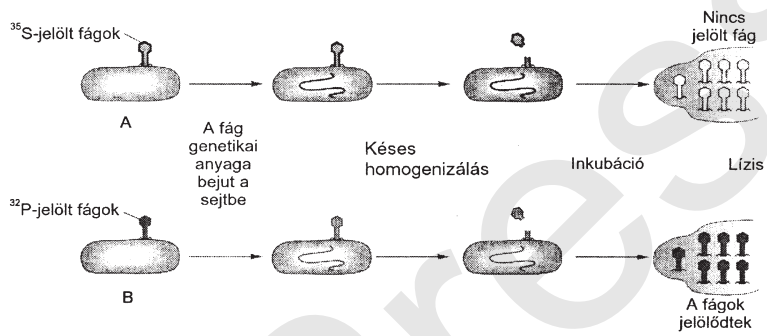


12.1. ábra. *A DNS szerepének igazolása a baktérium-transzformációban*

A másik klasszikus bizonyíték Hershey és Chase T2 bakteriofággal végzett kísérleteiből származik (1952). A fágfertőzés lépéseit már korábban is ismerték: a fágrészecske először megtapad a baktérium-sejtfalon, fágeredetű anyag kerül be a baktérium belsejébe (még nem volt tisztázott, hogy ez fehérje vagy DNS), a bekerült anyag elszaporodása nagyszámú utódfág képződéséhez vezet, majd az utódfágok kiszabadulnak a gazdasejt lízise (szétesése) révén. A szerzők kísérleteikhez kétféle radioaktívan jelölt fágpreparátumot állítottak elő. A ^{32}P-vel történő jelölés során csak a fág-DNS jelölődött, míg ^{35}S izotóp csak a fehérjékbe épül be. A kísérletekben radioaktív izotóppal jelölt fágokkal fertőzve jelöletlen *E. coli* baktériumsejteket követni lehetett a DNS ill. a fehérje sorsát a fágfertőzés során (12.2. ábra).

A fertőzött sejteket centrifugálással elválasztották a nem adszorbeálódott fágrészecskéktől, felszuszpendálták és késes homogenizátorral (turmixgép) kezelték, ami leszakította a sejtek felszínéről a megtapadt fágokat. A baktériumsejtek radioaktivitását meghatározva megállapították, hogy a ^{32}P jelölést használva a radioaktivitás nagy része a

baktériumsejtben volt kimutatható, míg ^{35}S jelölés után csak a radioaktivitás elenyészően kis része került be a baktériumsejtekbe, (az utódfágok fehérjéi is csak elhanyagolható mértékű jelölődést mutattak). A jelölt DNS ugyanakkor kimutatható volt az utódfágokban. Ebből az következett, hogy a fág a DNS-ét juttatja be a megfertőzött sejtekbe, a DNS felelős a fág elszaporodásáért, tehát ez a vegyület a genetikai anyag. Bár később kiderült, hogy bizonyos vírusokban RNS játssza ezt a szerepet, ma is általánosan érvényes megállapítás, hogy minden sejtes szerveződésű élőlény genetikai anyaga DNS.



12.2. ábra. *A kísérlet, amely bizonyította, hogy nem a fehérje, hanem a DNS felelős a T2 fág elszaporodásáért E. coli sejtekben.* (A) A jelölt fehérje csak elhanyagolható mennyiségben jelenik meg az utódfágokban. (B) A jelölt fág-DNS jelentős része kimutatható az utódfágokban.

A gén fogalma

AZ EGY GÉN EGY ENZIM HIPOTÉZIS ÉS TOVÁBBFEJLESZTÉSE

A Mendel szabályok megismerésével magyarázatot kaptunk arra, hogyan adódnak át az örökletes faktorok nemzedékről nemzedékre, de a XX. század első felében nem volt egységes elképzelés arról, hogy a gének miképpen fejtik ki hatásukat, hogyan működnek. Az első kutató, akinek sokat köszönhetünk ezen a téren, Archibald **Garrod** angol orvos volt. Az általa tanulmányozott örökletes emberi jellegek egyike az *alkaptonuria*. Ez a

betegség könnyen diagnosztizálható, mivel a betegek vizelete levegőn állva bizonyos idő után megfeketedik. Ezt az aromás aminosavak (tirozin, fenilalanin) lebontási termékének a homogentizinsavnak (alkapton) a vizeletben való felszaporodása okozza. Garrod azt feltételezte, hogy ennek a vegyületnek az akkumulálódása a szervezetben az adott molekulát lebontó enzim hiányának tulajdonítható. Ugyanakkor a családfák vizsgálatából azt is kiderítette, hogy az alkaptonuriáért egy recesszíven öröklődő gén felelős. Megalkotta a veleszületett anyagcsere-betegség[1] fogalmát, 1909-ben megjelent művében kifejtette, hogy az anyagcsere genetikai kontroll alatt áll. Megértette, hogy a mutáció egy anyagcsereút blokkját okozhatja, ebből pedig arra következtetett, hogy a mutáns gén vad típusú allélja a normál enzimfunkcióért felelős.

Elméletének lényegét rövid formulába sűrítve így fejezhetjük ki: ***egy mutáns gén – egy anyagcserehiba.***

Az évek során sok más anyagcsere-betegséget leírtak és azonosítottak pl. több, a szemszín megváltozását okozó mutációt is *Drosophila*-ban, de a gén szerepéhez, a génműködés lényegéhez nem sikerült közelebb kerülni, mivel a rendelkezésre álló mutánsok fenotípusának biokémiai magyarázatát nem lehetett megadni. Beadle és Tatum amerikai kutatók más megközelítést választottak: Ahelyett, hogy ismert mutánsok biokémiai hátterét próbálták volna kideríteni, azt tűzték ki célul, hogy ismert biokémiai folyamatok hibáját, blokkját okozó mutációkat hozzanak létre. Kísérleteikhez az eukarióta, haploid fonalas gombát a *Neurospora crassa*-t választották. A *Neurospora* növekedésre képes szervetlen sókat, cukrot és egyetlen vitamint, a biotint tartalmazó ún. minimál táptalajon. Ebből a kutatók arra következtettek, hogy az organizmus képes megszintetizálni az összes, számára szükséges aminosavat, szerves bázist és vitamint. Ha ezen molekulák bioszintézise genetikai kontroll alatt áll, akkor elvileg lehetséges olyan mutánsokat létrehozni, amelyek nem képesek valamelyik esszenciális molekula (pl. aminosav) szintézisére, ezért növekedésükhöz kívülről kell azt biztosítani. A kísérleteik során röntgen- vagy UV-sugarakkal kezelték a *Neurospora* konidiumokat[2], utána szelektálták a mutánsokat, amelyek nem voltak képesek nőni minimál táptalajon, ugyanakkor jól nőttek ún. „gazdag" táptalajon. Keresztezéssel megbizonyosodtak arról, hogy egyetlen lokusz mutációja okozza a növekedés hiányát (v. auxotrófiát). Aprólékos kísérletekkel megállapították, melyik mutáns esetében melyik bázist, aminosavat v. vitamint kell hozzátenni a minimál táptalajhoz, hogy növekedni tudjon a gomba. Ennek során kimutatták, hogy minden mutáció csak *egy* esszenciális molekula szintézisének hiányát okozta, s azért, mert a mutánsból hiányzott *egy* konkrét bioszintetikus lépéshez szükséges *enzim*. A

[1] Eredetileg: inborn error of metabolism.

[2] Aszexuális vegetatív szaporítósejt gombáknál.

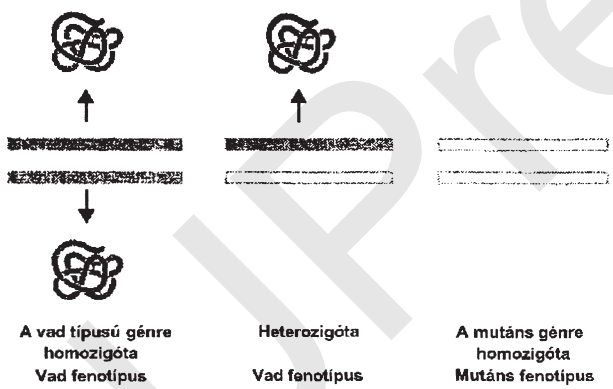
Beadle és Tatum által kísérleteik alapján megfogalmazott ***egy gén – egy enzim*** hipotézis kimondja, hogy...

(*1*) egy anyagcsereút minden lépéséért egy-egy specifikus gén felelős.

(*2*) ugyanazon anyagcsereút minden lépését egy-egy specifikus enzim kivitelezi.

(*3*) a gének hatása specifikus enzimek létrehozásában ölt testet.

Ezen ismeretek alapján válik érthetővé a recesszív mutációk mibenléte. A gént érő mutáció többnyire azt eredményezi, hogy a mutáns gén nem tud funkcióképes enzimet létrehozni, vagyis a mutáció az enzimfunkció hiányát okozza. Magasabb rendű diploid élőlényeknél egy heterozigóta vad típusú és mutáns allélt egyaránt tartalmaz. A vad típusú allél létrehozza a funkcióképes enzimet, ezért vad típusú fenotípus figyelhető meg. (12.3. ábra). A vad típusú allél tehát domináns, a mutáns allél pedig recesszív, mivel csak a homozigótából hiányzik teljesen az enzimfunkció. (Ha viszont egyetlen vad típusú gén nem képes létrehozni megfelelő mennyiségű enzimet, akkor ez intermedier fenotípust eredményezhet.)



12.3. ábra. *A mutációk recesszív jellegének szemléltetése.* A vad típusú allél (kitöltött téglalap) funkcióképes fehérjét kódol, míg a mutáns allél (üres téglalap) nem (részletes magyarázatot l. a szövegben).

Az ötvenes években a sarlósejtes vérszegénység (*anaemia*) molekuláris okának kutatása során kiderült, hogy a hemoglobin[3] β láncát kódoló génben bekövetkezett pontmutáció glutaminsav-valin aminosavcserét eredményez, ami megváltoztatja az egész molekula alakját. A hemoglobin molekulák a vörösvértesten belül fonalszerű aggregátumokká (*tactoid*, l. 13. fejezet) állnak össze, amik deformálják az eredetileg fánkhoz hasonlító sejtek alakját. Ez a változás lecsökkenti a vörösvértestek élettartamát és vérszegénységet eredményez. Ugyanakkor a sarlósejtes anémiában szenvedő beteg α

[3] A hemoglobin alegységösszetétele: $\alpha_2\beta_2$

globin láncai semmiben sem különböznek az egészségesek α globin láncaitól. Ezeket egy másik gén határozza meg, az pedig nem szenvedett mutációt. Ezen eredmények alapján megállapítható, hogy

(*1*) Egyetlen gén nem feltétlenül elegendő egy alegységekből álló fehérje struktúrájának meghatározására.

(*2*) Több polipeptidből álló fehérjéknél minden polipeptid szintéziséért más-más gén lehet felelős.

Ennek alapján alakult ki a génfogalom kissé módosított meghatározása: ***Egy gén – egy polipeptid.***

A molekuláris genetika fejlődésével az is nyilvánvalóvá vált, hogy nem minden gén kódol polipeptidet. Így megtalálhatók a genomban a riboszomális és transzfer RNS-ek, az RNS átszabásban fontos snRNS és a 7SL RNS génjei is, melyek biztosan nem kódolnak fehérjét, a géntermék maga az RNS. Eszerint a génfogalmat tovább módosíthatjuk a következőképpen: ***Egy gén – egy funkcióképes makromolekula.***

A GÉNFOGALOM DEFINÍCIÓJA GENETIKAI MÓDSZERREL. A CISZTRON FOGALMA

Ha a gén bázissorrendjében változás jön létre, ennek az eredménye nagy valószínűséggel az lesz, hogy a létrejött mutáns gén funkcióképtelen fehérjét fog kódolni. Mivel egy gén több száz, vagy több ezer bázispárból áll, sokféle olyan mutáns változata lehet, melyek funkcióképtelenséget eredményeznek. Ugyanazon génnek tehát sok mutáns allélje létezhet.

Nagyon sok olyan anyagcsere folyamat van, amely egymás utáni lépések sorozatából áll. Ilyenek pl. az aminosav-bioszintézis folyamatai. Minden lépésért más-más specifikus gén és az általa kódolt enzim felelős. Bármelyik lépésért felelős génben következik be mutáció, ez pl. egy haploid mikroorganizmus esetében mindig azzal jár, hogy az adott aminosav nem szintetizálódik, aminosav-igényes auxotróf fenotípus figyelhető meg. Pl. hisztidin igényes fenotípus felléphet több gén mutációja miatt.[4]

Ha két azonos fenotípust eredményező mutációról el akarjuk dönteni, hogy egyazon, vagy különböző génben vannak-e, ***komplementációs teszt***et használunk. A teszt lényege az, hogy heterozigótát hozunk létre, pl. a két homozigóta mutáns szülő keresztezésével. Vegyük először azt az esetet, amikor a két mutáció azonos génben van:

---

[4] A klasszikus genetika fogalmai szerint ezek a gének egymással komplementer kölcsönhatásban állnak, hiszen mindegyik működőképes (domináns) formájának megléte szükséges a vad típusú tulajdonság kialakulásához.

$$m_1/m_1 \times m_2/m_2$$

A heterozigóta genotípusa: m_1/m_2, ami azt jelenti, hogy mivel nincs jelen vad típusú gén, mutáns fenotípus lesz megfigyelhető.

Ha a mutációk különböző génben helyezkednek el, akkor a két szülő genotípusa a következő:

$$m_1 M_2 / m_1 M_2 \times M_1 m_2 / M_1 m_2$$

ahol a M jel vad típusú allélt jelöl. A heterozigóta genotípusa: $m_1 M_2 / M_1 m_2$, ami azt jelenti, hogy hordozza mindkét gén egy-egy vad típusú alléljét, ezért vad típusú fenotípus figyelhető meg. A két mutáció ***genetikai komplementáció***ja jött létre.[5]

A komplementációs teszt másik elnevezése cisz-transz teszt, mivel a két mutáció egymáshoz képest kétféle helyzetben lehet jelen a heterozigótában (12.4. ábra). A két mutáció lehet cisz helyzetben, azaz azonos kromoszómán, és transz helyzetben, azaz egymással ellentétes oldalon (kromoszómán).[6]

Ha a mutációk azonos génben vannak, transz helyzetben mindkét génkópia mutáns. Cisz helyzet esetén a két mutáció azonos kromoszómára kerül[7], és van egy mutáció nélküli, vad típusú gén. Tehát ha a két mutáció azonos génben van, a heterozigóta fenotípusa a két mutáció helyzetétől függ: transz helyzetben mutáns, cisz helyzetben vad típusú.

Ha a mutációk különböző génben vannak, a helyzet nem fontos, hisz mindkét mutáns génnek jelen van a vad típusú allélje. Ha tehát a két mutációt cisz helyzetben vizsgáljuk, vad típust kapunk, akár egy génben, akár különböző génben vannak a mutációk. Ezért a cisz-teszt kontrollként szolgál, mintegy bemutatja a vad típust. Arról, hogy a két mutáció azonos, vagy különböző génben van-e, a transz heterozigóta fenotípusa dönt.

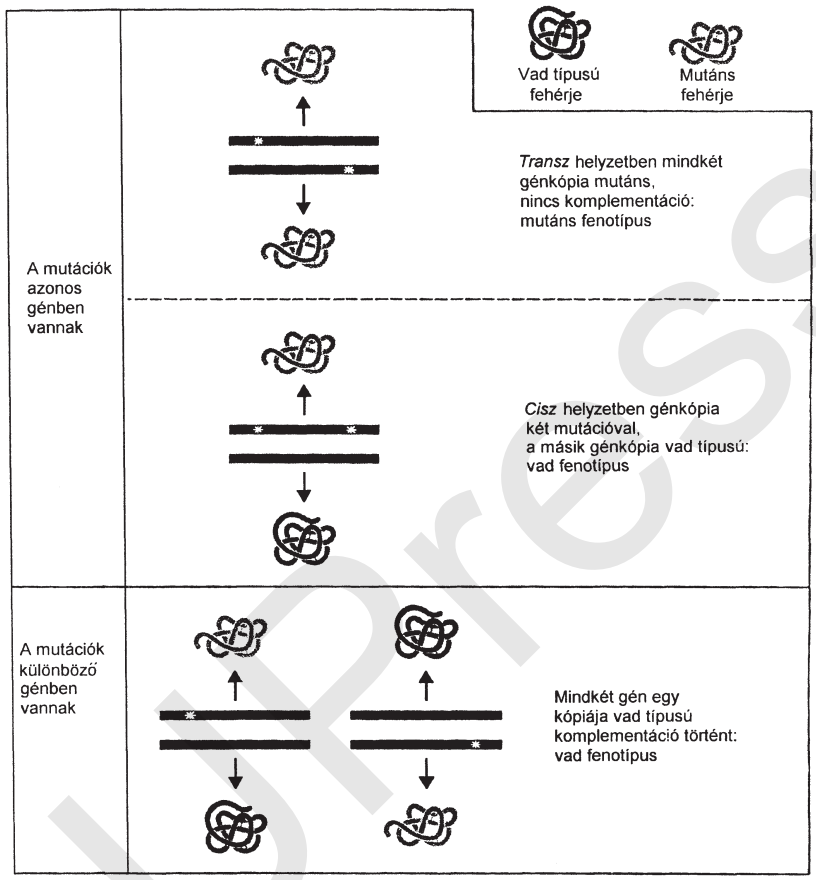
A komplementációs teszt segítségével definiált genetikai egységet ***cisztron***nak nevezzük. A cisztron a gén szinonimájaként használható. Ugyanahhoz a cisztronhoz tartozó két mutáció transz helyzetben nem komplementál. A komplementáció megléte viszont azt mutatja, hogy a mutációk különböző cisztronban helyezkednek el. Ha két gén transz helyzetben komplementál, ez azt jelenti, hogy mindegyik egy-egy diffuzibilis fehérjemolekula szintéziséért felelős, melyek aztán együttesen létrehozzák a vad fenotípust. Az nem számít, hogy egyiket az egyik szülőtől, másikat a másik szülőtől származó kromoszóma kódolja.

---

[5] L. még a Komplementációs teszt élesztõvel c. gyakorlat anyagát.

[6] Ez azt jelenti, hogy az egyik mutációt hordozó kromoszóma az egyik szülõtõl, a másik mutációt hordozó kromoszóma pedig a másik szülõtõl származik.

[7] Pl. rekombináció révén.



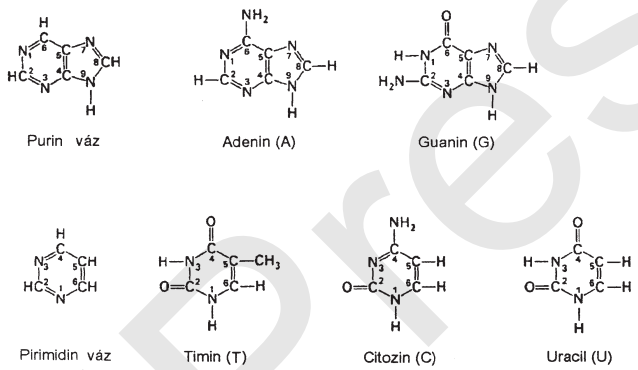
12.4. ábra. *A cisztron fogalma a komplemetációs teszttel definiálható.* A génen belül csillaggal jelöltük a mutáció helyét.

DUPress

A DNS szerkezete

A nukleinsavak – a fehérjékhez hasonlóan – sorrendspecifikus biopolimerek. Alapvető építőköveik a ***nukleotid***ok, melyek egy nitrogéntartalmú szerves bázisból, egy pentózból és foszfát csoportból állnak.

A bázisok két csoportra oszthatók, pirimidinekre és purinokra. A pirimidinek 6 atomos, a purinok 9 atomos hetrociklusos gyűrűt tartalmaznak (12.5. ábra).



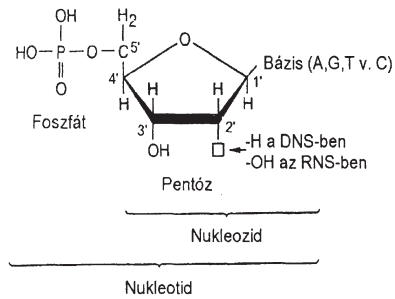
12.5. ábra. *A nukleinsavak bázisai.* A purin és pirimidin gyűrűk a bázisok általános szerkezetét mutatják, a számok a gyűrű atomjait jelölik.

Mindkét nukleinsavféleség négyfajta bázist tartalmaz: a purinok közé tartozó ***adenin*** és ***guanin*** a DNS-nek és az RNS-nek egyaránt alkotórésze. A pirimidinek közül a DNS-ben ***citozin*** és ***timin*** található, az RNS-ben citozin és ***uracil*** van. Az uracil és timin közötti egyetlen különbség az, hogy az 5. szénatomon a timinben egy metil csoport helyezkedik el. A bázisokat gyakran csak kezdőbetűikkel jelöljük, így a DNS-ben A, G, C és T, míg az RNS-ben A, G, C és U fordul elő.[8]

A pentózoknak két típusát találhatjuk meg a nukleinsavakban: a DNS-ben a ***dezoxiribóz***, míg az RNS-ben a ***ribóz*** fordul elő (12.6. ábra). A különbség közöttük az, hogy a dezoxiribóz 2. szénatomján –OH csoport helyett csak –H van. A bázisok a pentóz

[8] A bázisok jelölésére használt egyéb jelek: N: bármilyen bázis, Pu: purin, Py: pirimidin

1. szénatomjához kapcsolódnak glikozidos kötéssel. (A pirimidinek az 1., a purinok a 9. nitrogénatomjukkal kapcsolódnak a pentózhoz.) Hogy megkülönböztethessük a bázisok és a pentóz atomszámait, az utóbbiakat vesszővel (pl. 5′ , 3′) jelöljük.



12.6. ábra. *Egy tipikus nukleotid szerkezete.* A nyíl a pentóz 2′ C atomját mutatja, amelyen –OH szerepel a ribózban és –H a dezoxiribózban. A nukleozidban nincs foszfát csoport, a nukleotidok egy, két v. három foszfátot tartalmazhatnak.

A bázisok és a pentóz által alkotott vegyületeket ***nukleozidok***nak nevezzük, melyek egy foszfát csoporttal kiegészülve alkotják a **nukleotid**okat (12.6. ábra).

Az egyes nukleotidok és nukleozidok elnevezéseit tünteti fel a 12.1 táblázat.

12.1. Táblázat. *A nukleinsavak építőköveinek elnevezése*

Bázis	Nukleozid	Nukleotid	Rövid név*	
			RNS	DNS
Adenin	Adenozin	Adenilsav	AMP	dAMP
Guanin	Guanozin	Guanilsav	GMP	dGMP
Citozin	Citidin	Citidilsav	CMP	dCMP
Timin	Timidin	Timidilsav	–	dTMP
Uracil	Uridin	Uridilsav	UMP	–

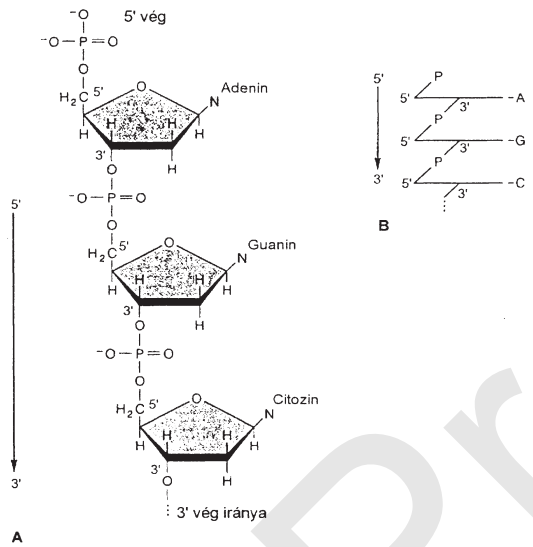
* A rövid nevek nukleozidmonofoszfátot jelentenek, pl. adenozinmonofoszfát, stb. A d betű a dezoxi-formát jelöli.

A nukleinsavakban a nukleotidok összekapcsolódva ***polinukleotid lánc***okat hoznak létre, melyek gerincét alternáló pentóz és foszfátcsoportok képezik (12.7. ábra).

A láncban egy pentóz 5′ szénatomját foszfátcsoport köti a láncban előbb elhelyezkedő pentóz 3′ szénatomjához, így a cukor-foszfát gerinc 5′-3′ foszfodiészter kötésekből áll. A bázisok oldalt mintegy „kilógnak" a cukor-foszfát gerincből. A lánc egyik végén a

DUPress

terminális nukleotid 5′ csoportja szabad – ez az 5′ vég, a lánc másik végén a 3′ csoportja szabad, ez a 3′ vég. (A vég olyan értelemben szabad, hogy nem vesz részt foszfodiészter kötésben. Az 5′ vég egyébként DNS-nél egy, RNS-nél három foszfát csoportot is hordozhat). A konvenció szerint a nukleinsavak szekvenciáját 5′→ 3′ irányban írjuk fel.



12.7. ábra. *A polinukleotid lánc szerkezete.* Az ábrán egy polinukleotid lánc 5' végének három nukleotidja van feltüntetve. (A) A cukor-foszfát gerinc kötéseinek szerkezete és a lánc 5'-3' orientációja. (B) Polinukleotid lánc sematikus ábrázolása.

A DNS – KETTŐS HÉLIX

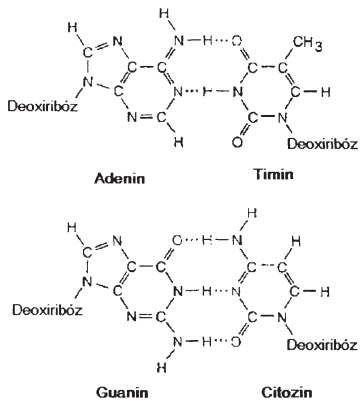
Watson és Crick 1953-ban közölték a DNS kettős hélix modelljét, amely új korszak kezdetét jelentette a biológiában.

A modellalkotásnak három kiindulópontja volt:

(*1*) Röntgen diffrakciós kísérletekből tudták, hogy a DNS szabályos helikális szerkezetű, melyben a „menetemelkedés" (egy „csavarmenet" magassága) 3,4 nm, az átmérője 2 nm. Mivel a szomszédos nukleotidok közti távolság 0,34 nm, 10 nukleotidnak kell elhelyezkednie egy csavarulatban.

(*2*) A DNS sűrűsége alapján valószínűsíthető volt, hogy a hélixnek két polinukleotid láncot kell tartalmaznia. Az állandó átmérőt úgy lehetett megmagyarázni, ha a bázisok a kettős láncban befelé néznek, s purinnal szemben csak pirimidin helyezkedhet el.

PUPress



(*3*) Ismerték a Chargaff-szabályt, mely szerint a DNS-ben a G %-os aránya megegyezik a C %-os arányával, csakúgy, mint A% = T%.

12.8. ábra. *A DNS bázispárjai.* A bázisok közötti hidrogénkötéseket pontozott vonallal ábrázoltuk.

A DNS ***másodlagos szerkezet***ét leíró modell lényeges eleme, hogy a kettős hélixet alkotó polinukleotid láncokat a bázisok közötti hídrogén-kötések tartják össze (12.8. ábra). G C-vel, A pedig T-vel alkot specifikus bázispárokat.

A G-C és A-T párokat ***komplementer*** bázispároknak nevezzük.[9] A két polinukleotid lánc ellentétes lefutású (***antiparallel***). Az egyik lánc 5′→3′, míg a másik 3′→5′ lefutású (12.9. ábra).

A cukor-foszfát gerinc helyezkedik el kívül, melyben az elektrolitosan disszociáló foszfát csoportok negatív töltéseket hoznak létre. E töltéseket *in vivo* pozitív töltésű fehérjék (pl. hisztonok), *in vitro* a DNS vizes oldatában levő Na^+ ionok neutralizálják. A DNS külső felszíne hidrofil, a bázisok belül helyezkednek el, síkjuk merőleges a hélix hossztengelyére[10] (12.10. ábra).

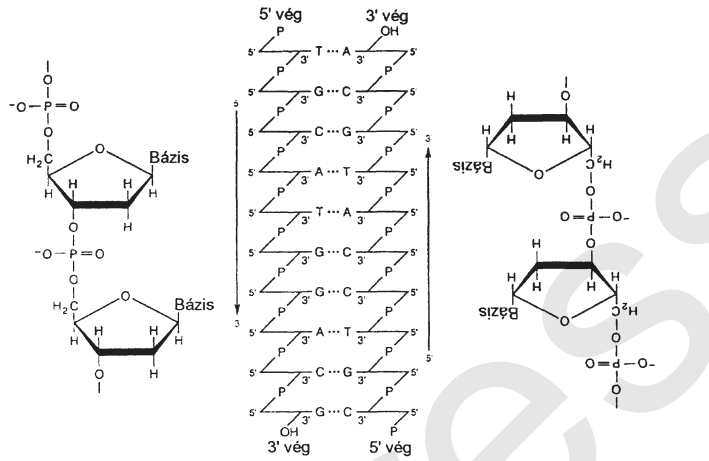
A bázispárok kétféleképpen járulnak hozzá a dupla hélix stabilitásához: (1) A komplementer bázisok közötti hidrogénkötések révén, valamint (2) minden bázispár hidrofób kölcsönhatásba lép a felette és alatta elhelyezkedő bázispárral. Minden bázispár 36°-os szögben fordul el a molekula hossztengelye körül a szomszédos bázispárhoz képest. Így 10 bázispár alkot egy teljes, 360°-os fordulatot. A két DNS szál egymás körüli feltekeredése következtében a molekula felszíne felől nézve két különböző szélességű barázda alakul ki: a nagy barázda (2,2 nm átmérővel) és a kis barázda (1,2 nm átmérővel). A DNS-sel specifikus kölcsönhatásba lépő fehérjék általában a nagy barázdában

---

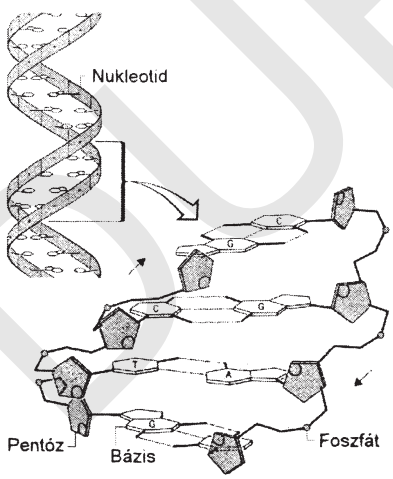
[9] A kétszálas DNS – ha szakszerűen fejezzük ki magunkat – nukleotid párokból épül fel. A tudományos szakirodalomban azonban annyira elterjedt az egyszerűbb „bázispár", ill. ennek rövidítéseként a bp megjelölés, hogy ma már célszerűbb ehhez alkalmazkodni. Többszörösei a kbp (1000 bp), és Mbp (1 000 000 bp).

[10] Ez a legáltalánosabban előforduló B-DNS-re igaz, de az A és Z-forma esetén a bázispárok nem pontosan merőlegesen helyezkednek el a hélix hossztengelyére, hanem attól 19° ill. 9°-kal eltérnek.

kapcsolódnak. A kettős hélix ***jobbmenetes*** (*right-handed*), azaz a csavarulatok az óramutató járásával megegyező irányban futnak le a molekula hossztengelye körül.



12.9. ábra. *A DNS molekula komplementer szálai antiparallel orientációjúak.* Nyilak jelzik a két szál 5'-3' irányát. A foszfátok (P) kapcsolják a dezoxiribóz (vízszintes vonal) 3' szénatomját a szomszédos dezoxiribóz 5' szénatomjához. Kétoldalt képletekkel mutatjuk be a cukor-foszfát lánc két különböző orientációját.

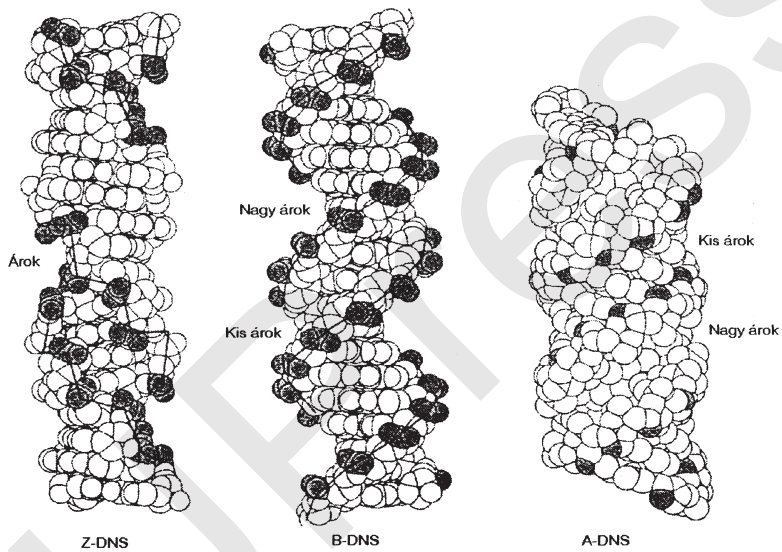


12.10. ábra. *A bázispárok merőlegesen helyezkednek el a DNS molekula hossztengelyére.*

A Watson-Crick modell által leírt másodlagos szerkezetet ***B-DNS***-nek nevezzük. Fiziológiás körülmények között a DNS ebben a formában van. Léteznek azonban alternatív másodlagos szerkezetek, melyek csak bizonyos körülmények között alakulnak ki, s a molekulának csak egy kis részét érintik. Ilyenek az ***A-DNS*** és a ***Z-DNS***. Az A-forma jellemző a duplahelikális RNS és a DNS-RNS

DUPress

hibridek másodlagos szerkezetére (12.11. ábra). Ez vastagabb, kompaktabb struktúra, s a nagy barázda kevésbé hozzáférhető. A Z-DNS különlegessége, hogy ***balmenetes*** (*left-handed*), ebben a legtöbb (12) az egy csavarulatra eső bázisok száma, s a legkisebb az átmérője a hélixek közül. A Z onnan ered, hogy a cukor-foszfát gerinc cikkcakkos (angolul *zigzag*) útvonalat ír le, ellentétben a B-DNS-sel (12.11. ábra). Alternáló purin-pirimidin bázisokból (pl. GCGC v. ACAC) álló polimerből alakulhat ki magas sókoncentrációjú közegben. Még nem ismert, hogy *in vivo* létrjöhet-e, s hogy a Z-DNS-nek mi a jelentősége. Mindenesetre, a DNS másodlagos szerkezetének fontos szerepe van a szabályozó fehérjékkel való kölcsönhatásban.



12.11. ábra. *A kettős hélix különböző típusai.* A foszfát csoportokat összekötő vonal a B-DNS esetében törés nélküli, sima lefutású, míg a Z-DNS esetében cikkcakkos. Míg a B-DNS-nél nagy barázda és kis barázda (vagy árok) különböztethető meg, a Z-DNS-nél csak egyfajta barázda van.

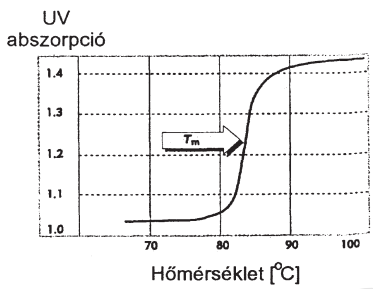
DENATURÁCIÓ, RENATURÁCIÓ ÉS HIBRIDIZÁCIÓ

A bázispárosodás jelensége nem kizárólag a DNS dupla hélix sajátossága, előfordulhat egyetlen RNS molekulán belül, RNS molekulák között, sőt DNS és RNS között is. A ***komplementaritás*** elve alapvető jelentőségű minden folyamatban, melyben nukleinsavak részt vesznek. Hogy a DNS funkcióját elláthassa, helyenként és időnként meg kell

DUPLEX

szűnnie a két lánc közötti bázipárosodásnak, lokálisan szét kell válnia a két szálnak (replikáció, transzkripció). Másrészt az egyfonalas nukleinsavak (pl. mRNS, tRNS) úgy működnek, hogy más RNS molekulákkal képeznek bázispárokat (pl. transzláció).

A bázispárok közötti hidrogénkötések felszakítása és újra kialakítása *in vitro* is lehetséges. Ha tisztított DNS oldatát alacsony sókoncentráció mellett melegítjük, a DNS két szála elválik egymástól. Ez a folyamat a ***DNS denaturáció***. A folyamat jól követhető spektrofotometriával. A DNS 260 nm-en mért extinkciója (UV-abszorbciója) egy szűk hőmérsékleti tartományon belül mintegy 30-50%-kal megnő (12.12. ábra).



12.12. ábra. *A DNS denaturációját az UV-abszorbció növekedése kíséri.* Az x-tengely a hőmérsékletet mutatja °C-ban, az y-tengely pedig a 260 nm-en mért extinkciót relatív egységekben. (A DNS szobahőn mért extinkcióját választottuk egységnek, hogy a növekedés mértékét egyszerűbben tudjuk bemutatni). A T_m az extinkciónövekedés 50%-ához tartozó hőmérsékleti érték.

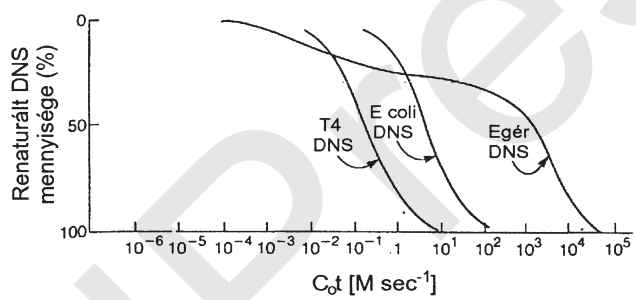
Ennek magyarázata az, hogy a szálak szétválása következtében az UV-elnyelő részecskék száma megnő. Azt a hőmérsékletet, melyen az extinkció növekedése fele a maximálisnak, a vizsgált DNS ***T_m pont***jának[11] nevezzük. A T_m pont értéke a GC bázispárok arányától függ: minél több GC bázispár van a DNS-ben, annál magasabb a T_m pontja. A GC párokat 3 hidrogénkötés tartja össze, ezért ezek stabilabbak az AT pároknál, melyek között csak 2 hidrogén hidat találunk. A fiziológiásnak megfelelő körülmények között a DNS T_m pontja 85-95 °C közé esik, ami az mutatja, hogy a DNS meglehetősen stabil az élő sejtre jellemző hőmérsékleten. Erősen lúgos közegben a DNS szobahőn is denaturálódik.

A denaturált DNS egyfonalas polinukleotid láncai megfelelő körülmények között képesek komplementer párjaikat megtalálni és azokkal újra kialakítani a kettős hélix szerkezetet. Ezt a folyamatot ***renaturáció***nak nevezzük. A renaturáció révén információt lehet nyerni egy organizmus DNS-ében jelenlevő különböző szekvenciák mennyiségéről.

A renaturációhoz szükséges hőmérsékletnek a T_m pont közelében kell lennie, de csak annyira, hogy a DNS egésze dupla hélix formájában létezhessen. A renaturáció

11 T_m: melting temperature = „olvadási" hőmérséklet. A DNS denaturációjának az angol szakirodalomban melting (olvadás) a szinonimája. A T_m pont tulajdonképpen a görbe inflexiós pontját jelenti.

mértéke a DNS koncentrációjának és a (reakció)időnek a függvénye. Minél kevesebb egymástól különböző szekvencia van egy organizmus DNS-ében, azonos DNS-mennyiség esetén annál nagyobb egy-egy szekvencia koncentrációja. Az *Escherichia coli* genomja kb. 25x nagyobb mint a T4 fágé. Ha mindkét DNS-ből azonos koncentrációjú oldatot készítünk, az *E. coli* DNS renaturációja sokkal lassabban fog bekövetkezni mint a T4 fág DNS-é. Ha a renaturáció %-os mértékét a kezdeti koncentráció (C_o) és a reakcióidő (t) szorzatának függvényében ábrázoljuk, a 12.13. ábrán látható képet kapjuk. Az a C_ot érték, amelynél a DNS fele renaturálódott – $C_ot_{1/2}$ – jellemzi az adott organizmus DNS-ének szekvencia-komplexitását. Ez az érték *E. coli* DNS-re kb. 25-szöröse a T4 fág $C_ot_{1/2}$ értékének, azaz a bakteriális DNS-ben 25x annyi egyedi szekvencia van, mint a fág DNS-ben. Az egér DNS renaturációja bonyolultabb görbét ír le (12.13. ábra), melynek első szakasza a magas példányszámú ismétlődő szekvenciák renaturációját tükrözi (szatellita DNS-frakció), amelyet a közepes gyakorisággal ismétlődő szekvenciák és az egyedi szekvenciák családja követ. Utóbbi $C_ot_{1/2}$ értéke 600-szorosa az *E. coli*-énak. (Ez nem jelenti azt, hogy a gének száma is 600-szoros lenne, mert az emlős DNS nagy része nem kódoló szekvencia.)



12.13. ábra. *T4 fág, Escherichia coli és egér DNS renaturációs görbéi.* Az x-tengelyen a kezdeti DNS koncentráció és a reakcióidő szorzatát (C_ot), míg az y-tengelyen a renaturált DNS %-os arányát tüntettük fel. A szokatlan ábrázolási mód (a magasabb renaturációs %-ot jelentő pontok lejjebb helyezkednek el) azt tükrözi, hogy a renaturáció során a DNS UV-abszorbciója csökken.

A renaturációval mechanizmusát tekintve azonos folyamatot jelent a ***DNS hibridizáció.*** A különbség abban van, hogy a renaturációban olyan komplementer szálakból alakul vissza a kettős hélix, amelyek eredetileg is összetartoztak, míg hibridizációval különböző eredetű polinukleotid láncok komplementaritását vizsgálhatjuk. A reakció elve az, hogy két egyfonalas nukleinsav-preparátumot összehozunk, s mérjük a keletkezett duplahelikális termék mennyiségét. A hibridizációnak két változata van: oldatban történő és filter-hibridizáció.[12] Utóbbi a gyakrabban használt módszer. A denaturált DNS-t

[12] Filter: speciális szűrőpapír, vagy nylon membrán.

filteren rögzítjük, majd oldatban hozzáadjuk a másik denaturált DNS v. RNS preparátumot. Utóbbi radioaktív (v. nem-radioaktív, kémiai) jelölést hordoz. A filteren megkötődött radioaktív DNS mennyisége hűen tükrözi a két nukleinsav szekvencia közötti komplementaritás mértékét. A hibridizáció fontos része a rekombináns DNS (génsebészeti) technikáknak is (l. 18. fejezet), az ún. *in situ* hibridizációt pedig kiterjedten használják a különböző mikroszkópos módszereknél.

A DNS SZUPERHELIKÁLIS SZERKEZETE

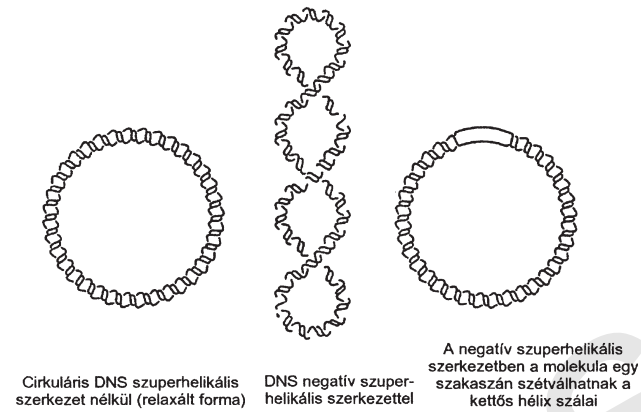
A duplahelikális szerkezet a DNS-t mint lineáris molekulát írja le. *In vivo* viszont a DNS molekulák sok esetben körré záródnak, pl. vírusok, fágok, plazmidok és a baktériumok kromoszómája esetén. Az eukarióta sejtek hatalmas DNS molekulái (de a baktériumoké is, l. BiolJegyz 3. fejezet) hurkokat képeznek. Egy-egy hurok kezdetét és végét fehérjék rögzítik, így a hurok is a cirkulárissal analóg szerkezetnek fogható fel.

Szuperhelikális szerkezet akkor alakul ki, ha a DNS kettős hélixet – saját hossztengelye körül – megcsavarjuk (sodorjuk). A szuperhelikális szerkezet nélküli DNS molekula ***relaxált*** állapotban van. A szuperhelikális csavarulatok a molekulát feszülés alá helyezik. Ez a struktúra csak kovalensen körré zárt molekulákon alakulhat ki, vagy ha a DNS olyan hurkokban foglal helyet, melyeknek végpontjai rögzítettek. Ha valamelyik szálon törés van a polinukleotid láncban, a magasabbrendű struktúra nem jöhet létre, ill. letekeredés révén megszűnik.

Nem mindegy az, hogy a dupla hélix „megcsavarása" milyen irányban történik. Ha a csavarodás ellentétes irányú a dupla hélix jobbmenetes csavarulatával, ***negatív szuperhelikális szerkezet***ről (*negative supercoil*), ill. ***negatív szuperhelikális feszülés***ről beszélünk. A feszülés befolyással van a dupla hélixre, fellazítja annak szerkezetét, csökkenti az egységnyi DNS-hosszra (pl. 100 bázispárra) eső helikális csavarulatok számát. Ha a feszülés elég nagy, lokálisan még a két polinukleotid szál szétválása is bekövetkezhet (12.14. ábra). A negatív szuperhelikális szerkezet tehát megkönnyíti a dupla hélix lokális szétválását, aminek valószínűleg fontos szerepe van a DNS-replikációban és a transzkripcióban.

Ha a szuperhelikális csavarulat azonos irányú a dupla hélix jobbmenetes csavarulatával, ***pozitív szuperhelikális szerkezet***ről (*positive supercoil*) beszélünk, melyben a feszülés még jobban feltekeri egymásra a két láncot. Ennek *in vivo* szerepe nem ismert.

DigiBook



12.14. ábra. *Ha a dupla hélixet saját tengelye körül megcsavarjuk (sodorjuk) szuperhelikális szerkezet jön létre.* Negatív szuperhelikális struktúrában a molekula egy szakaszán megszűnhet a bázispárosodás.

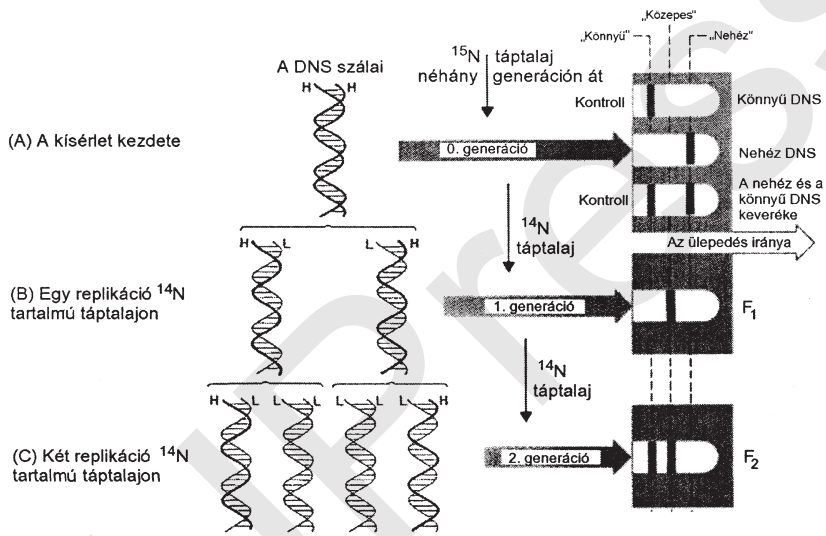
A szuperhelikális struktúrát enzimek – a ***topoizomerázok*** – hozzák létre, ill. képesek megváltoztatni. Egy kovalensen zárt DNS molekula szuperhelikális struktúráját csak úgy lehet megváltoztatni, ha az enzim átmenetileg megszakítja egyik vagy mindkét polinukleotid szál folytonosságát, változtat a csavarulatok számán (+ v. – irányban), s utána összeköti a végeket. A relaxált forma szuperhelikálissá alakításához energiára (ATP) van szükség.

Replikáció: DNS → DNS

A DNS kettős hélix komplementer szerkezete magában hordozza a replikáció mechanizmusának magyarázatát is. Watson és Crick eredeti elképzelése szerint a replikáció során a kettős hélix szálai szétválnak, s mindkét szál ***templát***ként (mintaként) szolgál az új szál szintéziséhez (12.15. ábra), amely nukleotidok beépülésével jön létre az eredeti, templát-szállal szemben. A folyamat eredménye: egy DNS dupla hélixből vele teljesen azonos két dupla hélix jön létre. Hogy a DNS valóban így replikálódik, Meselson és Stahl bizonyították a következő módon: *E. coli* baktériumot több generáción keresztül olyan táptalajon tenyésztettek, mely a nitrogén nehéz, ^{15}N izotópját tartalmazta a

DUPress

normál ^{14}N helyett. A baktérium beépítette bázisaiba a nehéz nitrogénatomokat, ezért DNS-e nehezebb (nagyobb sűrűségű) lett, mint a normál táptalajon nőtt baktérium DNS-e. A sűrűségkülönbség CsCl gradiensen egyensúlyig centrifugálva kimutatható. A kísérlet kezdetén a DNS mindkét szála nehéz volt (12.15A. ábra). A baktériumsejteket ezután egy generáción keresztül normál ^{14}N tartalmú táptalajon növesztették. Ha a replikáció valóban úgy történt, ahogy feltételezték, akkor egy új dupla hélix egy nehéz és egy könnyű láncot kell tartalmazzon, s így köztes sűrűségűnek kell lennie. A kísérlet során köztes sűrűségű DNS molekulákat lehetett detektálni (12.15B. ábra).



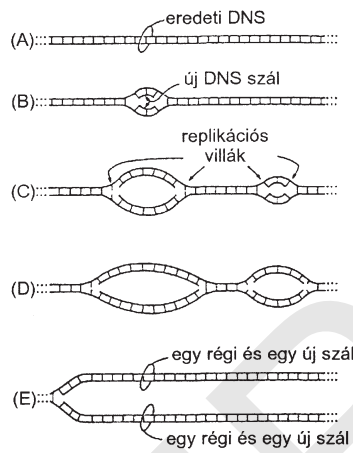
12.15. ábra. *A Meselson-Stahl kísérlet.* H (heavy) az 15N tartalmú nehéz DNS-szálat, L (light) az 14N tartalmú könnyű DNS-szálat jelöli. A kísérlet azután kezdődött, hogy E. coli-t 15N tartalmú táptalajon növesztettek több generáción át. A DNS molekulák sűrűségét CsCl-os sűrűségi gradiens centrifugálással határozták meg.

Két replikációs ciklus után pedig a DNS fele köztes sűrűségűnek, fele könnyűnek bizonyult, ahogy várható volt (12.15C. ábra). A kísérlet igazolta, hogy a replikáció ***szemikonzervatív*** módon történik, az utódmolekulák egyik szála a szülői molekulából származik, a másik újonnan szintetizálódik.

DUPress

REPLIKÁCIÓS BUBORÉKOK ÉS VILLÁK

Míg az *E. coli* cirkuláris kromoszómáján a replikáció egyetlen helyről indul ki, magasabb rendűekben az egy kromoszómát alkotó egyetlen DNS molekula megkettőződése is sok helyen kezdődik. A két szál lokális szétválása exponálja a bázisszekvenciákat, melyekkel szemben enzimek komplementer nukleotidokat építenek be (12.16. ábra).

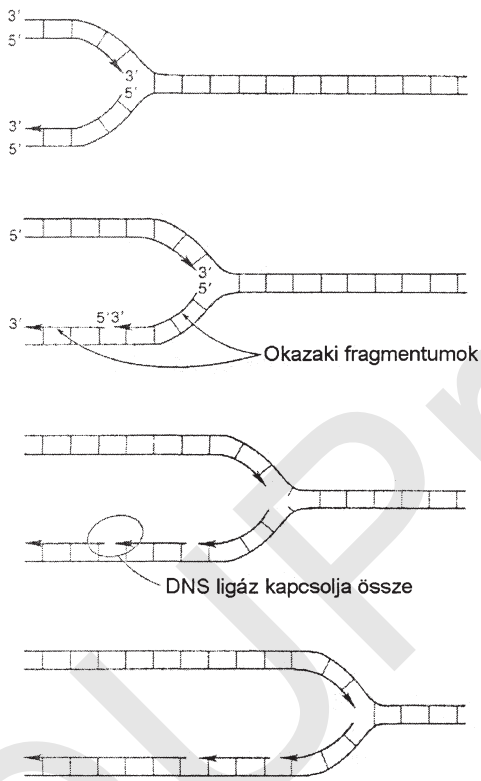


12.16. ábra. *Eukarióta DNS replikációja.* (B) A replikációs origónál a szülői DNS szálai szétválnak, s új DNS-szálak szintézise indul meg mindkét irányban. (C) Az így képződött replikációs „buborék" két végén egy-egy replikációs villa van. Egy kromoszómán több helyen kezdődhet meg egyszerre a replikáció. (D) A „buborékok" egyre nagyobbak lesznek, végül összeolvadnak (E). A keletkező két utódmolekula az egyik, ill. másik utódsejtbe kerül a sejtosztódás során.

Elektronmikroszkóppal a két szál lokális szétválása buborékhoz hasonló képződményként figyelhető meg. Egy replikációs buborék egy replikációs egységnek v. ***replikon***nak felel meg, eukarióta kromoszómákon több száz van belőlük. A letekeredés feszülést okoz a DNS-ben, hasonlóan ahhoz, amikor egy kötél rostjait próbáljuk szétválasztani. A feszülést topoizomeráz enzimek oldják fel, behasítva a cukor-foszfát gerincet, majd újra egyesítve azt. Közben az egyik szál a másik körül elfordulhat, enyhítve a feszülést.

A DNS replikációjához ***DNS polimeráz*** enzimre van szükség, amely kiválasztja, helyére teszi az új nukleotidot és kovalensen hozzáköti a polinukleotid lánc végéhez. Érdekes vonása a DNS-szintézisnek, hogy új nukleotidot csak a lánc 3′ végéhez tud az enzim hozzákötni. A dupla hélix két szála ellentétes orientációjú, ezért a képződő két új szál sem szintetizálódhat ugyanabban az irányban. Ha szemügyre veszünk egy Y alakú replikációs villát (12.17. ábra), látható, hogy az egyik (itt: felső) ágon folyamatosan történhet az új lánc szintézise (5′-3′ irányban), míg a másik (itt: alsó) ágon először meg kell várni, hogy a templát egy szakasza szabaddá váljon, utána szakaszosan és – a repli-

kációs villa mozgási irányához képest – visszafelé folyhat a szintézis. Az így szintetizálódott DNS szakaszokat Okazaki fragmentumoknak nevezzük. Hosszuk emlős sejtben körülbelül 150 bázispár. Az Okazaki fragmentumok összekapcsolását egy enzim, a ***DNS-ligáz*** végzi.



12.17. ábra. *Egy replikációs villa szerkezete.* A DNS polimerázok csak a lánc 3' végén levő nukleotidhoz tudnak újabb nukleotidokat kapcsolni. Mivel a két szál ellentétes irányú, csak az egyik új szál szintézise lehet folyamatos („vezető" szál), a másiké szakaszosan valósul meg („késő" szál). A „késő" szál rövid Okazaki fragmentumok formájában jön létre. Ezek a replikációs villa haladási irányával ellentétes irányban „visszafelé" szintetizálódnak.

A DNS polimerázok egy másik érdekes sajátossága, hogy nem képesek új láncot kezdeni, csak egy meglevő polinukleotid lánc végéhez adnak hozzá új nukleotidokat. Az új szál szintézisét egy RNS polimeráz (a ***primáz***) kezdi, ez a templáttal komplementer rövid RNS szakaszt szintetizál. Ehhez az RNS ***primer***hez kapcsol újabb nukleotidokat a DNS polimeráz. Az RNS primer eltávolítását egy másik, 5'-3' exonukleáz aktivitással[13] rendelkező enzimnek kell végeznie, majd a DNS polimeráz tölti ki a folytonossági hiányt, s a DNS-ligáz kapcsolja össze a szomszédos fragmentumokat.

Magasabbrendűekben a DNS replikációja a sejtosztódást megelőzően, a sejtciklus S-fázisában történik. A pontos és hű replikáció az előfeltétele annak, hogy a genetikai

---

[13] Az 5'-3' exonukleáz aktivitás nukleotidokat képes eltávolítani a polinukleotid lánc 5' végéről.

anyag hibátlanul kerüljön át az utódsejtekbe, ill. öröklődjön egyik generációról a másikra. Ezt biztosítja a DNS ***polimerázok korrekciós funkció***ja (*proofreading*). Ez azt jelenti, hogy a DNS polimeráz mielőtt a következő nukleotidot hozzákapcsolná a növekvő lánc 3' végéhez, „megvizsgálja", hogy az előző nukleotid pontosan illeszkedik-e a párjával. Amennyiben nem, saját 3'-5' exonukleáz aktivitása[14] révén eltávolítja a hibásan beépített nukleotidot. A korrekciós funkció a hibák gyakoriságát 10^{-10}-re csökkenti, ami azt jelenti, hogy a DNS polimeráz átlagosan egyszer hibázik a $6 \cdot 10^9$ bázispárnyi humán DNS replikációja során. Egyetlen sajtóhiba egy 500 oldalas ($3 \cdot 10^6$ karaktert tartalmazó) könyvben kb. 2000-szer több tévesztést jelent, mint a replikáció hibagyakorisága.

A BAKTERIÁLIS DNS REPLIKÁCIÓJÁHOZ SZÜKSÉGES FEHÉRJÉK

A replikációnak van számos olyan vonatkozása, amelyben a pro- és eukarióta sejtek eltérnek egymástól. *E. coli*-ban három különböző DNS polimeráz enzimet találtak (12.2 táblázat). Közülük a sok alegységből álló ***DNS polimeráz III*** az, amelynek központi szerepe van a DNS replikációjában. Ez végzi *mindkét* DNS szál szintézisét. Az először felfedezett DNS polimeráz I különleges sajátossága, hogy 5'-3' exonukleáz aktivitással is rendelkezik, s a DNS javításában (*repair,* l. alább) játszik szerepet, csakúgy mint a DNS polimeráz II. A baktérium-kromoszóma egyetlen replikációs egység v. replikon, megkettőződésének kiindulási pontja a replikációs ***origó***.

A replikáció iniciációja az *E. coli* kromoszóma replikációs origójánál (*oriC*) megy végbe. Ebben döntő szerepe van a ***DnaA*** fehérjének, amely az iniciációra specifikus. A DnaA fehérje *oriC*-hez való kötődésének következményeként egy rövid AT-gazdag régió felnyílik (egyfonalassá válik). Ezután a ***helikáz***[15] (a kettős hélixet letekerő enzim) kapcsolódik, replikációs villa képződik, majd elkezdődik az RNS primer szintézise, amit a ***primáz***[16] végez. Ez a transzkripciót végző RNS polimeráztól különböző enzim. A fentieken kívül szükséges még az iniciációhoz a ***giráz*** (egy topoizomeráz), amely a kettős hélix letekeredése következtében fellépő feszülést szünteti meg, valamint az egyfonalas DNS-hez kötődő és azt stabilizáló ***SSB***[17] és más fehérjék, melyeknek felsorolása meghaladja jelen jegyzet kereteit. (Az antibiotikumok között vannak a bakteriális giráz fehérjét specifikusan gátlók, ilyenek pl. a nalidixsav, oxolinsavszármazékok, coumermycin és a novobiocin.)

---

14 A 3'-5' exonukleáz aktivitás nukleotidot képes eltávolítani a polinukleotid lánc 3' végéről.

15 *E. coli*ban DnaB fehérje.

16 *E. coli*ban DnaG fehérje.

17 *Single-Strand Binding protein* = egyfonalas DNS-t kötő fehérje

A replikáció iniciációja replikononként és replikációs ciklusonként egyszer játszódik le. Az így létrejött replikációs villákban ezzel megkezdődik az ***elongáció***. A „vezető" szálon a szintézis folyamatos (a szintézis előtte jár a szakaszosan szintetizálódó „késő" szálénak). A szakaszosan szintetizálódó szálon ahány Okazaki fragmentum van, annyi lánckezdő lépésre v. ***priming***ra van szükség. Ezt is a fent említett enzimek (helikáz, SSB, primáz) végzik el.

12.2. Táblázat. *E. coli DNS polimerázai*

	DNS polimeráz I	DNS polimeráz II	DNS polimeráz III
Szerkezet			
Molekulaméret (kD*)	109	90	900
Összetétel	Monomer	Monomer	Multimer
Molekula/sejt	400	nem ismert	10-20
Enzimaktivitás			
5'-3' elongáció	+	+	+
3'-5' exonukleáz	+	+	+
5'-3' exonukleáz	+	–	–
Mutánsok			
Mutáns lokuszok	*polA*	*polB*	*dnaE (polC), dnaN, dnaX, dnaQ, dnaT*
Mutáns fenotípus	Defektív repair	Repair-mutáns	Nincs replikáció
Letalitás	Csökkent életképesség**	Nincs hatása	Feltételes letális

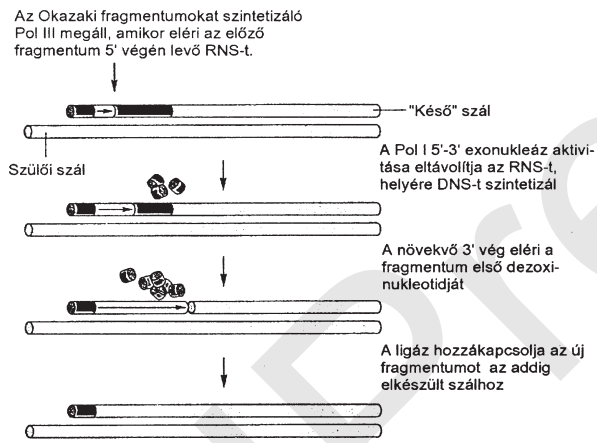
* kilodalton

** Csak akkor, ha az 5'-3' exonukleáz aktivitást érinti a mutáció.

A primer kb. 10 bázisnyi, ezt használja kiindulási pontként a ***DNS polimeráz III***, s elkészíti az Okazaki fragmentumot, melynek hossza prokariótákban 1000-2000 nukleotid. A DNS polimeráz III addig folytatja a szintézist, míg el nem éri az előző Okazaki fragmentum elejét (5' végét). Itt a ***DNS polimeráz I*** kap szerepet: 5'-3' exonukleáz aktivitása révén eltávolítja a primer nukleotidjait, s ezzel egyidejűleg DNS-t szintetizál helyette (12.18. ábra). Ezután a ***DNS ligáz*** összekapcsolja a szomszédos fragmentumokat.

DUPress

Az ún. ***„gördölő kerék" modell*** (*rolling circle*) a DNS molekulák replikációjának egy különleges formája. Jellemzője, hogy csak cirkuláris molekulákon fordul elő és a replikációs villában csak az egyik szálon folyik szintézis. Első lépésben az egyik szálat egy enzim (endonukleáz v. iniciációs protein) behasítja. Az így létrejött szabad 3′ véget a DNS polimeráz primerként tudja használni, s a szintetizálódó új szál az eredeti szülői szál 5′ végét elmozdítja helyéről (12.19. ábra). A replikációs villa a körön körbejár, akár többször is. A letekeredő szál pedig annyi példányban tartalmazza a cirkuláris DNS szekvenciáját, ahányszor a „kerék" körbefordult. A letekeredő szál szakaszos szintézis révén kiegészülhet duplahelikális formává.

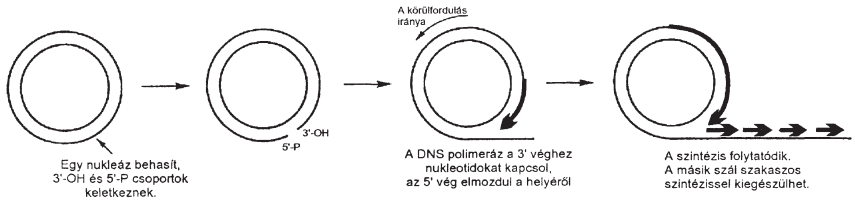


12.18. ábra. *Az RNS primer eltávolítása és az Okazaki fragmentumok összekapcsolása.* Az RNS-t sötétebb árnyalat jelöli. A replikációs villa (nincs ábrázolva) balra található. Az ábrán látható apró láncdarabok a DNS polimeráz I által eltávolított ribonukleotidokat jelölik.

A modellnek többféle változata van: (1) Egyes bakteriofágoknál minden körülfordulásnál lehasad az 5′ végből a fággenomnak megfelelő hosszúságú DNS, amely vagy fágfehérjékbe pakolódik, vagy gyűrűvé záródva templátként szolgál újabb replikációs ciklusokban. (2) Más esetekben a kerék többszöri körülfordulása az eredeti genomot több példányban tartalmazó multimert hoz létre, amely aztán egységnyi genomokra darabolódik.

Ugyanez a mechanizmus játszik szerepet a karmosbéka (*Xenopus laevis*) petesejtjeinek érése során. A kromoszomális DNS-ben tandem elhelyezkedő rRNS gének közül egy kihasad és gördülő kerék mechanizmussal megsokszorozódik. Így egy hatalmas, csak rRNS géneket tartalmazó plazmid keletkezik. Más eukarióta fajokban is figyeltek meg hasonló jelenségeket (génamplifikáció).

DUPress



12.19. ábra. *A replikáció „gördülő kerék" mechanizmusa.* Az újonnan szintetizált DNS-t a vastagabb vonal reprezentálja.

Konjugációnál (l. 15. fejezet) is hasonló módon játszódik le az F-plazmid átvitele a donor sejtből a recipiensbe, de a replikáció itt egy körülfordulás után leáll, s a plazmid csak egy példányban kerül át az F^- sejtbe.

AZ EUKARIÓTA DNS-REPLIKÁCIÓ EGYEDI SAJÁTOSSÁGAI

Eukarióta sejtben ötféle DNS polimeráz enzimet ismerünk (13.3. táblázat). A DNS-replikáció szempontjából legjelentősebbek az először megismert ***DNS polimeráz*** α és a ***DNS polimeráz*** δ. A DNS polimeráz α 4 alegységből áll, primáz aktivitással rendelkezik, de nincs 3'-5' exonukleáz aktivitása (korrekciós funkció). A DNS polimeráz δ-nak van 3'-5' exonukleáz aktivitása, s működéséhez egy fehérje-faktorra, a PCNA-ra[18] van szükség. A ***DNS polimeráz*** ε a DNA javításában (*repair*) játszik szerepet, hogy a replikációhoz szükséges-e, még nem tisztázott. (Szekvencia-homológia igazolja, hogy a DNS polimeráz α, δ, és ε közös eredetűek, és a bakteriális DNS polimeráz II-ből származtathatók. Az e három enzimből álló α-családot az aphidicolin nevű antibiotikummal szembeni rezisztencia különbözteti meg a többi DNS polimeráztól.) A ***DNS polimeráz*** β ugyancsak a javításhoz szükséges, míg a ***DNS polimeráz*** γ a mitokondriális replikációs enzim.

Az eukarióta DNS replikációjához is ugyanazok az enzimaktivitások szükségesek, mint a prokarióta DNS-éhez, ugyanakkor jelentős különbségek is vannak. Míg az *E. coli* kromoszomális DNS mindkét szálát ugyanaz az enzim, a DNS polimeráz III szintetizálja, az eukarióta DNS replikációjában két enzimnek, a DNS polimeráz α-nak és δ-nak van fontos szerepe. A replikációs villa kialakításában itt is szükségesek topoizomerázok, helikáz és az SSB eukarióta megfelelője az RPA (replikációs protein A).

---

18 A fehérje tradícionális neve: *Proliferating Cell Nuclear Antigen*, azaz proliferáló sejtekre jellemző magi antigén

Pécs Press

A „vezető" szálon replikononként egyszer a DNS polimeráz α primáz aktivitása révén RNS-primert hoz létre, majd rövid iniciációs DNS szakaszt szintetizál. Ezt használja primerként a DNS polimeráz δ, amely folyamatosan haladva megszintetizálja a „vezető" szálat.

12.3 Táblázat. *Eukarióta DNS polimerázok*

DNS polimeráz	α	δ	ε	β	γ
Lokalizáció	mag	mag	mag	mag	mitokondrium
Funkció	replikáció	replikáció	repair replikáció(?)	repair	replikáció
Katalitikus alegység (kD)	165	125	255	40	140
Asszociált alegységek száma és funkciója	2 primáz 1 nem ism.	1 nem ism. PCNA-igényes	1 nem ism.	–	?
3'-5' exonukleáz	–	+	+	–	+
Aphidicolin-érzékenység	+	+	+	–	–

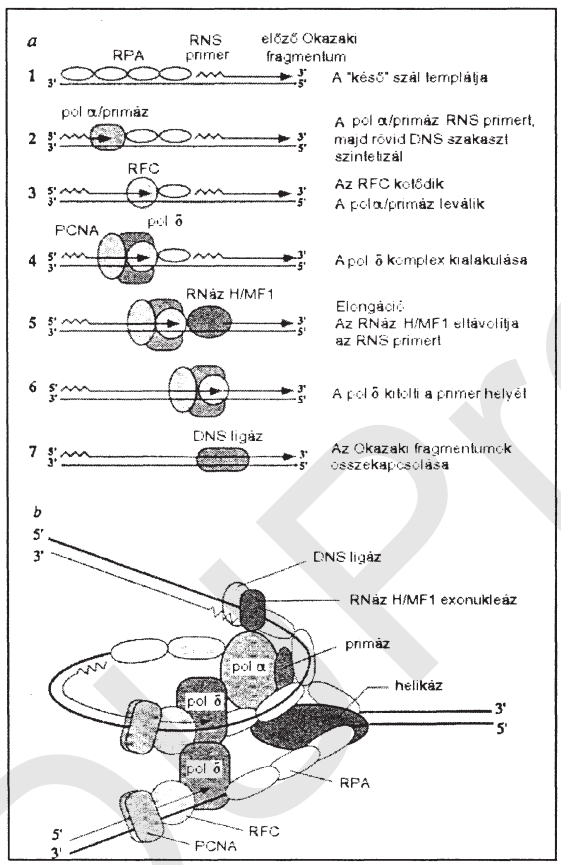
A „késő" szálon minden egyes Okazaki fragmentum szintézisénél a fent leírt folyamat játszódik le, tehát a DNS polimeráz α és δ is szükséges hozzá (12.20a. ábra). Az α-ról δ-ra történő átkapcsoláshoz egy további replikációs faktor (RFC), a polimeráz δ folyamatos haladásához pedig PCNA is szükséges. Az RNS-primer eltávolítását 5'-3' exonukleázok (pl. RNáz H) végzik, az RNS helyére a polimeráz δ szintetizál DNS-t, majd a ligáz összekapcsolja a fragmentumokat.

A replikációs villában tehát egy molekula DNS polimeráz α és két molekula DNS polimeráz δ dolgozik koordináltan (12.20b. ábra).

Ha összehasonlítjuk a prokarióta és eukarióta replikációs komplex működését, észrevehetjük, hogy ugyanazok a funkciók megvannak mindkettőben, de ezeket különböző fehérjék kivitelezik. Így pl. a helikáz szerepét a DnaB protein, ill. a T antigén[19], a primáz funkciót a DnaG, ill. a polα/primáz komplex látja el pro, ill. eukariótáknál. A fő elongációs enzim a sok alegységből álló DNS polimeráz III, ill. a pol δ. Az RNS primer

[19] Az eukarióta replikációra érvényes ismereteink nagy része az SV40 vírus DNS tenyésztett HeLa sejtekben történő replikációjának vizsgálatából származik. A T antigén ebben kulcsszerepet játszik, mint iniciációs fehérje és helikáz.

eltávolítására a pol I, ill. az RNáz H végzi. Van még egy eddig nem említett fontos funkció a replikációnál: egy ún. „csúszó gyűrű”[20] amely körülöleli a DNS-t és nem engedi leesni a polimerázt a templátról. Ez a folyamatos szintézis nélkülözhetetlen előfeltétele. Prokariótákban a pol III β alegysége, eukariótáknál a PCNA, a pol δ kofaktora látja el ezt a feladatot.



12.20. ábra. *Eukarióta DNS replikációja.* (a) A „késő” szál szintézisének mechanizmusa (magyarázatot l. a szövegben). (b) A replikációs villa modellje. A „késő” szálon (fent) a polimeráz α/primáz komplex készül elkezdeni az RNS primer és iniciátor DNS szintézisét. Az ábrázolt két polimeráz δ közül az egyik a „késő” szál Okazaki fragmentumát, míg a másik a folyamatos „vezető” szálat szintetizálja. A modellen a „késő” szál hurkot képez, mert így könnyebben elképzelhető, hogy mindkét szál szintézise azonos irányban halad.

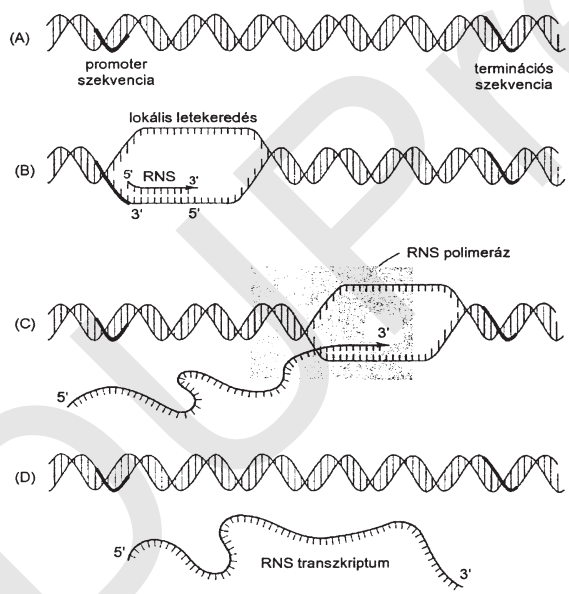
[20] Sliding clamp.

DUPRESS

Transzkripció: DNS → RNS

A DNS-ben kódolt genetikai információ irányítja az élő szervezet fejlődését és életműködéseit. Az információ kifejeződésének két fő lépése van. Ezek közül az első az ***átírás (transzkripció)***, mely során a DNS bázisszekvenciái RNS komplementer szekvenciáiba íródnak át. A meghatározott kromoszomális régiókon szintetizált RNS molekulák – eukarióta sejtben – a maghártyán át kijutnak a citoplazmába. A második lépés, a ***transzláció*** során, az RNS bázissorrendjében kódolt információt a riboszómák aminosav szekvenciára fordítják le, azaz polipeptidet, fehérjét szintetizálnak.

A transzkripció és transzláció találó elnevezések. A transzkripció jelentheti pl. egy szóban elhangzó szöveg írásban való rögzítését, vagyis információt konvertál egyik formából a másikba – ugyanazon a nyelven belül. A transzláció egyik nyelvről a másikra való fordítást jelent, ezzel analóg módon nukleotid szekvencia fordítását aminosav sorrendre.



12.21. ábra. *A transzkripció folyamata.* (A) A transzkripció kezdete előtt a DNS natív állapotban van. (B) Az RNS polimeráz kötődése után a kettős hélix lokálisan felnyílik, s a DNS egyik szálával komplementer RNS szintetizálódik 5'-3' irányban. (C) Az RNS nem marad a DNS templáthoz kötve, a szintézis előrehaladásával párhuzamosan leválik róla. A kettős hélix felnyílása következtében létrejött buborék végighalad a DNS-en az RNS polimerázzal együtt. (D) Mikor az RNS polimeráz eléri a terminációs helyet, mind az enzim, mind az RNS termék leválik a DNS-ről.

A transzkripció a replikációhoz hasonlóan a komplementaritás elvén alapul, abban különbözik tőle, hogy a felépülő új polinukleotid lánc RNS. A transzkripciót az ***RNS polimeráz*** végzi, amely a DNS lánc mentén azzal komplementer szekvenciájú polinuk-

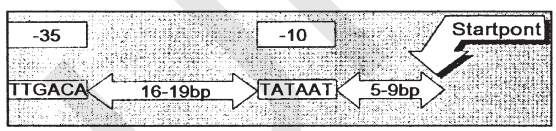
DUPress

leotid láncot szintetizál ribonukleotidok összekapcsolásával. A folyamat általános jellemzőit mutatja a 12.21. ábra.

A DNS meghatározott szakaszait, melyek egy-egy funkcióval rendelkező fehérje- v. RNS-molekulát kódolnak, ***gén***eknek nevezzük. A genetikai információ kifejeződésének folyamatában a gének transzkripciója az első lépés. A biológia fejlődése során – érthetően – hamarabb ismertük meg az egyszerűbb prokarióta sejtek génjeit és azok kifejeződésének jellegzetességeit. Ebben a fejezetben elsősorban az *E. coli* baktérium vizsgálatával nyert eredményeket tárgyaljuk, de igyekszünk csak az általánosítható, széles körben érvényes adatokra koncentrálni. Az eukarióta génkifejeződés sajátosságait l. a 16. fejezetben.

A transzkripció folyamata három részre osztható: (1) iniciáció, (2) elongáció, (3) terminációó.

A transzkripció iniciációja azt jelenti, hogy az RNS polimeráz kapcsolódik egy, a gén előtt elhelyezkedő specifikus szekvenciához, a ***promoter***hez. Az első bázispárt, amely ténylegesen átírásra kerül ***transzkripciós startpont***nak nevezzük. Egy tipikus prokarióta promoter 2 szekvenciából áll: az egyik a –35 régió, ami a startpont előtt kb. 35 bázispárnyira elhelyezkedő hexanukleotidot jelent, a másik a –10 régió v. Pribnow-box, ami a startponttól kb. 10 bázispárnyira levő hexanukleotid szekvencia (12.22. ábra). Ezen szekvenciák nagyon sok prokarióta gén esetén konzerváltak (azonosak ill. hasonlóak). Több mint 100 promoter adataiból meghatároztak egy ún. ***konszenzus szekvenciá***t (12.22. ábra), amelytől az egyes konkrét szekvenciák legfeljebb 1-2 helyen térnek el. A rövid konszenzus szekvenciák konzervativizmusa a regulációs helyek sajátossága mind a prokarióta, mind az eukarióta genomban.



12.22. ábra. *A prokarióta promoter szerkezete.*

Az RNS polimeráz először a -35 régióval lép kölcsönhatásba, s a DNS-sel ún. zárt komplexet alakít ki, amelyben a kettős hélix szálai még nem váltak szét. Ezután kontaktust létesít a -10 régióval is. Ekkor az enzim a DNS kb. 77 bázispárnyi szakaszát fedi le. A zárt komplexből nyílt komplex alakul ki, miután a -10 régió és a startpont közötti szakaszon a kettős hélix szálai szétválnak. A -10 régió AT-gazdagsága feltehetően megkönnyíti a dupla hélix felbomlását. A keletkezett „buborékban" megkezdődhet a templát

DUPress

szállal komplementer RNS szintézise nukleozid trifoszfátokból.[21] A szintézis itt is 5′→3′ irányban folyik, mint a replikációnál. A keletkező RNS molekula szekvenciája megegyezik a DNS kettős hélix egyik szálának bázissorrendjével. A DNS molekulának ezt a szálát ***kódoló*** v. ***értelmes szál***nak, míg a transzkripcióhoz mintaként szolgálót ***templát*** (v. ***antiszensz***) szálnak nevezzük.[22]

Az elongáció során a transzkripciós „buborék" továbbhalad a DNS mentén. A képződő RNS lánc egy rövid szakaszon a templát szállal RNS-DNS hibridet képez. Az elongációt végző RNS polimeráz a DNS 30-40 bázispárnyi szakaszát fedi le. A ***termináció*** során az RNS polimeráz felismer egy specifikus ***terminációs szignál***t, a polinukleotid lánc szintézise leáll, az RNS polimeráz és az RNS termék felszabadul, a DNS visszanyeri duplahelikális szerkezetét.

Az *E. coli* RNS polimeráz enzim két fő komponensből áll. Az egyik a ***„core enzyme"***[23] amely két α, egy-egy β és β′ alegységből áll ($\alpha_2\beta\beta'$). A másik a szigma-faktor (σ), amely az iniciációhoz, közelebbről a promoter szekvencia felismeréséhez szükséges. A core enzim képes DNS templáton RNS szintézisére, de nem képes specifikus iniciációra. Erre csak a core enzimet és szigma-faktort is tartalmazó ***holoenzim*** képes. Az alegységek közül a β′ felelős a templáthoz való kötődésért, míg a β a nukleotidkötésért. Utóbbi alegység a rifampicin és a streptolydigin nevű antibiotikumok támadáspontja.

Egyfajta RNS polimeráz holoenzim egy bizonyos promotercsalád felismerésére képes. A baktériumsejtben bizonyos körülmények között új szigma-faktorok megjelenése révén keletkezhenek olyan RNS polimeráz holoenzimek, amelyek az eddigiektől eltérő szekvenciájú promotereket ismernek fel. Így pl. *E. coli*ban hősokk v. nitrogén-éhezés hatására új σ-faktorok jelennek meg, amelyek specifikus gének transzkripcióját indítják be. *Bacillus subtilis* esetében is kimutatták, hogy a spóraképzéshez szükséges gének bekapcsolásában új specifitású szigma-faktorok megjelenésének van szerepe. A szigma-váltás tehát a génexpresszió szabályozásának egyik fontos módja prokariótákban.

A transzkripció terminációja baktériumokban kétféle lehet. Az egyik formához nem szükséges a ρ (ró) terminációs faktor (ρ-independens termináció), míg a másikhoz igen (ρ-dependens termináció).

---

[21] Az RNS és DNS szintézis prekurzorai egyaránt nukleozidtrifoszfátok, melyekről a terminális helyzetű két foszfát lehasad. Az itt felszabaduló energia fedezi a szintézis energiaszükségletét. A keletkező pirofoszfát elhasadása megfordíthatatlanná is teszi a reakciót.

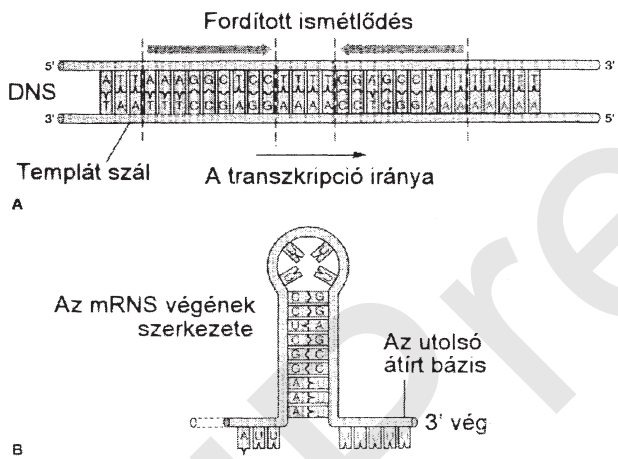
[22] A templát szállal komplementer szálat azért nevezzük értelmesnek, mert – pl. egy fehérjekódoló gén esetén – szekvenciája megegyezik az aminosavsorrendet meghatározó mRNS szekvenciájával (ha itt eltekintünk attól, hogy a génben lehetnek nem-kódoló szakaszok, melyek az érett mRNS-ből hiányoznak).

[23] core = mag.

PUBLICS

A ρ-independens terminációért felelős GC gazdag szignálszekvencia jellemzője, hogy az RNS önmagával bázispárosodó hajtűszerű struktúrát képez, utána pedig néhány (6) uracil következik (12.23 ábra).

Ha egy fordítva ismétlődő (ún. palindróm[24]) szekvencia van a DNS-ben, akkor ennek a transzkriptuma egymással komplementer régiókat tartalmaz és ún. hajtű-struktúrát képes létrehozni. Az RNS-en létrejövő terminációs hajtű hatására az RNS polimeráz leáll, s mivel a molekula végén kialakuló RNS-DNS hibrid gyenge AU bázispárokat tartalmaz, a keletkezett RNS leválik a DNS-ről.



12.23. ábra. *A transzkripciós terminációs szignál* jellemzője (A) egy fordítva ismétlődő szekvencia a DNS-ben a gén végén. (B) A keletkezett mRNS-en hajtűszerű szerkezet alakul ki, valószínűleg ezt ismeri fel az RNS polimeráz.

A ρ-dependens terminációhoz ρ-faktorra van szükség, amely *E. coli*-ban esszenciális protein. A ρ-faktor az RNS-hez kötődik, s 5′→3′ irányban halad rajta. Mikor az RNS polimeráz elér egy terminációs szignált, leáll. Az RNS-en közeledő ρ-faktor utóléri és szétválasztja az RNS-DNS hibridet. Ezt követően az RNS polimeráz, a ρ-faktor és az RNS leválnak a DNS-ről. (A terminációs szignál itt egy 50-90 nukleotid hosszúságú C-gazdag és G-szegény RNS szekvencia.)

Egy adott sejtben az adott időpillanatban nem minden gén íródik át. Rendkívül finom és komplex szabályozó mechanizmusok határozzák meg, hogy mely gének vannak „bekapcsolt" állapotban. Bizonyos gének a sejt v. szervezet életének csak egy meghatározott szakaszában aktívak, míg mások, pl. az energiatermeléshez szükséges fehérjéket kódolók állandóan működnek.

---

[24] Palindróm v. palindróma = visszafelé olvasva is ugyanazt jelentő szöveg, pl. „indul a görög aludni".

DUPress

Különösen jól szemléltethető a génreguláció jelentősége az állatok fejlődésénél: sok olyan gén aktív a *Drosophila* lárva állapotában, melyekre a kifejlett rovarnak már nincs szüksége, és fordítva, pedig pontosan ugyanazok a gének vannak jelen mindkettőben.

Mielőtt részleteznénk a transzkriptumok sorsát a sejtben, előre kell bocsátanunk, hogy a genetikai információ bázishármasok formájában van kódolva (l. 13. fejezet). A DNS értelmes szálának ***bázishármasai*** (*triplet*ek) egy-egy aminosavat kódolnak. Ebből következik, hogy a fehérjeszintézis folyamán egy RNS molekula bázishármasai határozzák meg az aminosavak egymás utáni beépülését a polipeptid láncba. Sem a DNS-ben, sem az RNS-ben nincsenek „vessző"-k amelyek a tripleteket elhatárolnák egymástól, a sejt mégis információs egységként ismeri fel az egymás utáni bázishármasokat.

Az RNS molekulák különböző fajtái

A transzlációban közreműködő RNS molekuláknak három fő csoportja van: ***hírvivő*** v. ***messenger RNS*** (***mRNS***), ***transzfer RNS*** (***tRNS***) és ***riboszomális RNS*** (***rRNS***).

Az mRNS-nek információátvivő szerepe van a fehérjeszintézisben. Nukleotid szekvenciáját a sejt a transzláció során aminosavszekvenciára fordítja, így a genetikai információ átvitelének DNS → RNS → PROTEIN formulájában ez a molekula játssza a közvetítő szerepét. Ezzel jól egybecseng a gén gyakran használt definíciója, mely szerint a gén olyan nukleotid szekvencia, amely egy funkcióképes polipeptid aminosavsorrendjét határozza meg – egy mRNS közvetítésével. Az egyes mRNS molekulák különböző hosszúságúak. Mivel a legtöbb polipeptid *legalább* 100 aminosavból áll, az mRNS molekulák legnagyobb része *legalább* 300 nukleotid hosszúságú. Ennél sokkal hosszabbak is lehetnek, pl. abban az esetben, ha több polipeptidet kódolnak. (Ilyen, ún. ***policisztronális mRNS***-ek [l. 15. fejezet] baktériumsejtekben találhatók. Az mRNS más sajátságait l. alább.)

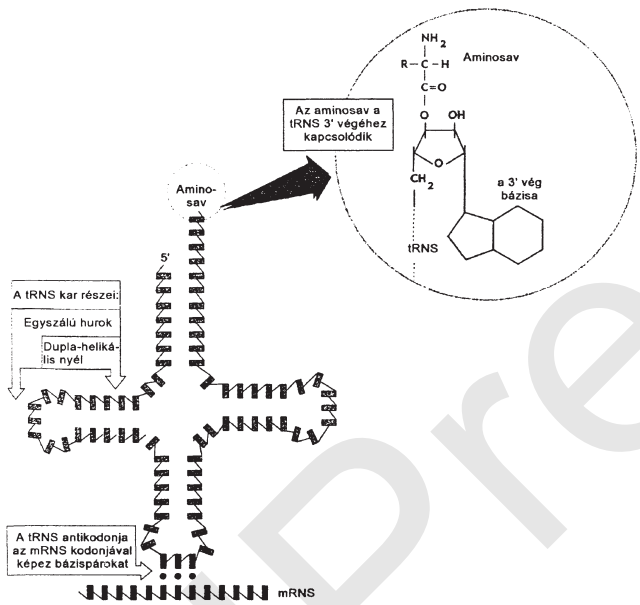
Az mRNS bázishármasait, melyek egy-egy aminosavat kódolnak, ***kodon***nak nevezzük. Egy konkrét mRNS-ben annyi kodon van, ahány aminosavból áll az általa meghatározott fehérje. Mivel a különböző fehérjék száma egy sejtben tízezer is lehet, az egymástól különböző mRNS-féleségek száma is ugyanennyi. Egy-egy mRNS molekulán sokszor végbemehet a transzláció, ugyanakkor életideje korlátozott, hajlamos a lebomlásra, degradációra. Az mRNS nem kizárólag kodonokból áll: az 5′ és 3′ végen vannak transzlációra nem kerülő szekvenciák is.

A ***transzfer RNS***-ek mint molekuláris adapterek működnek, miután specifikus aminosavakat kötnek meg a citoplazmában és összehozzák ezeket a mRNS megfelelő kodonjaival. A feladat véghezviteléhez kettős specifitással rendelkeznek. A tRNS molekula

DUPress

3′ vége képes megkötni egyfajta aminosavat, a molekula egy másik részén elhelyezkedő ún. ***antikodon*** pedig felismeri az mRNS egy specifikus kodonját (12.22 ábra).

Az a tRNS például, melynek antikodonja CCC felismeri a GGG kodont az mRNS-ben és a bázispárosodás szabályai szerint kapcsolódik vele. Minden tRNS-nek *egyedi térszerkezete* van, ami – a megfelelő aminosav-tRNS szintetáz enzim közreműködésével – csak egyetlen specifikus aminosav megkötését teszi lehetővé, az említett esetben pl. a prolinét.



12.24. ábra. *A tRNS szerkezete.* A tRNS adapter jellegű molekula, amely egy aminosav és az mRNS egy kodonja között hoz létre kapcsolatot. Az aminosavat hordozó kart akceptor-karnak, a kodonnal komplementer kart antikodon-karnak nevezik.

Néhány tucat különböző tRNS-féleség létezik a sejtben, minden aminosavra jut néhány. A tRNS molekulák kb. 80 nukleotid hosszúságú egyfonalas molekulák, melyek meglepően bonyolult háromdimenziós térszerkezetet alakítanak ki. A polinukleotid láncon belül komplementer szakaszok vannak, ezek párosodásával jönnek létre a „karok", melyek végén egyfonalas hurkok találhatók (12.24. ábra). A tRNS-ben az A-n, U-n, G-n és C-n kívül különleges bázisok is vannak, például az inozin (I), amely a guaninhoz hasonló, de hiányzik róla az amino csoport. A tRNS-ben a különleges bázisok az eredeti bázisok kémiai módosításával keletkeznek, annak átíródása után.

A ***riboszomális RNS***-ek a fehérjeszintézist végző riboszómák strukturális elemei. A baktériumok riboszómái három, az eukarióta riboszómák négy riboszomális RNS-t tartalmaznak (12.4. táblázat).

PUPress

Az rRNS molekulák a riboszomális fehérjékkel együtt hozzák létre a riboszómák komplex háromdimenziós szerkezetét. Az aktív fehérjeszintézist folytató sejtekben sok a riboszóma. A citoplazmában és – eukariótákban – az endoplazmatikus retikulum felszínén helyezkednek el. Az új riboszómák keletkezése jól összehangolt folyamat. A riboszomális fehérjék a már meglevő riboszómákon szintetizálódnak, és a sejtmagba belépve a magcsakában kapcsolódnak az újonnan elkészült rRNS molekulákkal. Amint fentebb említettük, az rRNS-ek meghatározott kromoszomális régiókról íródnak át, ezeket nevezzük ***nukleolusz organizátor***oknak. Tíz ilyen régió van egy humán sejtmagban, melyek az öt pár akrocentrikus kromoszóma rövid karjain találhatók (az 5S rRNS-é viszont az 1-es kromoszómán). E helyek több száz rRNS gént hordoznak.

A riboszómák két, egy kisebb és egy nagyobb alegységből állnak. Kötődnek az mRNS molekulákhoz, s végighaladnak rajtuk a fehérjeszintézis során. A szintézishez szükséges aminosavakat tRNS molekulák szállítják a riboszómákra. Így mindhárom RNS-féleség részt vesz a fehérjeszintézisben.

12.4. Táblázat. *A riboszómák összetétele*

Riboszómák típusai	Alegységek	rRNS-ek	Fehérjék
Bakteriális: 70S*	50S	23S = 2904 bázis	31
$2{,}5 \times 10^6$ D**		5S = 120 bázis	
66 % RNS			
	30S	16S = 1541 bázis	21
Emlős: 80S	60S	28S = 4718 bázis	49
$4{,}2 \times 10^6$ D		5,8S = 160 bázis	
60% RNS		5S = 120 bázis	
	40S	18S = 1874 bázis	33

* S: Svedberg egység, analitikai ultracentrifugálással meghatározható ülepedési állandó. Értéke arányos az anyag molekulatömegével és fizikai sűrűségével, függ továbbá a molekula alakjától.

** Dalton

DUPress

Transzláció: RNS → fehérje

A transzláció aminosavakat fűz össze elágazás nélküli polipeptid láncokká. E láncok alkotják a bonyolult térszerkezetű fehérjemolekulákat.

A fehérjék rendkívüli diverzitására álljon itt néhány szemléltető példa: fehérjék építik fel a pókhálót, a tigris karmait, a kígyómérget, a szemlencsét, a véralvadékot, a búza sikérjét és a DNS-t replikáló enzimeket. Valamely sejtféleség tulajdonságait meghatározza az, hogy milyen fehérjéket szintetizál. Pl. a vörösvérsejtek nagy mennyiségű hemoglobint, a limfociták antitesteket, az izomrostok aktint és miozint szintetizálnak, a májsejtek sokféle enzimet, a szőrtüsző sejtjei pedig keratint állítanak elő. Az emberi szervezet több, mint 10 000 különböző szerkezetű és funkciójú fehérjét tartalmaz.

A transzláció előfeltétele, hogy a fehérjeszintézishez szükséges aminosavak tRNS-hez kötve legyenek jelen a sejtben. A folyamatot az ***aminosav-tRNS szintetáz*** enzimek katalizálják, amelyek a tRNS-eket „feltöltik" a megfelelő aminosavakkal. A reakció első lépése az aminosav-aktiválás, mely során az aminosav ATP-vel lép reakcióba és aminosav-adenilát keletkezik, amely az enzimhez kötve marad. Ezt követően az enzim tRNS-hez kapcsolja az aminosavat, s AMP szabadul fel. A szintetáz enzim specifitása kulcsfontosságú a transzláció pontossága szempontjából. Minden aminosavat más-más enzim ismer fel, s mivel húszféle aminosav van, ugyanennyi a szintetáz enzimek száma is. Az enzim többféle tRNS közül „válogathat", melyek mind ugyanarra az aminosavra specifikusak, de antikodonjuk lehet eltérő. A különböző tRNS-féleségek száma a sejtben az aminosavak számánál több, de az aminosavat kódoló kodonok számánál (61-nél) kevesebb. Az aminosav-tRNS szintetáz nagyfokú pontossága azzal magyarázható, hogy korrekciós funkciója van – a DNS polimerázokhoz hasonló módon. Például, ha nem a korrekt tRNS v. aminosav kötődik, az ledisszociál az enzimről, mielőtt a kovalens kötés kialakulna közöttük.

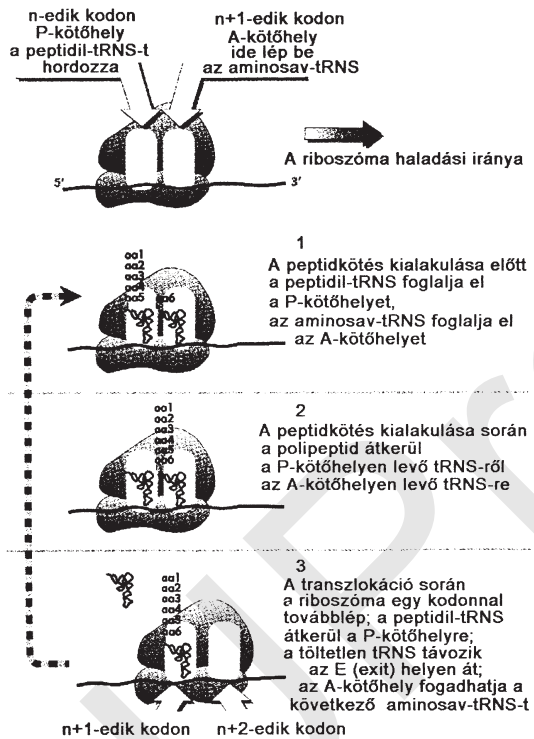
A transzláció a riboszómákon megy végbe. A riboszómák két alegységből álló kompakt ribonukleoprotein (RNP) partikulumok, melyek biztosítják a megfelelő környezetet ahhoz, hogy az mRNS kodonja és a tRNS antikodonja felismerjék egymást. A riboszóma a kódoló régió 5′ végének közelében kapcsolódik az mRNS-hez, s miközben a 3′ vég irányában halad, az mRNS kodonjait leolvasva minden tripletnél egy aminosavval hosszabbítja a polipeptid láncot. A riboszóma egyidőben 2 tRNS-t tart megkötve, amelyek két egymást követő kodonhoz kapcsolódnak. Közülük az egyik a már elkészült polipeptid láncot hordozza, míg a másik a következő beépítendő aminosavat, ezek között hozza létre a riboszóma a peptidkötést.

A transzlációnak három fő szakasza van: (1) iniciáció, (2) elongáció, (3) terminációó.

Először a baktériumok transzlációs folyamatait tárgyaljuk.

EUPress

(*1*) Az ***iniciáció*** azokat a folyamatokat foglalja magába, melyek megelőzik az első peptidkötés kialakulását. A „munkanélküli" riboszómák alegységekre disszociált állapotban vannak.



12.25 ábra. *A riboszóma kötőhelyei.*

(i) *Először a kis alegység kapcsolódik az mRNS-sel,* egy iniciációs fehérjefaktor[25] közreműködésével. Ez a kapcsolódás is komplementer bázispárosodásra vezethető vissza, ugyanis az mRNS kódoló régiójának kezdete előtt van egy rövid szekvencia (riboszóma-kötőhely a prokariótákban ezt Shine-Dalgarno szekvencia), amely komplementer a kis alegységben levő rRNS 3′ végéhez közeli szekvenciával. Hogy az ezután következő lépést megérthessük, ismernünk kell a riboszóma kötőhelyeit (12.25 ábra).

Az A-kötőhelyre lépnek be az elongáció során az aminosav-tRNS-ek, a P-kötőhelyen van a polipeptidet hordozó tRNS. Mindkét kötőhely egy része kiterjed a kis alegységre is. Az iniciáció során az mRNS úgy kapcsolódik a kis alegységhez, hogy az AUG iniciációs kodon pontosan a részleges P-kötőhelyre esik. Ezután:

(ii) *az iniciátor tRNS antikodonja felismeri az első AUG kodont és belép a P-kötőhelyre* (12.26 ábra). Az egyetlen aminosav-tRNS, amely beléphet a részleges P-kötőhelyre, az iniciátor tRNS. Ez egy metionint hordoz, melynek az aminocsoportja – kizárólag a prokarióta sejtekben – formilálva van ($fMet\text{-}tRNS_{i}$). Ezt a tRNS-t csak iniciációra

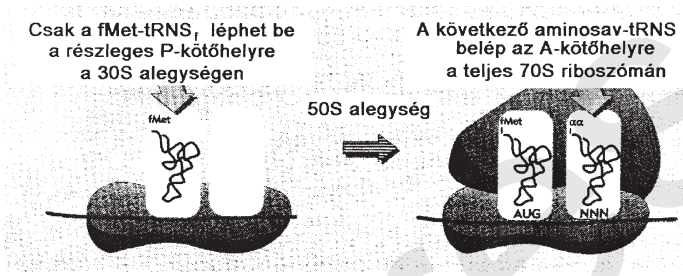
---

[25] Az iniciációs, elongációs és terminációs fehérjefaktorok nélkülözhetetlenek a transzlációban, részletes ismertetésüktől azonban – e jegyzet keretein belül – eltekintünk.

használja a sejt, az AUG iniciációs kodont (ritkábban GUG-t és UUG-t) ismeri fel. Ha az AUG kodon nem iniciátorként, hanem a lánc közben helyezkedik el, metionin beépüléséért felelős. Ezt azonban már egy másik tRNS-féleség ismeri fel a következő lépésben.

(iii) *a nagy alegység kapcsolódik a 30S-mRNS komplexhez.* Ezzel kialakult az iniciációs komplex, amelyen az A-kötőhely szabad, így alkalmas a 2. aminosav-tRNS megkötésére.

A prokarióta transzláció iniciációjához összesen 3 iniciációs faktor (IF) és egy molekula GTP is szükséges.



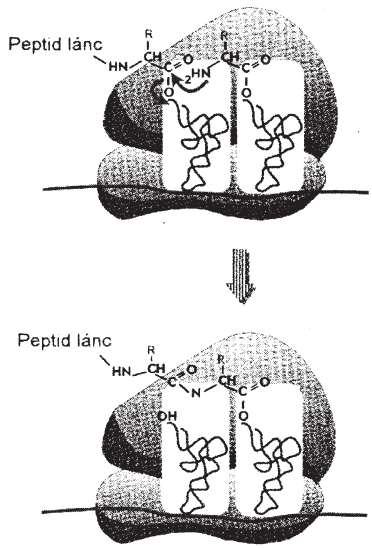
12.26. ábra. *Az iniciátor tRNS kötődése a részleges P-kötőhelyre.* Prokariótákban kizárólag az fMet-tRNS$_f$ alkalmas iniciációra a kis alegységen, az összes többi aminosav-tRNS az elongációban vesz részt a komplett 70S riboszómán.

(*2*) Az ***elongáció*** az első peptidkötés kialakításától az utolsó aminosav beépítéséig tart. Három fontos lépésből áll, melyek minden újabb aminosav beépítésénél ismétlődnek.

(i) *A szabad A-kötőhelyre belép a következő kodonnak megfelelő aminosav-tRNS.* Ebben szerepet játszik egy elongációs faktor[26] és GTP is.

(ii) *Kialakul a peptidkötés* a P-kötőhelyen levő polipeptidlánc C-terminális karboxilcsoportja és az A-kötőhelyen levő aminosav aminocsoportja között a ***peptidiltranszferáz*** aktivitása révén (12.27. ábra). A peptidiltranszferáz a peptidkötést létrehozó enzimaktivitással rendelkező hely a nagy alegységen. Ezt az enzimaktivitást nem lehet kizárólag riboszomális fehérjékkel összefüggésbe hozni, nagyon valószínű, hogy a nagy alegység rRNS-e a felelős ezért. Ez tehát egy példa arra, hogy RNS molekuláknak is lehet katalitikus aktivitása. A peptidlánc átkerül az A-kötőhelyen levő tRNS-re, a P-kötőhelyen egy töltetlen tRNS marad.

[26] EF-Tu.



12.27. ábra. *A peptidkötés kialakulása.* A peptidkötés a P-kötőhelyen levő peptidil-tRNS peptidláncának karboxil csoportja és az A-kötőhelyen levő aminosav-tRNS szabad amino csoportja között alakul ki. A P-kötőhelyen egy töltetlen tRNS marad.

A puromycin nevű antibiotikum az aminosav-tRNS strukturális analógja. Belép az aminosav-tRNS helyére, a peptidlánc hozzákötődik, és a keletkező peptidil-puromicin leválik a riboszómáról, s mivel nincs ami odahorgonyozza, a transzláció megszakad. Egy közismert antibiotikum, a chloramphenicol, a peptidiltranszferáz aktivitást gátolja.

(iii) *Transzlokáció: a riboszóma egy triplettel továbblép az mRNS-en.* Miután a töltetlen tRNS eltávozik a P-kötőhelyről, a peptidil-tRNS kerül át ide, s így az A-kötőhely ismét alkalmassá válik újabb aminosav-tRNS megkötésére (12.28. ábra) A lépés elongációs faktort[27] és GTP-t igényel.

Az elongáció mindaddig folytatódik, míg van olyan aminosav-tRNS, amely felismeri az A-kötőhelyen elhelyezkedő következő kodont.

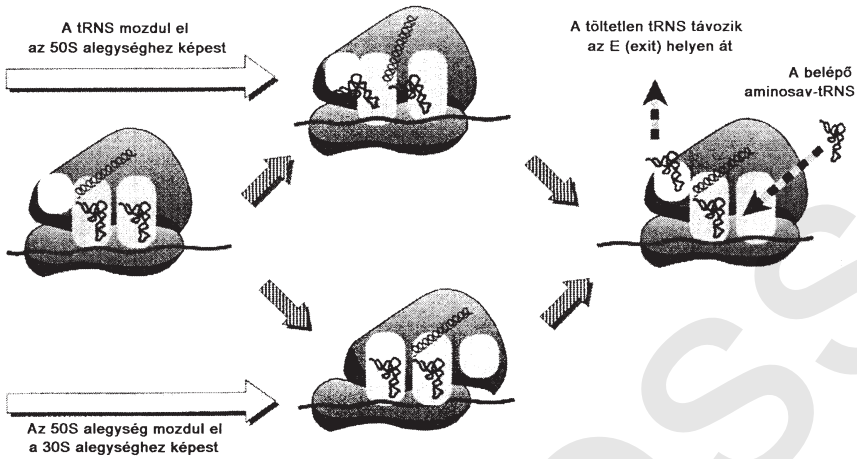
(*3*) A ***terminációt*** azokat a lépéseket jelenti, melyek során az elkészült polipeptidlánc felszabadul, s az mRNS leválik a riboszómáról. Ha az A-kötőhelyre egy terminációs kodon kerül (UAG, UAA v. UGA), nem akad olyan aminosav-tRNS, amely ezeket felismerné. Képesek viszont e stop kodonok felismerésére a ***terminációs faktorok***[28] (*release factor*-ok). E fehérje faktorok hatására a kész polipeptid lehasad a tRNS-ről, a tRNS és az mRNS leválik a riboszómáról.

---

[27] EF-G.

[28] RF_1 és RF_2.

DUPLICATE



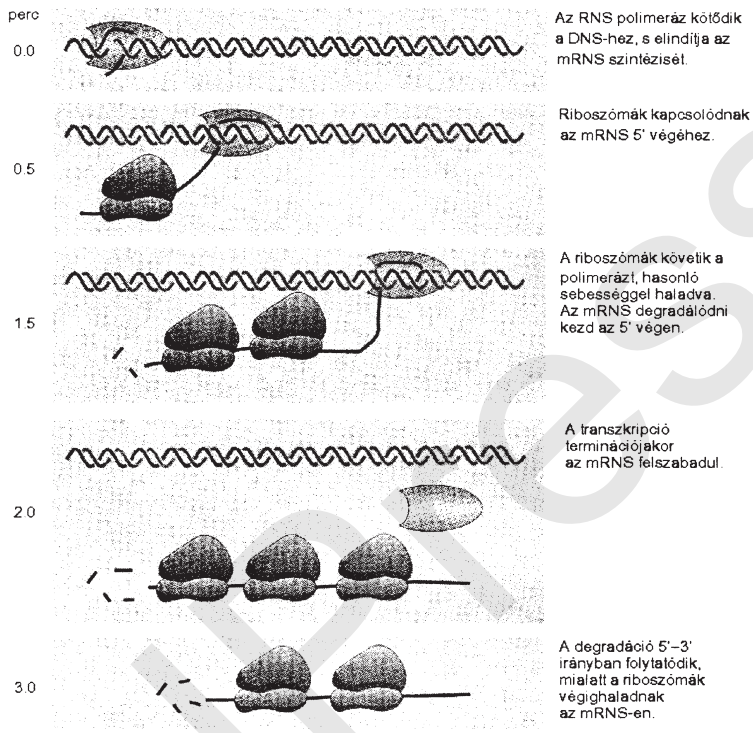
12.28. ábra. *A transzlokáció.* A peptidkötés kialakulása után a töltetlen tRNS távozik (az ábrán látható exit helyen át) a peptidil-tRNS pedig átkerül a P-kötőhelyre. Vagy a tRNS mozdul el a nagy alegységhez képest (l. az ábrán fent), vagy a nagy alegység mozdul el a kis alegységhez képest (l. lent).

Ha egy DNS szekvenciát aminosavsorrendre akarunk lefordítani, könnyen belátható, hogy háromféle eredményt kapunk, attól függően, hogy milyen fázisban, melyik bázisnál kezdjük a bázishármasok leolvasását. A szaknyelv ezt úgy fejezi ki, hogy egy DNS szekvenciában 3 lehetséges leolvasási keret van. Közülük azt, amely iniciációs kodonnal kezdődik, stop kodonnal végződik, s közben minden egyes triplet aminosavat kódol, ***nyitott leolvasási keret***nek (*Open Reading Frame*, ***ORF***) nevezzük.[29] Igen nagy valószínűséggel megállapítható, hogy ha egy hosszú ORF-et találunk, az fehérjekódoló gén lesz. Ilyen esetekben a két másik leolvasási keretben gyakran találni stop kodonokat. Hosszú ORF-ek csak akkor maradhatnak fenn a DNS-ben, ha a szelekciós nyomás tartja fenn őket. Szelekciós nyomás nélkül – mutációk révén – akkumulálódnának bennük a stop kodonok.

Prokariótákban a transzkripció és a transzláció folyamatai térben és időben szorosan összefüggenek. Amikor az mRNS molekula 3′ vége még szintetizálódik, 5′ végét már templátként használják a riboszómák. A bakteriális mRNS-ek rövid életű molekulák, félféletidejük néhány perc. Miközben a riboszómák még a 3′ vég leolvasását végzik, a mole-

[29] Az ORF fogalmát eukarióták vonatkozásában is használjuk, itt természetesen az exon és intron ciák jelenlétével is számolnunk kell.

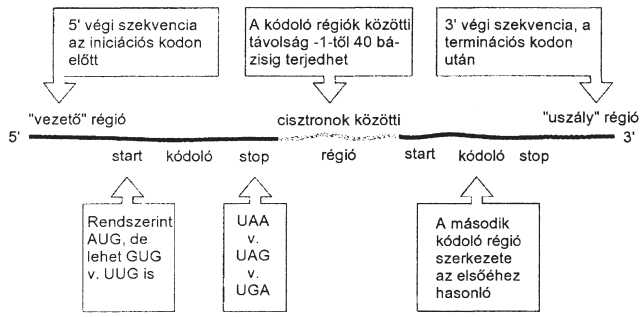
kula 5′ vége már nukleázok hatására degradálódni kezd (12.29. ábra). Ennek a gyors és hatékony szabályozásban nagy szerepe van!



12.29. ábra. *A transzkripció, transzláció és az mRNS degradációja szorosan kapcsolt folyamatok baktériumokban.* A megadott időértékek egy 5000 bázispáros transzkripciós egységre vonatkoznak, melynek kifejeződése 0 időpillanatban kezdődik.

Prokariótákban az mRNS egynél több fehérjét is kódolhat, ugyanis több kódoló régió helyezkedhet el egymás után a mRNS-en. Az ilyen szerkezetű mRNS-t, mely csak a prokarióta sejtekre jellemző, ***policisztronális***nak nevezzük. Ez lehetővé teszi több, egy funkcionális csoportba tartozó gén egyidejű kifejeződését (l. 15. fejezet). Az mRNS 5′ végi, nem kódoló régióját ***„vezető"*** (*leader*), 3′ végi nem kódoló régióját ***„uszály"*** (*trailer*) szekvenciának nevezzük (12.30. ábra). Az mRNS gyöngyfűzérszerűen tartja össze a riboszómákat. Ugyanazt az mRNS-t olvasó riboszómák együttese a ***poliriboszóma*** v. ***poliszóma.***

DUPress



12.30. ábra. *A bakteriális – policisztronális – mRNS felépítése*

AZ EUKARIÓTA TRANSZLÁCIÓ JELLEGZETESSÉGEI

Eukariótáknál a transzkripció és transzláció folyamatai térben és időben elválnak egymástól. A sejtmagban az elsődleges termék, a hnRNS bonyolult érési folyamatokon megy át míg mRNS lesz belőle (l. 16. fejezet). Az mRNS a maghártya pórusain keresztül kijut a citoplazmába ahol megkezdődik a transzlációja.

Az eukarióta mRNS monocisztronális, azaz egyetlen fehérjemolekulát kódol. 5′ végén metilált „sapka" (l. 16.9. ábra), 3′ végén 100-200 nukleotidnyi poli-A farok található.

Az ***iniciáció***t tekintve a következő különbségek vannak a prokarióta transzlációhoz viszonyítva: csaknem kizárólag AUG szerepel iniciációs kodonként, s az iniciációs tRNS metionint hordoz formilcsoport nélkül. Az iniciátor tRNS kapcsolódik előbb a riboszóma kis alegységéhez – iniciációs faktor segítségével – nem pedig a mRNS. Ezután a kis alegység az mRNS 5′ végét, a „sapka" struktúrát ismeri fel, kötődik hozzá, s keresni kezdi az iniciációs helyet (az AUG kodont). A „sapka" és az iniciációs kodon közötti távolság lehet néhány száz, sőt akár ezer nukleotid is. A kis alegység ezt az egész vezető régiót végigtapogatja az iniciációs helyet keresve. Általában az első AUG az iniciációs kodon. Ugyanakkor az AUG triplet önmagában nem elegendő az iniciációhoz, ehhez megfelelő környezetben kell az iniciátor kodonnak elhelyezkednie. Az optimális szekvencia

GCC*Pu*CC***AUG***G*.[30]

[30] Szerzői nevén: Kozak szekvencia, de riboszóma-kötőhelynek is nevezik.

Puress

A legfontosabb ezek közül, a -3 helyen levő purin és a +1 helyen a G. A transzláció hatásfoka attól függ, hogy az adott szekvencia mennyire közelíti a konszenzus szekvenciát ill. a nem megfelelő környezetben levő AUG-t a riboszóma figyelmen kívül hagyja. Mikor a kis alegység megtalálta az iniciátor helyet, kapcsolódhat a nagy alegység és a riboszóma készen áll a második aminosav-tRNS fogadására. A folyamathoz 9 eukarióta iniciációs faktor (eIF), továbbá GTP és ATP is szükséges.

Az ***elongáció***ban az aminosav-tRNS A-helyre kötődéséhez egy elongációs fehérjefaktor[31] kell, a transzlokációhoz úgyszintén.[32] Ez utóbbi érdekessége, hogy ez a fehérjefaktor a diftéria toxin támadáspontja. A diftéria toxin enzim, mely NAD-ról származó ADP-ribozil csoportot köt az elongációs faktorhoz, ezzel inaktiválja azt.[33]

A ***terminációban*** csak annyi az eltérés a baktériumokhoz képest, hogy egy ilyen terminációs faktor van, mely kötődéséhez GTP-t igényel.

A sejtekből, szövetekből izolált mRNS-t felhasználva *in vitro transzlációs rendszer* segítségével fehérjét lehet szintetizálni. Az *in vitro* transzlációs rendszer sokkomponensű sejtkivonat, mely riboszómákat, transzlációs faktorokat és tRNS-t tartalmaz. Egy másik módszer szerint mRNS-t mikroinjekcióval be lehet juttatni *Xenopus* oocytába, amely megszintetizálja az adott mRNS által kódolt fehérjét. Egyik transzlációs rendszernek sincs szövet- v. fajspecifitása. Ez azt jelenti, hogy templátként elfogad bármilyen eredetű eukarióta mRNS-t.

Bizonyos embrionális sejtekből izolálhatók mRNS-ek, melyek *in vitro* rendszerben működőképesek, az eredeti sejtben azonban (ahonnan származnak) mégsem mutatható ki az általuk kódolt fehérjetermék. Valamilyen mechanizmus *in vivo* megakadályozza transzlációjukat. A jelenség *transzlációs szintű szabályozást* takar, s magyarázata az lehet, hogy bizonyos mRNS-ek, bár jelen vannak a sejtben, azért nem kerülhetnek transzlációra, mert pl. fehérjékbe vannak csomagolva v. más ok miatt nem juthatnak el a riboszómákig. Az így tárolt mRNS-ek a fejlődés egy későbbi stádiumában felhasználódhatnak.

---

[31] Az eEF-1, amely az EF-Tu feladatával ekvivalens funkciót lát el.

[32] Az eEF-2, amely az EF-G analógja.

[33] Az ADP-riboziláció – a foszforiláláshoz hasonlóan – a fehérjék poszttranszlációs módosításának egyik formája. Jelentősége van különböző fehérjefunkciók szabályozásában.

A katalitikus RNS (ribozim)

Az a gondolat, hogy *csak* fehérjéknek lehet enzimaktivitása, mélyen gyökerezik a biokémiai gondolkodásban. Ennek racionális alapját az képezi, hogy a fehérjék változatos háromdimenziós szerkezete, a bennük megtalálható sokféle aminosav-oldallánc, az igen nagy flexibilitás stb., nagymértékben alkalmassá teszi e molekulákat olyan aktív helyek kialakítására, melyek biokémiai reakciók katalízisére képesek. Ez a nézet azonban túlságosan leegyszerűsítőnek bizonyult. A különböző RNS-féleségek érésének tanulmányozása során ugyanis kiderült, hogy RNS molekuláknak is lehet katalitikus aktivitása.

A katalitikus aktivitású RNS-t ***ribozim***nak nevezzük. A ribozim vagy különálló szubsztráton, vagy intramolekulárisan, tehát saját magára fejti ki hatását (amely a katalitikus hatást egyetlen ciklusra korlátozza). Az alábbiakban ismertetjük az RNS-enzimek néhány közismertebb válfaját:

1) Ribonukleáz P. 375 nukleotid hosszúságú RNS-ből és 20 kD méretű polipeptidből álló RNP komplex. Kísérletesen kimutatták, hogy az RNS egyedül is képes véghezvinni a reakciót – a tRNS-prekurzor szubsztrát hasítását – a fehérjekomponens közreműködése csak meggyorsítja a folyamatot.

Hogyan hozza létre az RNS az aktív centrumot? Az aktív centrumot egy olyan felszínnek gondoljuk, melyet több kémiailag reaktív csoport kölcsönhatása alakít ki. A reaktív csoportok fehérjéknél az aminosav oldalláncok. RNS-nél a csoportok választéka sokkal kisebb, a bázisok különböző csoportjaira korlátozódik. A másodlagos-harmadlagos konformáció az RNS-lánc rövid szakaszait meghatározott szerkezetben tartja, így biztosítva egy felszínt, melyen kötések hasíthatók v. alakíthatók ki. Az RNS katalizátor és az RNS szubsztrát közötti kölcsönhatás a bázispárosodáson alapul. A kétértékű kationoknak (pl. Mg^{++}) is fontos szerepe van az aktív hely stabilizálásában.

2) Önkivágó intronok.[34] Mint ismeretes (l. 16. fejezet), az eukarióta szervezetek génjeinek kódoló régiói nem folyamatosak, hanem megszakításokkal, ***exon***nak nevezett szakaszokban helyezkednek el a DNS-en. Az exonok folyamatosságát megszakító, közbeiktatott szekvenciákat nevezzük ***intron***oknak. A gének transzkripciója során az átírás elsődleges termékének a szekvenciája a gén DNS szekvenciájának pontos mása. Ahhoz, hogy ebből funkcióképes RNS keletkezzen, legyen az mRNS, rRNS v. tRNS, el kell távolítani az intronokat. Az intronok kivágásának folyamatát nevezzük ***RNS átszabás***nak (splicingnak) Az átszabásnak több válfaja van[35], ezek egyike az ön-átszabás.

---

[34] Angolul: *self-splicing.*

[35] Magasabbrendû eukarióták magi RNS-einek átszabását snRNP részecskékből álló intronkimetsző komplexek [*spliceosome*] végzik (l. 16. fejezet).

Ebben a folyamatban az intron RNS szekvenciája jellegzetes másodlagos szerkezetet képez, amely ribozimként hatva katalizálja saját kihasítását az elsődleges RNS termékből.

Az ún. I. típusú önkivágó intronokat *Tetrahymena* rRNS génekben fedezték fel. A transzkripció terméke egy 35S prekurzor RNS, amely magában foglalja a nagy alegység 26S RNS szekvenciáját, és a kis alegységre jellemző rRNS-t. A 26S RNS szekvenciájában van egy 400 nukleotidnyi intron. *In vitro* kísérletben kimutatták, hogy az intron kivágódik és cirkularizálódik. A folyamat külső energiabefektetést nem igényel, guanin nukleotid kofaktor szükséges hozzá, valamint monovalens és divalens kationok (12.31. ábra). A reakció három lépésből áll. Végeredménye az, hogy a ribozim hatására két exon összekapcsolódik, a kivágott intron pedig cirkularizálódik.

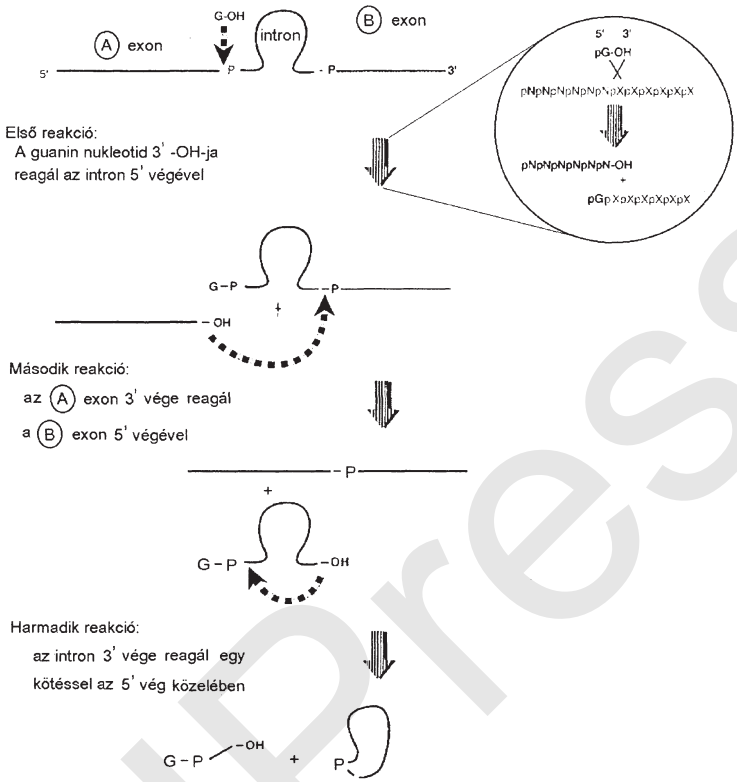
Az I. típusú intronok katalitikus hatását önkivágó aktivitásuk révén fedezték fel, de más reakciókat is képesek kivitelezni. Mindezen reakciók transz-észterifikáláson alapulnak, azaz az egyik foszfátészter átalakul egy másikká, anélkül, hogy hidrolitikus közti termék szabadulna fel. A szóbanforgó intronok katalitikus aktivitása azon alapszik, hogy egy specifikus másodlagos és harmadlagos szerkezetet képesek létrehozni, mely aktív helyet alakít ki, hasonlóan, mint a fehérje-enzimek.

Az ún. II. típusú intronok is képesek önmaguk kivágására *in vitro*. Ez a folyamat és végeredménye – egy lasszó alakú RNS molekula képződése az intronból – nagyon hasonló a nukleáris géneknél történő átszabáshoz. Nagyon valószínű, hogy az átszabás snRNP részecskék közreműködésével zajló formája, ami a magasabb rendűeknél figyelhető meg, az RNS által mediált autokatalitikus reakcióból fejlődött ki az evolúció során (l. 16. fejezet).

3) A viroidok – fertőző hatású növényi RNS molekulák kapszid nélkül. Hozzájuk hasonlóak a virusoidok, melyek kapsziddal rendelkező növényi vírusokban előforduló különálló RNS-féleségek. Szatellita RNS-nek is nevezik ezeket. Gördülő kerék mechanizmussal replikálódnak. A vírusrészecskében előforduló (+) szálról minusz (–) szál szintetizálódik. A (+) és (–) szálak egyaránt képesek önmaguk elhasítására *in vitro*.

A viroid RNS kalapácsfejre emékeztető másodlagos szerkezetet vesz fel. Az így kialakított aktív centrum biztosítja a hasítást. Az aktív hely 58 nukleotidból áll, 3 „nyeles hurok" szerkezetből tevődik össze. A struktúra középpontjában 13 konzervált nukleotid van (12.32. ábra).

Aktív „kalapácsfej" enzimet lehet létrehozni egy 19 nukleotidnyi „enzim"-szálat egy 24 bázisnyi „szubsztrát"-szállal párosítva. Az enzimhatás során a következő három lépés váltakozik: 1) bázispárosodás, 2) hasítás, 3) a termék disszociációja. Az ehhez hasonló ribozimokat a jövőben fel lehet majd használni az antiszensz konstrukciókhoz (l.18. fejezet) hasonlóan egy-egy cél-gén expressziójának kikapcsolására.



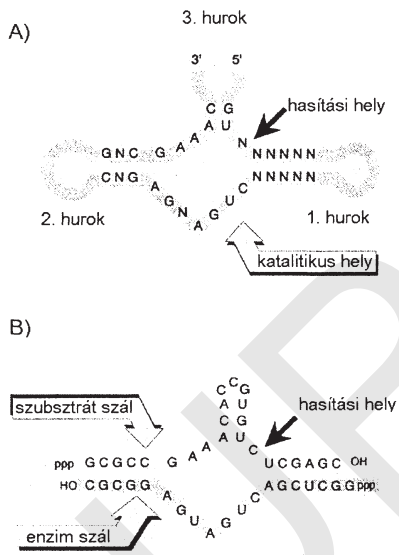
12.31. ábra. *Self-splicing reakció lépései.* A reakció három lépésből áll. Az első lépésben a guanin nukleotid kofaktor 3'-OH csoportja reakcióba lép az intron 5' végével. Ennek eredményeként az exon-intron határ elhasad és a guanozin rákerül az intron 5' végére. A második lépésben az első exon 3' vége reagál a második exon 5' végével, aminek következtében a két exon összekapcsolódik és lineáris intron szabadul fel. A harmadik lépésben az intron cirkularizálódik.

Az RNS által katalizált reakciók hasonlóképpen jellemezhetők, mint bármely más enzimreakció. K_M értékeik igen alacsonyak, ami az enzim magasfokú specifitását jelzi, ugyanakkor az egységnyi idő alatt átalakított molekulák száma kicsi, ami azt mutatja, hogy lassúak.

A ribozimok felfedezése nagy hatással volt az evolúciós elméletre. Az első „élő" rendszerek önreplikáló nukleinsavat tartalmazhattak egyszerű katalitikus aktivitással. A 2'-OH-nak feltehetően szerepe volt ebben a katalitikus aktivitásban, így az első nukleinsav az RNS lehetett, mivel a DNS-nek nincs 2'-OH csoportja. A fehérjék eleinte csak stabilizálhatták az RNS-t, majd átvették a katalitikus funkciót, mivel szerkezetük sokol-

DuPress

dalúsága miatt erre alkalmasabbak. A stabilabb DNS pedig átvette az RNS-től a genetikai információ tárolásának feladatát. Az RNS molekuláknak az élet kialakulásában játszott meghatározó szerepére utalnak még más adatok is: (i) a prokarióta és eukarióta kromoszomális DNS replikációja során a primerként mindig RNS molekula szintetizálódik, ami aztán a későbbiekben DNS-re cserélődik; (ii) a riboszómák peptidiltranszferáz aktivitásában aktív szereppel bír a nagy alegység rRNS-e; (iii) a telomeráz enzimben RNS szolgál templátként; (iv) az endoplazmatikus retikulumban zajló fehérjeszintézisben a szignál felismerő (SRP) részecskéknek is integrűáns része a 7SL RNS. Az említett példákat evolúciós bizonyítékul szolgáló „molekuláris fosszílium"-ként értelmezhetjük.



12.32. ábra. *Viroid ribozim vázlata.* Az önmaguk hasítására képes viroidok és virusoidok RNS-ei kalapácsfej-szerű másodlagos szerkezetet hoznak létre intramolekuláris bázispárosodással. Hasonló struktúrák létrehozhatók különálló „enzim"- és „szubsztrát"-szálak párosításával (alsó ábra).

4) Az RNS „szerkesztése" (RNA editing). A molekuláris genetika egyik axiómája, hogy a mRNS szekvenciája mindig pontosan tükrözi a DNS-ben kódolt információt. Jóllehet az intronok eltávolítása az RNS átszabás (*splicing*) során egy plusz lépést jelent a génexpresszióban, ez sem változtatja meg azonban az exonokat, mint kódoló szekvenciákat. A DNS információtartalmának változása – mint kivétel – előfordul az immunglobulin és a T-sejt receptor gének esetében. RNS editálásnak azt nevezzük, ha a genetikai információ az RNS szintjén változik. Ilyenkor az RNS kódoló szekvenciája különbözik attól a DNS szekvenciától, amelyről átíródott. Viszonylag ritkán, de előfordul emlős sejtekben és alacsonyabb rendű eukarióták (*Trypanosoma, Leishmania*) mitokondriumaiban.

PUPress

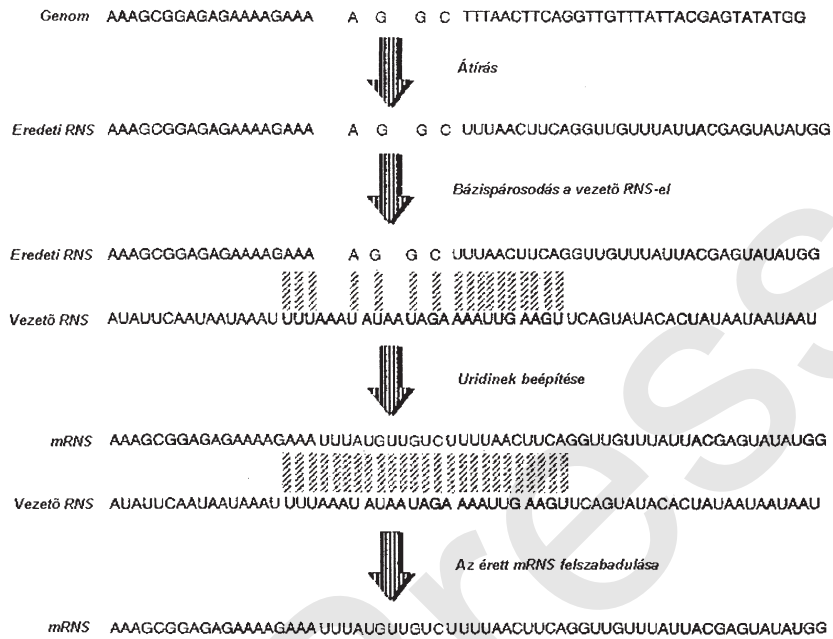
Egy példa: Az apolipoprotein-B gén szekvenciája megegyezik a legkülönbözőbb differenciált sejtféleségben, így a májban és a bélben is. A kódoló régió 4563 kodonból áll. Májban egy 512 kD protein szintetizálódik, ami a teljes kódoló szekvencia transzlációjával jön létre, míg bélben keletkező fehérjetermék csak fele ilyen hosszúságú. Ennek az a magyarázata, hogy a 2153. kodon (CAA) a bélsejtek mRNS-ében megváltozott (egy specifikus citidin-dezamináz hatására) UAA-ra, ami stop kodon és korai terminációt okoz. (Természetesen a bizonyításnál ki kellett zárni egy másik gén jelenlétét, vagy az alternatív *splicing*-ot.)

Nagymértékű változásokért felelős az RNS editálás az említett alacsonyabb rendű eukarióták mitokondriumaiban. Ezeknél több nukleotid kerül beszúrásra, vagy vágódik ki az RNS szekvenciából. Egy példa: A *Leishmania* mitokondriumaiban (12.33. ábra) a citokróm *b* mRNS-e editálásra kerül. Van egy ***vezető RNS*** (*guide RNA*), melynek a szekvenciája a komplementere az érett mRNS-ének. Az editálandó RNS bázispárosodás révén kapcsolódik a vezető RNS-sel, mintegy templátként szolgál, s lehetővé teszi uridin nukleotidok (U) beépülését a vezető RNS adenin nukleotidjaival (A) szemben.[36] Egy mRNS kialakításában több vezető RNS is részt vehet. Természetesen a vezető RNS-eket is gének kódolják. Elvileg mind az eredeti kódoló gén, mind a vezető RNS mutációi megváltoztathatják az mRNS és a fehérje primer szerkezetét. Genetikai szempontból mindkettő „gén" részét képezi. Mutációik – elvileg – transz helyzetben komplementálhatják egymást, tehát egy polipeptidlánc létrehozásához 2 (v. 3) komplementációs csoport (cisztron) szükséges.[37]

[36] Az uridin nukleotid beépítésének helyén egy endonukleáz behasít, terminális uridiltranszferáz beépíti a nukleotido(ka)t, majd egy RNS ligáz zárja a láncot.

[37] Ez ellentmond az általánosan elfogadott egy gén – egy polipeptidlánc elméletnek. Tekinthetjük a vezető RNS-ek esetét kivételnek, másrészt láthatjuk, hogy az általánosnak hitt törvények, szabályok a megismerés egy magasabb szintjén már nem feltétlenül ugyanúgy érvényesek.

DUPress



12.33. ábra. *RNS editálás egysejtű eukarióta mitokondriumában.* A citokróm b gén átírásával létrejött RNS (editálás előtti RNS) bázispárokat képez a vezető RNS-sel. Utóbbi templátként megszabja, hol épüljenek be uridinek a láncba. A létrejövő mRNS a vezető RNS-sel komplemeter szekvenciát tartalmaz.

Összefoglalás

(*1*) Az élőlények felépítését és működését meghatározó genetikai információt DNS molekulák hordozzák. A DNS molekula azon szakaszát, amely egy funkcióképes makromolekulát (polipeptidet vagy önálló funkcióval bíró RNS-féleséget, mint végterméket) kódol, génnek nevezzük. A gén fogalmát a genetika a komplementációs teszttel definiálta: így alakult ki a cisztron fogalma, amely a gén szinonimájaként használható.

(*2*) A DNS két polinukleotid láncból áll, amelyek kettős hélixet alkotnak. A polinukleotid láncok gerincét dezoxiribóz és foszfát csoportok alkotják, a cukorkomponens-

DUPress

hez csatlakoznak a bázisok. A két láncot a bázisok közötti H-kötések tartják össze: adenin timinnel, guanin pedig citozinnal alkot komplementer párt. A DNS-nek többféle másodlagos szerkezete van. Leggyakoribb a jobbmenetes B-forma, ezen kívül A- és Z-DNS is ismert.

(*3*) Magas hőmérsékleten, vagy lúgos pH-n a kettős hélix szálait összetartó H-kötések felszakadnak, a DNS denaturálódik. A denaturált DNS láncai megfelelő körülmények között képesek komplementer párjukat megtalálni, és dupla hélixet képezni, ezt nevezzük renaturációnak. A renaturációval mechanizmusát tekintve azonos folyamatot jelent a hibridizáció. A kettős hélix enzimek által kialakított magasabb rendű csavarulatait szuperhelikális szerkezetnek nevezzük.

(*4*) A DNS replikációja során a kettős hélix szálai elválnak egymástól, s a szülői molekula mindkét szála templátként szolgál egy-egy új komplementer szál szintéziséhez. A replikáció enzime a DNS polimeráz, amely a 3′-5′irányú templáton csak egy irányban (5′-3′ irányban) képes DNS láncot szintetizálni. Mivel a DNS kettős hélix két szála ellentétes orientációjú, csak az egyik új szál szintézise folyamatos, a másiké szakaszos. A DNS polimerázon kívül a replikációhoz szükséges fontos fehérjék még a primáz, helikáz, topoizomeráz és a DNS ligáz. Míg a baktérium-kromoszóma egyetlen replikációs egységből (replikonból) áll, az eukarióta sejtek kromoszómái akár több száz replikont is tartalmazhatnak.

(*5*) A genetikai információ kifejeződésének folyamatában a gének bázissorrendjének RNS-re történő átírása (transzkripciója) az első lépés. A transzkripció enzimje az alegységekből álló RNS polimeráz, kezdetének helyét a gén előtt elhelyezkedő promoter szekvencia, végpontját a terminációs szignál jelöli ki. Prokariótáknál a promoter felismeréséért az RNS polimerázhoz kapcsolódó σ (szigma) faktor, a terminációért a ρ (ró) faktor felelős.

(*6*) A hírvivő v. messenger RNS (mRNS) információátvivő szerepet játszik a fehérjeszintézisben. Nukleotidszekvenciáját a transzláció folyamata egy fehérje aminosavsorrendjére fordítja le. Az mRNS bázishármasait, melyek egy-egy aminosavat kódolnak, kodonoknak nevezzük. A transzfer RNS-ek (tRNS-ek) mint molekuláris adapterek működnek. A tRNS 3′ vége képes megkötni egyfajta aminosavat, a molekula egy másik részén elhelyezkedő antikodon pedig felismeri az mRNS egy specifikus kodonját. A riboszomális RNS-ek (rRNS-ek) a riboszómák strukturális elemei.

(*7*) A transzláció, amely a riboszómákon megy végbe, aminosavakat fűz össze polipeptid láncokká. A riboszómák két alegységből álló kompakt ribonukleoprotein (RNP) partikulumok, melyek biztosítják a megfelelő környezetet ahhoz, hogy az mRNS kodonja és a tRNS antikodonja felismerjék egymást. A riboszóma a kódoló régió 5′ végének közelében kapcsolódik az mRNS-hez, s miközben a 3′ vég irányában halad, az mRNS kodonjait leolvasva minden tripletnél egy aminosavval hosszabbítja a polipeptid láncot. A

PURPress

polipeptidlánc szintézise az N-terminális aminosavval kezdődik és a C-terminális felé halad.

(*8*) A katalitikus aktivitású RNS-t ribozimnak nevezzük. A ribozim lehet különálló szubsztráton ható, vagy intramolekulárisan ható (amely a katalitikus hatást egyetlen ciklusra korlátozza). A katalitikus RNS legjellemzőbb példái a ribonukleáz P, az önkivágó intronok és az önmaguk hasítására képes viroid szekvenciák. Közös sajátosságuk, hogy foszfodiészter kötés hasítására vagy kialakítására képesek in vitro körülmények között is. Bár a reakció specifitásáért és a katalitikus aktivitásért az RNS felelős, RNS-sel asszociált fehérjék hozzájárulhatnak a reakció meggyorsításához in vivo. Az RNS molekulák katalitikus aktivitása azon alapszik, hogy egy specifikus másodlagos-harmadlagos szerkezetet képesek létrehozni, mely aktív helyet alakít ki, hasonlóan, mint a protein enzimek.

(*9*) RNS editálásnak azt nevezzük, ha a genetikai információ az RNS szintjén változik. Ilyenkor az RNS kódoló szekvenciája különbözik attól a DNS szekvenciától, amelyről átíródott.

Kérdések

(*1*) Ismételje át az összes vastag betűvel szedett fogalmat, amit a fejezetben talál.

(*2*) A szerves anyagokat felépítő elemek a C, H, N, O, P és S. Melyik az, amely a DNS-ben megtalálható, de a fehérjében nem? Melyik az, amely a fehérjében megtalálható, de a DNS-ben nem?

(*3*) A Chargaff szabály (A% = T%, G% = C%) nem igaz a ϕX174 bakteriofág és más vírusok esetén. RNS vírusokra sem igaz a módosított szabály (A% = U%, G% = C%). Mi ennek az oka?

(*4*) Ha a Meselson-Stahl kísérletben az *E. coli* sejteket három generáción át növesztik ^{14}N-en, a DNS kettős hélixek hányadrésze lesz köztes sűrűségű, ill. könnyű?

(*5*) Az *E. coli* kromoszóma gyűrűvé zárt DNS. Egyes gének transzkripciója az óramutató járásával megegyező irányban, másoké azzal ellentétes irányban folyik. Milyen következtetést vonhatunk le ebből a DNS értelmes és antiszensz szálára vonatkozóan?

(*6*) Egy mRNS molekula bázisösszetétele a következő: 21% A, 33% U, 28% G, 18% C. Mi a bázisösszetétele a) az értelmes szálnak, b) az antiszensz szálnak, c) a

DUPress

(*6*) Egy mRNS molekula bázisösszetétele a következő: 21% A, 33% U, 28% G, 18% C. Mi a bázisösszetétele a) az értelmes szálnak, b) az antiszensz szálnak, c) a duplahelikális DNS-nek? (Tegyük fel, hogy a kérdéses génen belül nincsenek nem-kódoló DNS szakaszok.)

(*7*) A glicint szállító tRNS antikodonja CCC, a fenilalanint szállítóé pedig AAA. Milyen bázisszekvencia kódolja a glicil-fenilalanint az mRNS-en és a DNS értelmes szálán?

(*8*) Milyen enzimaktivitásai vannak a DNS polimeráz I-nek?

(*9*) Miért képesek lánckezdésre az RNS polimerázok és primázok, és miért nem képesek erre a DNS polimerázok?

(*10*) Mi az alapvető különbség az. *E. coli* kromoszomális DNS replikációja és a gördülő kerék mechanizmusú replikáció között?

(*11*) Ha a DNS-ben az adenin bázisok aránya 18%, mennyi a citozin és a GC párok százalékos aránya?

(*12*) Milyen irányban íródik át a DNS-nek az a szála, amelyik templátként szolgál az RNS polimeráz számára? Az mRNS molekula melyik végén kezdődik a transzláció? A polipeptidlánc szintézise melyik végén kezdődik?

(*13*) Melyek a transzláció iniciációját és terminációját jelző kodonok? Egy véletlenszerű szekvenciában mennyi annak a valószínűsége, hogy 3 szomszédos bázis

a) start kodont adjon?

b) stop kodont adjon?

Válaszok

(*2*) P a DNS alkotóeleme, de nincs a fehérjében; S a fehérjék alkotóeleme, de nincs jelen a DNS-ben. Ezek a különbségek teszik lehetővé az olyan kísérleteket, melyekben *csak* a DNS vagy *csak* a fehérje jelölődik rádioaktív izotóppal.

(*3*) A Chargaff szabály csak duplahelikális nukleinsavakra érvényes. Bizonyos fágok, vírusok DNS-e és a legtöbb RNS molekula egyszálú (bár utóbbiakban molekulán belüli bázispárosodás létrejöhet).

(*4*) 1/4 köztes sűrűségű, 3/4 könnyű, azaz a képződött 8 dupla hélixből 2 molekula egy-egy nehéz és könnyű láncból áll, 6 pedig csak könnyű láncokból.

(*5*) A DNS kettős hélix egyik szála, mely egyik gén esetén az értelmes szál, lehet, hogy egy másik gén esetén az antiszensz szál lesz. Mivel a két DNS szál ellentétes ori-

PUPress

(*6*)

	(a)	(b)	(c)
A	33%	21%	27%
T	21%	33%	27%
G	18%	28%	23%
C	28%	18%	23%

(*7*) mRNS: GGGUUU, a DNS értelmes szála: GGGTTT

(*8*) Az enzimnek van 5′→3′ irányú polimeráz, 3′→ 5′ exonukleáz (korrekciós funkció) és 5′→ 3′ exonukleáz aktivitása.

(*9*) A DNS polimerázok csak egy, a templáttal komplementer polinukleotid 3′ végéhez (a primerhez) tudnak újabb nukleotidokat kapcsolni. Ezzel szemben sem az RNS polimerázok, sem a primázok számára nem szükséges primer a lánckezdéshez.

(*10*) A gördülő kerék replikáció a replikációs origónál az egyik szál behasításával indul, míg az *E. coli* kromoszóma replikációjánál nem történik behasítás.

(*11*) [A]: 18%, [T]: 18%, [G]: 32%, [C]: 32%, GC tartalom: 64%

(*12*) Mivel az RNS transzkriptum 5′ vége szintetizálódik meg először, az átírt templát szál 3′→ 5′ irányú. Az mRNS 5′ végén kezdődik a transzláció, mely során először a polipeptidlánc N-terminális vége készül el.

(*13*) Mivel összesen 64 kodon van, az AUG startkodon előfordulási valószínűsége 1/64. Mivel 3 stop kodon van (UAA, UAG és UGA), annak a valószínűsége, hogy valamelyik előfordulhasson: 3/64.

DUPress

DUPress

13. FEJEZET

A GENETIKAI INFORMÁCIÓ ÉS ANNAK VÁLTOZÁSAI I.

A genetikai kód három betűs szavakból áll

A genetikai kód megfejtése
A genetikai kód tulajdonságai

Mutációk

Báziscserék típusai
Spontán és indukált mutációk
Mutációs forrópontok

Hemoglobin mutációi

Sarlósejtes anémia
Egyéb aminosavcserék
A talasszémiák különböző formái

Kémiai mutagenezis

Mutációk tesztelése
Az Ames-teszt
Testvérkromatid-kicserélődés

A sugárzások hatásai

Az embert érő ionizáló sugárzások
A sugárzások következményei

A meghibásodott DNS molekulák kijavítása

1. Javítás új DNS szintézise nélkül
2. Javítás a meghibásodott DNS szakasz kivágásával (excíziós repair)

DuPress

Nem-komplementer bázispárok kijavítása
Javító mechanizmusok, amelyek valójában nem javítanak
Rekombinációs vagy replikáció utáni javítás
Vészreakció az *E. coli*ban, avagy a DNS hibás „javítása"
A DNS javítás elmaradásának következményei

A jelen- és a következő fejezet ugyanazt a címet viseli – nem véletlenül. A genetika művelői között hosszú időn keresztül érvényesült az a nézet, amely szerint az egyes fajok genomjai meglehetősen kiegyensúlyozott, szervezettségükben alig változó egységek. Bennük a gének elhelyezkedése állandó és a fajra szigorúan jellemző. A mutációs jelleggel bekövetkező esetleges átrendeződésekről azt vélték, hogy azok szinte mindig hátrányos következményekkel járnak és rendszerint kiszelektálódnak a populációkból. A „statikus genom" eszméje az 1940-es években kezdett meginogni, amikor felfedezték, hogy a kukorica genomjában bizonyos genetikai elemek képesek „ugrálni", és ezzel befolyásolhatják egyes gének megnyilvánulását. Mégis negyven évig tartott, mire ezek a felfedezések, karöltve számos későbbi megfigyeléssel, megváltoztatták a genomról alkotott hagyományos elképzelést. Ma már többé-kevésbé általánosan elfogadott, hogy a genomok szerveződése sokkal elasztikusabb, a genom szinte mindig változásban, mozgásban van. Szekvencia-blokkok hasadhatnak ki a kromoszómából és épülhetnek be más kromoszómába.[1] Más esetekben lemásolódnak és a másolataik integrálódnak olyan génekbe vagy gének közé, ahol eddig nem fordultak elő. A jelenség a transzpozíció, és a genomon belüli helyváltoztatásra képes szekvencia-blokkok a ***mozgékony*** vagy ***mobilis genetikai elemek***. Szinte minden megvizsgált fajban találtak ilyen elemeket, beleértve az embert is.

A 13. és 14. fejezetekben leírtak alapján az élőlények genetikai információs rendszere úgy jelenik meg, mint ami folytonosan és sokféleképpen változik. Ezen változások egymással ellentétes irányúak is lehetnek, ugyanakkor a fajok fentmaradásához és fejlődéséhez egyaránt nélkülözhetetlenek.

A genetikai kód három betűs szavakból áll

Az 1960-as évekre a molekuláris biológusok a DNS és RNS reakcióiban felismerték a bázispárosodás jelentőségét. Abban azonban pesszimisták voltak, hogy a közeli jövőben

[1] Ez a jelenség megkülönböztetendő a citogenetikában megismert transzlokációtól!

megfejtik-e a genetikai kódszótárat, azaz azt, hogy egy specifikus nukleotid-szekvencia milyen aminosav sorrendet határoz meg. Mindez azonban viszonylag hamar, 1965-re megtörtént. Ebben a fejezetben jellemezzük a genetikai kódot, s megvizsgáljuk, hogy a DNS szerkezetének változásai milyen változásokat idéznek elő az általuk meghatározott fehérje szerkezetében, s így a fenotípusban.

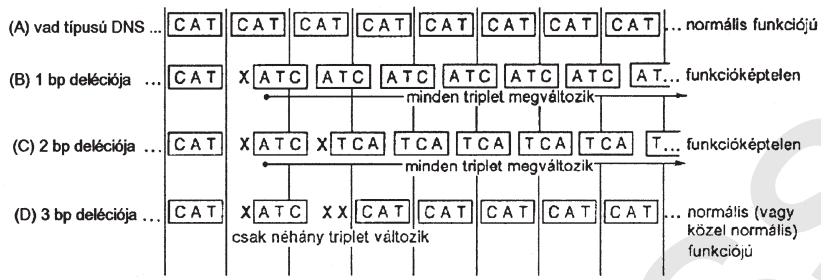
Mivel a fehérjék 20 aminosavból épülnek fel, logikai alapon úgy gondolták, hogy három nukleotidból álló szekvencia szükséges (és egyben elegendő is) az egyes aminosavak kódolására: 1 nukleotid csak 4^1=4 különböző aminosavat kódolhat, 2 nukleotid 4^2=16-ot, míg 3 nukleotid 4^3=64-et, ami már a szükségesnél is több. A természet azonban nem mindig a matematikailag leglogikusabb megoldást választja, úgyhogy a fenti logikai megfontolás nem biztos, hogy igaz is.

Crick és munkatársai bizonyították *E. coli* T4 fágon végzett kísérletekkel, hogy a kódoló egység valóban 3 bp (nukleotid pár) hosszú. A fágot olyan mutagén anyagokkal kezelték, amelyek a DNS-ből eltávolítanak, vagy ahhoz hozzáadnak 1-1 nukleotidot. Az így kapott fágok keresztezésével sikerült olyan fág-törzseket előállítani, melyekben 1, 2 vagy 3 egymáshoz közeli bp hiányzott, vagy beékelődött a szekvenciába.

Amikor 1 bp hiányzott (13.1B. ábra), az utána következő tripletek megváltoztak, s a vírus géntermék funkcióképtelen volt. Ma már tudjuk, hogy 1 nukleotid deléciója a ***leolvasási keret eltolódását*** (*frameshift*) okozza. Egy ilyen elcsúsztatott leolvasási keret azt eredményezi, hogy a DNS minden, vagy majdnem minden tripletje, s ennek megfelelően az mRNS kodonjai is megváltoznak, ami egy teljesen megváltozott polipeptidet eredményez. Ha az elsőhöz közel egy második bp deléciója is bekövetkezik (13.1C. ábra), a helyzet nem változik, mivel a leolvasás még mindig nem a megfelelő keretben történik. A harmadik bp deléciója után azonban helyreáll az eredeti leolvasási keret (13.1D. ábra). Három bp kiesésekor egyes fágok fertőzőképesek voltak, s az *E. coli* sejteket elpusztították, azaz a géntermék fehérje – bár néhány aminosava megváltozott – normális vagy közel normális funkciójú maradt. 4 vagy 5 bp elvesztése – az 1 vagy 2 bp deléciójához hasonlóan – funkcióképtelen fágot eredményezett. Ezek a tények azt támasztották alá, hogy *egyetlen aminosav meghatározásáért egy 3 nukleotid hosszúságú egység a felelős.* Ugyanerre mutattak azok a megfigyelések is, amelyekben 3 extra bp beépülésekor a 3 bp kieséséhez hasonlóan normális funkciójú fágokat is kaptak, míg 1 vagy 2 extra bp beépülésekor sohasem. Ugyancsak normál funkciójú fágot kaptak, ha egy bp deléciója és 1 egy másik bp közeli beépülése ment végbe. A két hiba együtt helyreállította az eredeti leolvasási keretet. Ezek a megfigyelések azt is bizonyították, hogy a genetikai kód folytonos, nincsenek benne elválasztó „pontok", ill. „vesszők".

A transzlációban a helyes leolvasási keret kijelölése egy speciális kodonnak (metionin) az mRNS molekula kódoló szakasza elé való illesztésével történik. Ha egyszer a

kezdőpont kijelölése megtörtént, az azt követő bázishármasok leolvasása folytonos, az egyes tripletek elválasztás nélkül követik egymást (l. 12. fejezet).



13.1. ábra. *A genetikai kód triplet voltának bizonyítéka.* Crick és mtsai egy esszenciális génben deléciós vírus mutánsokat állítottak elő. Az egy ill. két nukleotid kiesést elszenvedett mutánsok életképtelenek (B, C), míg az egymáshoz közeli három nukleotidra deléciós mutáns funkcióképes lehet (D). A bázisok inszerciója és deléciója *frameshift* (kereteltolás) mutációt eredményez, mivel a tripletek leolvasási kerete változik meg. Három bázis kiesése a harmadik deletált bázisnál visszaállítja az eredeti leolvasási keretet.

A GENETIKAI KÓD MEGFEJTÉSE

Az első, a genetikai kód megfejtésére irányuló kísérletek mesterségesen szintetizált, ismert bázissorrendű RNS molekulákat használtak a következő komponenseket tartalmazó reakcióelegyben:

- *E. coli* sejtkivonat. Ez tartalmaz számos, a fehérje szintézishez szükséges komponenst, mint amilyenek a riboszómák, aminosavak, tRNS-ek, enzimek (pl. az aminosav-tRNS szintetázok, iniciációs és *release*[2] faktorok), de nem tartalmazott mRNS-t, ami templátként beindíthatta volna a reakciót.
- ATP, GTP.

Az így összeállított *in vitro* rendszer alkalmas volt polipeptidek szintézisére. Ha pl. a mesterségesen szintetizált RNS poliuridilsav

(...UUUUUUUUUUUU...)

volt, akkor a keletkezett molekula csak fenilalanint

(...F F F F ...)

tartalmazott.

---

[2] A polipeptid láncok szintézisének végén a láncot a riboszóma komplexből kiszabadító fehérje

A következtetés egyértelmű. Az RNS UUU kodonja (ami a DNS AAA tripletjéről íródik át) a fenilalanint határozza meg a polipetid láncban.

Ahogy a biokémiai módszerek fejlődtek, s nemcsak monoton szekvenciájú RNS molekulákat tudtak szintetizálni, úgy haladt előre a kódszótár megfejtése. Az alábbiakban két további példát mutatunk be.

1. Ha a mesterséges mRNS alternáló bázisokból állt,

...UGUGUGUGUGUG...

akkor a keletkezett polipeptid váltakozva valint és ciszteint tartalmazott:

...V C V C ...

azaz a valin kodonja UGU és a ciszteiné GUG (vagy fordítva, a valiné GUG és a ciszteiné UGU).

2. Amennyiben a mRNS szekvenciája egy ismétlődő trinukleotid,

...UUCUUCUUCUUC...

három különböző polipeptid szintetizálódik:

...F F F F ...(polifenilalanin)
...S S S S ...(poliszerin)
...L L L L ...(polileucin)

A három ismétlődő trinukleotid (UUC, UCU és CUU) a három aminosav kodonja, mivel a transzláció ebben a kísérleti rendszerben bármelyik leolvasási keretben elkezdődhet. Az azonban hogy melyik kodon melyik aminosavé, ebből a kísérletből nem dönthető el. Ez a kísérlet egyúttal a genetikai kód triplet voltát is megerősíti, hiszen ha a kód két vagy négy nukleotidból állna, akkor ebben a kísérletben olyan polipeptidek keletkeztek volna, amelyek három különböző aminosavból állnának. Ilyen és hasonló kísérletek alapján mára sikerült a kódszótár mind a 64 lehetséges tripletjének a jelentését egyértelműen meghatározni (13.1. táblázat).

A GENETIKAI KÓD TULAJDONSÁGAI

(*1*) Egyetlen aminosavat több bázishármas is kódolhat. Ezt nevezik ***a genetikai kód degeneráltsá***gának, mivel a 20 aminosav kódolására összesen – elvileg – 64 triplet áll rendelkezésre. Ezt figyelembe véve is meglepő, hogy egyes aminosavaknak (leucin, szerin, arginin) hat kodonja is van (13.1. táblázat). Néhány aminosavat (pl. valin) négy kodon határoz meg. Ezekben az esetekben tehát a harmadik bázis milyensége közömbös. Amennyiben a degeneráltság kétszeres, (vagyis egy aminosavat két bázishármas határoz meg, pl. fenilalanin), akkor a harmadik pozicióban vagy a két purinbázist (A és G), vagy a két pirimidinbázist (U és C) találjuk. Tehát a kód degeneráltsága általában a harmadik bázist érinti. Az egyes aminosavakat meghatározó szinonim kodonok száma korrelációt

mutat az illető aminosavnak a fehérjékben való előfordulási gyakoriságával. Így pl. a leggyakrabban előforduló aminosavnak, a szerinnek hat kodonja van, míg a legritkábban előforduló triptofánnak csak egy.

13.1. táblázat. *A genetikai kódszótár.* Konvencionálisan az mRNS kodonjait 5'→3' sorrendben szokás megadni. Az aminosavak hárombetűs rövidítése után zárójelben az ugyancsak gyakran használt egybetűs jelöléseket is feltüntettük.

	U	C	A	G	
U	UUU Phe (F)	UCU Ser (S)	UAU Tyr (Y)	UGU Cys (C)	U
	UUC Phe (F)	UCC Ser (S)	UAC Tyr (Y)	UGC Cys (C)	C
	UUA Leu (L)	UCA Ser (S)	UAA „STOP"	UGA „STOP"	A
	UUG Leu (L)	UCG Ser (S)	UAG „STOP"	UGG Trp (W)	G
C	CUU Leu (L)	CCU Pro (P)	CAU His (H)	CGU Arg (R)	U
	CUC Leu (L)	CCC Pro (P)	CAC His (H)	CGC Arg (R)	C
	AUA Leu (L)	CCA Pro (P)	CAA Gln (Q)	CGA Arg (R)	A
	CUG Leu (L)	CCG Pro (P)	CAG Gln (Q)	CGG Arg (R)	G
A	AUU Ile (I)	ACU Thr (T)	AAU Asn (N)	AGU Ser (S)	U
	AUC Ile (I)	ACC Thr (T)	AAC Asn (N)	AGC Ser (S)	C
	AUA Ile (I)	ACA Thr (T)	AAA Lys (K)	AGA Arg (R)	A
	AUG Met (M)	ACG Thr (T)	AAG Lys (K)	AGG Arg (R)	G
G	GUU Val (V)	GCU Ala (A)	GAU Asp (D)	GGU Gly (G)	U
	GUC Val (V)	GCC Ala (A)	GAC Asp (D)	GGC Gly (G)	C
	GUA Val (V)	GCA Ala (A)	GAA Glu (E)	GGA Gly (G)	A
	GUG Val (V)	GCG Ala (A)	GAG Glu (E)	GGG Gly (G)	G

A kód degeneráltságával részben összefüggő jelenség az ún. ***lötyögés*** (*wobble*). Ez azt jelenti, hogy transzláció során az mRNS kodonjának harmadik bázisa és a hozzá kapcsolódó tRNS közötti párosodás nem felel meg a szigorúan vett komplementaritási szabálynak (A=U és G≡C). Például az egyik szerin tRNS antikodonja AGI (3'→5' sorrend, a kodon-antikodon kapcsolódás is antiparallel). Az I inozint jelöl, amely a guaninhoz hasonló purin bázis, s az UCU, UCC és UCA kodonokkal egyaránt képes párosodni.

Bár a genetikai kód degenerált, és a harmadik pozícióban lötyögés is előfordulhat, mégsem pontatlan vagy kétértelmű; egy bizonyos bázishármas mindig ugyanannak az egyetlen aminosavnak a beépülését irányítja a transzláció során.

(*2*) A kémiailag egymáshoz hasonló aminosavak kodonjai hasonlóak. Az egyes aminosavaknak megfelelő tripletek megoszlása nem véletlenszerű. A 13.1. táblázat első oszlopában található aminosavak mindegyike töltés nélküli, apoláros oldalláncot tartal-

maz, s a nekik megfelelő kodon középső bázisa minden esetben U. Ezek az aminosavak általában a globuláris fehérjék belsejében találhatók, s nem érintkeznek a fehérjéket körülvevő vizes fázissal. A töltéssel rendelkező aminosavak kodonjai szintén hasonlóak: a két monoamino-dikarbonsav (aszparaginsav és glutaminsav) kodonjai GA-val kezdődnek, s a két diamino-monokarbonsav (lizin és arginin) kodonjai ugyancsak hasonlóak. Az nem világos, hogy az evolúció során ez hogyan alakult ki, de egy lehetséges magyarázat, hogy ilymódon a mutációk és a transzlációs tévesztések következményei a lehető legkisebbek; a fehérje funkciója ugyanis nagy valószínűséggel megmarad, ha egy transzlációs hiba, ill. mutáció következtében a polipeptid láncba beépülő aminosav reakciókészsége hasonló ahhoz az aminosavéhoz, amely helyett beépült.

(*3*) A kodonok közül három nem kódol aminosavat. A genetikai kód fentebb leírt megfejtése közben a kutatók azt találták, hogy az UAA, UAG és UGA tripletek nem építettek be a polipeptidbe semmilyen aminosavat. Ezeket a tripleteket ***értelmetlen kodonok***nak (*nonsense*) szokás nevezni. Helyesebb azonban ***láncterminátor,*** vagy ***stop kodon***nak nevezni őket, hiszen ezeknél a tripleteknél fejeződik be a transzláció, s válik le a megszintetizált polipeptid a riboszómáról. Az erre utaló kísérleti eredményeket mutáns mikroorganizmusokkal nyerték; ha pl. az mRNS tirozin kodonjának harmadik pozíciójába A vagy G bázis került, minden esetben egy, az eredetinél rövidebb polipeptidlánc szintetizálódott, azaz a transzláció idő előtt félbeszakadt.

(*4*) A genetikai kód (majdnem) univerzális. A genetikai kód megfejtése során szintetikus RNS molekulákat és *E. coli* sejtkomponenseket használtak. Később kiderült, hogy a tripletek jelentése majdnem minden élőlényben ugyanaz. Ennek igazolása nem jelent problémát, hiszen ma már a gének, mRNS molekulák és a nekik megfelelő fehérjék izolálása és szekvenciájuk meghatározása viszonylag egyszerű. Ilyen vizsgálatok alapján megerősítették, hogy az *E. coli* T4 fágjában, az *E. coli* baktériumban, az élesztőben, a kukoricában, különböző rovarokban, emberben és a legtöbb élőlényben ugyanaz a genetikai kód érvényes.

Jól működő *in vitro* fehérjeszintetizáló rendszert lehet összeállítani úgy is, hogy annak egyes komponensei más-más fajból származnak. Ha a béka petesejtbe nyúl globin mRNS-t juttatunk be, abban nyúl hemoglobin szintetizálódik. Ha pedig a házimén mérgének mRNS-ét fecskendezzük be, a béka petében méhméreg szintetizálódik. Amint a következő fejezetből látni fogjuk, az *E. coli* bélbaktérium képes a genomjába illesztett emberi gének transzkripciójára és transzlációjára egyaránt. (Ez esetben azonban a humán gének intronjait előzetesen, a baktérium genomba való beültetés előtt el kell távolítani, mivel a prokarióta sejtekben sem intronok, sem pedig az intronoknak a hnRNS molekulából való eltávolítására szolgáló enzimek nincsenek.)

Az elmúlt években az is kiderült, hogy a 13.1. táblázatban megadott kódszótár számos esetben nem teljesen érvényes. Így az eddig vizsgált összes esetben a mitokondriumok mRNS-ében az UGA triptofánt kódol, és nem stop kodon.[3]

A genetikai kód univerzális volta arra utal, hogy az az evolúció során egyszer – mintegy hárommilliárd évvel ezelőtt – alakult ki. Az is lehetséges, hogy a kód kezdetben csak két nukleotidból állt, hiszen bizonyos, nagyon primitív baktériumfajok fehérjéiben 16-nál kevesebb aminosav-féleség található.

Mutációk

Mutáción a gének nukleotid-szekvenciájának a megváltozását értjük. Majdnem minden ilyen változás kedvezőtlen hatással van a gén funkciójára, de ez nem feltétlenül jelentkezik az élőlény szintjén. Egy sor olyan celluláris folyamat van, amelyik a DNS-ben bekövetkezett változásokat kijavítja, mielőtt a DNS-molekula mitózis vagy meiozis során az utódsejtbe kerülne. A változás igen gyakran ***báziscsere***, amikor is egy bázis helyére egy másik épül be. Amennyiben egy purinbázis helyére másik purin, ill. egy pirimidinbázis helyett másik pirimidin épül be, ***tranzíció***ról (*transition*), amennyiben purin-pirimidin ill. pirimidin-purin csere következik be, ***transzverzió***ról (*transversion*) beszélünk. A mutációk egy következő fajtája a ***kereteltolódásos mutáció*** (*frameshift mutation*), amikor is a leolvasási keret egy ***bázis kivágódása*** (deléció, *deletion*) vagy ***beékelődés***e (inszerció, *insertion*) miatt megváltozik. Mindkét típusú mutációt ***pontmutáció***nak (*point mutation*) nevezzük, mivel csak egyetlen bázist érintenek. Ezek a mutációk a kromoszómák mikroszkópos vizsgálata során természetszerűleg nem láthatóak.

Szélesebb értelemben a mutációkhoz szokás sorolni azokat a változásokat is, amelyekben mikroszkóposan észlelhető kromoszóma-aberrációk (deléció, duplikáció, inverzió, transzlokáció, aneuploidia és poliploidia) észlelhetők. Ezeket a genom-mutációkat a 11. fejezet tárgyalja.

Általában a mutáción egy gén, a gént alkotó DNS szekvenciájának megváltozását értjük. A mutáció kisebb-nagyobb mértékben megváltozott tulajdonságú, mutáns fenotípusú egyedet eredményezhet. A mutáns allélek gyakran hátrányosak, de ez sem mindig nyilvánvaló és nem könnyen belátható (l. 12. fejezet).

---

[3] Ugyancsak újabban fedezték fel, hogy egyes egysejtűek (pl. *Paramecium*) nukleáris kodonhasználata is eltér az univerzálistól. Az UAA és UAG kodonok például nem stop kodonként működnek, hanem glutamint határoznak meg.

A valóságban a mutáció fenotípusos megjelenése időben elválhat a gén megváltozásától, különösen, ha a mutáció – mint sok esetben – recesszív. Ezek a mutációk csak akkor jelentkeznek, ha megtermékenyítéskor az ivarsejt egy olyan gamétával egyesül – és hoz létre zigótát – amelyben ugyanaz a gén változott meg. Ilyen esetben gyakori, hogy az allelomorf génpáron maguk a mutációk különbözőek (egymástól függetlenül keletkeztek), de fenotípus alapján az egyed homozigóta recesszívnek mutatkozik. Ez utóbbi esetben nevezzük az utódot ***compound heterozigóta***nak.

Bár a mutáció a sejtben bármikor végbemehet, leggyakrabban mégis a DNS replikációja során jön létre. Ha olyan sejtet érint, amelyből ivarsejtek keletkeznek, ***germinális mutáció***ról beszélünk. A test bármely egyéb sejtjében (máj, tüdő, hám, stb.) létrejövő szekvencia változás ***szomatikus mutáció***. Ez utóbbi csak a mutációt hordozó egyedben (ill. az érintett sejtben és annak utódaiban) jelenik meg, az utódoknak nem adódik át. Ezzel szemben a germinális mutáció általában nem érinti azt a személyt, akiben ez bekövetkezett, de az utódaiba továbbadódhat. Ha azonban a mutáció az embrionális fejlődés nagyon korai stádiumában jön létre, még mielőtt az ősivarsejtek kialakulnak, az illető mind a szomatikus, mind a germinális sejtjeiben mutáns lehet. Úgy gondolják, hogy a daganatok kialakulásának egyik korai lépése egy szomatikus mutáció (l. 17. fej). Ebben a fejezetben azonban elsősorban a germinális mutációkkal foglalkozunk.

A BÁZISCSERÉK TÍPUSAI

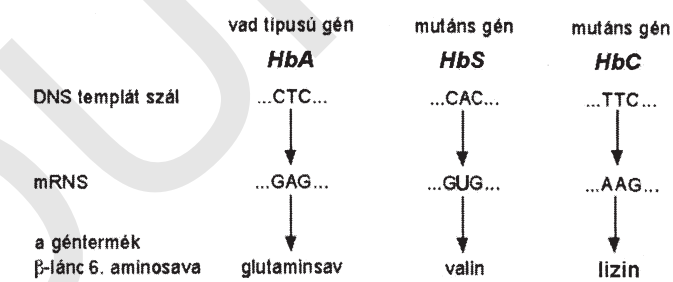
Az egyes génekben történt mutációk eredményeként az általuk kódolt fehérjék egy vagy több aminosava megváltozik. Ennek klasszikus példája a humán β-globin-génben történt mutáció, amelynek eredményeként a normál hemoglobin helyett az ún. *sarlósejtes hemoglobin* keletkezik. A mutáció egyetlen aminosav kodonját érinti, amelynek eredményeként glutaminsav helyett valin épül be (13.2. ábra). Nem teljesen tisztázott, hogy ez a mutáció hányszor jöhetett létre az emberi populációkban, de az egyes mutációk általában nagyon ritkán ismétlődnek (l. 20. fejezet).

A mutáns gén hatása a fenotípusra a jelentéktelentől a halálosig (letális) változhat. A legártalmatlanabb, a fenotípusban egyáltalán nem jelentkező mutáció, amelyet csak a DNS vagy mRNS szekvencia-analízisével észlelhetünk. Ilyenkor a triplet megváltozása egy másik, de ugyanazt az aminosavat kódoló, szinonim tripletet eredményez. Pl. az AAA triplet megváltozása AAG-re ilyen, hiszen mindkettő a fenilalanint kódolja. (A mutáció ezen fajtáját ***same sense*** [azonos értelmű], vagy ***silent*** [néma] ***mutáció***nak nevezik.)

Mivel minden egyes bázis három másikra cserélődhet, egyetlen tripleten belüli egyetlen báziscsere összesen kilenc különböző tripletet eredményezhet (13.3. ábra).

Ha egy mutáció aminosavcserét eredményez (***missense mutáció***), következményei attól függnek, hogy az új aminosav-oldallánc hogyan változtatja meg a fehérje tulajdonságait, és annak milyen hatása van az illető egyed fejlődésére. Nagyon sok mutáció lényegtelen fenotípusos változást idéz elő emberben. Ilyen mutáció például az, amelyik megszabja, hogy a fejtetőn a hajtincsek az óra járásával megegyező, vagy azzal ellentétes irányba dőljenek, a szőrös könyök, a puha vagy keményebb fülzsír, vagy egy kis gödröcske megjelenése a fülcimpák szélénél (13.4. ábra). Az ilyen jelentéktelen fenotípusos változásokat előidéző mutációkkal szemben vannak olyan mutációk, amelyek csecsemő-, vagy korai gyermekkorban (Tay-Sachs betegség), ifjú- (Duchenne izomsorvadás, cisztikus fibrózis), vagy felnőttkorban (Huntington chorea) halált okoznak. E két szélsőség között vannak azok a mutációk, melyek kisebb kellemetlenséget, panaszokat, vagy súlyos betegséget jelentenek a hordozók számára (rövidujjúság, kopaszság, albinizmus, törpenövés, *diabetes mellitus* bizonyos változatai, hemofília, stb.).

Azok a mutációk, amelyek stop kodont hoznak létre (***nonsense*** = értelmetlen, aminosavat nem kódoló ***mutáció***), vagy stop kodont szüntetnek meg, olyan polipeptideket eredményeznek, amelyek a normálistól rövidebbek ill. hosszabbak. Egy ilyen mutációt írtak le egy talasszémiás olasz férfi esetében (l. alább), akiben a mutáns génről teljesen funkcióképtelen fehérje keletkezett. DNS-ének analízise azt mutatta, hogy a 39. aminosav kodonja CAG-ről, ami glutamint kódol, UAG stop kodonra változott. Ezért a β-globin szintézise a 38. aminosav után befejeződött. (A normális β-globin 146 aminosavat tartalmaz.) Ez a rövid polipeptid teljesen funkcióképtelen. Olyan mutációt is ismerünk, amely a normálisnál hosszabb polipeptidet eredményez. Az α-globin gén esetében erre vonatkozó példát e fejezetben alább írunk le.



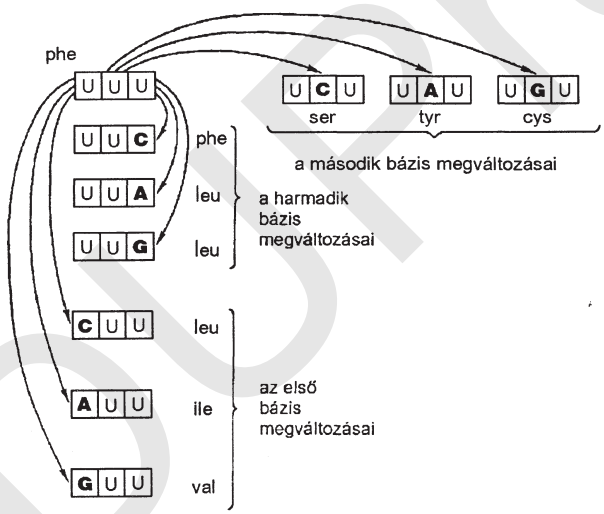
13.2. ábra. *A β-globin lánc génjének két leggyakoribb mutációja.* A mutációk a polipeptid lánc N-terminális 6. pozícióját kódoló glutaminsav tripletjének egyetlen bázisát érintik, glutaminsav (*HbA* [a normális β-globin lánc génjének jelölésére használt rövidítés]) helyett valin (*HbS*), ill. lizin (*HbC*) beépülését eredményezik (l. alább).

DUPress

A tRNS-ek génjeiben bekövetkező báziscserék különböző, igen érdekes hatásúak lehetnek. Ha például a mutáció a tRNS génjének antikodont meghatározó bázisai közül egyet megváltoztat, de a tRNS aminosavkötő képessége változatlan marad, a róla szintetizálódó tRNS molekula nem a kodon által meghatározott aminosavat fogja beépíteni a transzláció során, mivel a transzláció során a riboszómák felületén már a kodon-antikodon komplementaritás a meghatározó. (Ezek a mutációk bizonyos esetekben a gén megváltozása következtében létrejövő aminosavcseréket is kiküszöbölhetik. Mivel ilyenkor egy [második] mutáció az első hatását elnyomja, ezt ***szuppresszor mutáció***nak nevezik.)

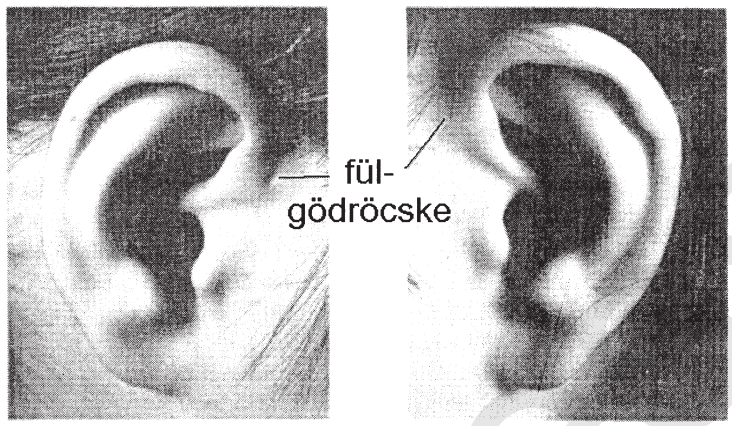
SPONTÁN ÉS INDUKÁLT MUTÁCIÓK

Azokat a véletlenszerűen előforduló mutációkat, melyek semmilyen ismert környezeti tényezővel nem hozhatók összefüggésbe, ***spontán mutációk***nak nevezzük. Ezek a DNS és más molekulák hőmozgásának és elsősorban a replikáció során való kölcsönhatásának az eredményei.



13.3. ábra. *A kilenc lehetséges báziscsere a fenilalanin tripletjének példáján (AAA) bemutatva.* A szubsztitúciók az mRNS UUU kodonjának megváltozásait mutatják. A lehetséges szubsztitúciók eredményeként létrejövő kodonok közül egy változatlanul fenilalanint kódol (*same sense* mutáció), három leucint határoz meg (*missense* mutáció), stb. Az ábra szerkesztése megfelel a 2. táblázatban megadott kódszótárnak.

DUPress



13.4. ábra. *Egy jelentéktelen örökletes fenotípus, a fülcimpánál látható gödröcske.* Az itt bemutatott személy (akinek normális hallása van) családjának sok tagja ugyancsak mutatja ezt a jelleget, s ezek között néhánynak hallási problémái is vannak.

Az ***indukált mutáció*** a gének olyan megváltozását jelenti, amely valamilyen ***mutagén tényező***vel való kölcsönhatás eredményeként jön létre. Mutagén lehet a számunkra egyébként fontos sok különböző kémiai anyag, pl. rovarirtó, élelmiszeripari festék, zamatanyag, tartósítószer, gyógyszer, és biztosan mutagének a cigarettafüst egyes komponensei. Mutagének az ionizáló sugárzások (röntgensugárzás, különböző eredetű radioaktív sugárzások [atomerőmű, atomrobbantás, stb.]). Amint a lista mutatja ezek az ipari társadalmak káros hatásai. Vannak azonban olyan megkerülhetetlen természetes körülmények is, amelyek ugyancsak mutagének. Ilyenek a természetes radioaktivitás, vagy a táplálékként elfogyasztott növények és állatok által (pl. a ragadozóik ellen védekezésül) termelt toxikus anyagok.

MUTÁCIÓS FORRÓPONTOK

Bár a DNS szerkezete alapján azt várnánk, hogy a mutáció előfordulási gyakorisága a molekulában mindenütt azonos, kiderült, hogy ez nem így van. Bizonyos nukleotidoknál a mutáció sokkal gyakrabban fordul elő az átlagosnál. Ezeket hívjuk mutációs forrópontoknak.

A mutációs forrópontok gyakori oka azonos nukleotidokból álló szekvenciák, vagy trinukleotid ismétlődő szekvenciák előfordulása, melyek a replikáció során „csúszást" okozhatnak ami azt jelenti, hogy, hogy bizonyos szekvencia kétszer/többször (expanzió), vagy egyáltalán nem (deléció) kerül replikációra.

Másik, igen gyakori ok a sejtekben lejátszódó két reakció: a citozin metilációja, illetve a spontán dezaminálási reakciója. A citozin dezaminálási terméke uracil, s mivel az uracil nem DNS bázis, ezt egy enzimrendszer felismeri és kijavítja (l. alább). Az 5-metil-citozin viszont, bár maga a replikáció során ugyancsak a guaninnal párosodik, s nem okoz mutációt, dezaminálás eredményeképpen timint ad, ami normál DNS bázis, ezért nem javítódik ki. Ez aztán G-C → A-T tranzícióhoz vezet.

A hemoglobin mutációi

Még mielőtt a DNS szerkezetét és funkcióját felfedezték volna, Pauling kimutatta, hogy a sarlósejtes anémiában szenvedő betegek hemoglobinja elektroforézis során az egészségesek hemoglobinjától eltérő sebességgel vándorol. Az érintett személyek, ahogy akkor nevezték, egy ***molekuláris betegség***ben szenvedtek, amelyet egy megváltozott allél által kódolt fehérje okozott. A mutáns fehérje izolálásával, kisebb fragmentekre bontásával és azok analízisével kimutatták, hogy a betegségért felelős allél egy olyan fehérjét kódol, amely egyetlen aminosavban különbözik a normálistól. A hemoglobin-molekula szerkezetének és a génnek a vizsgálata során a későbbiekben az α és β polipeptideknek összesen több, mint 350 különböző megváltozását írták le. Mivel ez a munka segített minden más élőlény molekuláris biológiájának a megértésében is, ezért a mutáció tanulmányozását és néhány klinikai vonatkozását ezen keresztül mutatjuk be.

SARLÓSEJTES ANÉMIA

A legjobban tanulmányozott hemoglobin mutáció, már csak orvosi jelentősége miatt is, a sarlósejtes anémia vagy sarlósejtes vérszegénység. Az ebben a betegségben szenvedők homozigóták ($Hb^S Hb^S$) a sarlósejtes allélre nézve. A heterozigóták ($Hb^A Hb^S$, ahol Hb^A a normál gén) az ún. sarlósejtes jelleget mutatják. Ők gyakorlatilag egészségesek, s jelleghordozó voltuk csak oxigén-hiányos környezetben derül ki: ekkor válnak vértestjeik sarló alakúvá (2.9. ábra).

A mutáns fehérjében valin helyettesíti a β-lánc 6. pozíciójában levő glutaminsavat (13.2. ábra). A homozigótákban ez némileg megváltoztatja a hemoglobin molekula szerkezetét. A vénás vérben ezek a molekulák ún. *tactoid*okat[4] képeznek, s torzítják a vörösvértestek alakját (l. 2.9. ábra). A sarlósejtek rendellenességei akadályozzák a véráramlást, ami megnöveli azok tüdőbe való visszatérésének az idejét, s ezáltal tovább fokozza a vörösvértestek deformitását (13.5. ábra) és azok elveszítik hajlékonyságukat. A visszafordíthatatlanul megváltozott szerkezetű sarlósejtek életideje a normális négy hónapról lerövidül néhány hétre. Ezen felül, a sarlósejtek a vékony kapillárisokban megrekednek, ami lokális oxigén ellátási zavarokat okoz, s ez szövetek elhalásával, fertőzésekkel és fájdalommal párosul. Az elpusztult vörösvértestekből a keringésbe kikerülő hemoglobin szervkárosító hatású. Mindez nem kevesebbet jelent, minthogy egyetlen nukleotid cseréje a DNS-ben végül is halálhoz vezet.

A sokirányú klinikai kutatások ellenére nincs megfelelő gyógymód a betegség szerteágazó tüneteinek kezelésére. A fájdalom, valamint a krízisek száma és ideje csökkenthető pihenéssel, transzfúzióval és antibiotikumokkal. Bizonyos gyógyszerek valamelyest csökkentik a sarlósejtképződés mértékét, de súlyos mellékhatásaik vannak. A sarlósejtes anémia prenatális diagnosztikája azonban már megoldott, s a heterozigóta házaspárok beteg magzatok esetén dönthetnek a terhesség-megszakítás mellett (l. 18. és 22. fejezet).

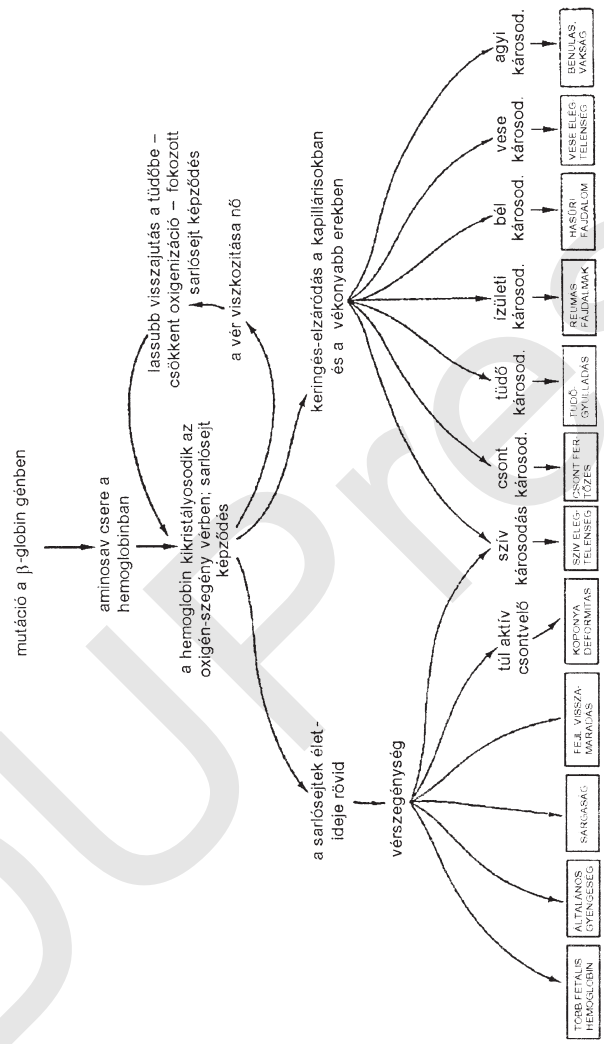
A sarlósejtes anémia elsősorban afrikai feketékben és leszármazottaikban fordul elő. Az Egyesült Államokban az újszülött feketék között a gyakorisága 1/600, ami lényegesen magasabb, mint bármely más örökletes betegségé az amerikai népességben. A sarlósejtes anémia gyakori előfordulásának magyarázatát részletesen a 21. fejezetben írjuk le. Itt röviden csak annyit, hogy a heterozigóták (Hb^AHb^S) maláriával szemben sokkal ellenállóbbak, mint az egészségesek (Hb^AHb^A). Ennek következtében a világ azon részein, ahol a malária még ma is gyakori, a Hb^S mutáns is gyakori, mivel hordozója szelekciós előnyt élvez. Maláriamentes régiókban, mint amilyen az USA, a heterozigótáknak nincs szelekciós előnye, ezért a génfrekvencia generációról generációra fokozatosan csökken.

EGYÉB AMINOSAVCSERÉK

A sarlósejtes anémiához hasonlóan az egyre növekvő számban felismert egyéb globin-lánc változatok többsége ugyancsak egyetlen aminosavcserére vezethető vissza. Az α polipeptidnek McKusick 154 változatát írja le, melyek 11 kivételtől eltekintve a 141

[4] Tactoid: egymással párhuzamosan rendeződött részecskékből – esetünkben a hemoglobin S-ből – álló komplex kolloid rendszer.

aminosavból álló lánc egy-egy aminosavát érintik. Igen érdekesek a 141. aminosav különböző cserei. Ezekben az arginin hat különböző aminosavval (leucin, prolin, hisztidin,



DUPress

13.5. ábra. *A sarlósejtes anémia (homozigóta $Hb^S Hb^S$) tünetei.* A tünetek megjelenése személyenként nagyon változó lehet. Nem minden beteg mutatja az összes tünetet, illetve azok súlyossága is változó. Bár a többség még gyermekkorban meghal, a felnőttkor megérése sem ritka (Jó példája ez a pleiotróp génhatásnak is, l. 4 fejezet).

cisztein, szerin és glicin) való helyettesítése ismert. Érdemes megjegyezni, ez egyben azt is jelenti, hogy ebben a pozícióban az eredeti kodon CGU vagy CGC volt! Az α–lánc 143 leírt *missense* mutációja mind olyan – a 13.3. ábra szerinti – báziscsere, mely a kódtáblázatban horizontális vagy vertikális ugrást jelent. A táblázatban átló menti ugrás csak akkor várható, ha két bázis cserélődik ki egyszerre. Ez arra utal, hogy a tipikus mutáció általában egyetlen bázis cseréjét jelenti.

A globin-lánc ismert mutációinak eloszlása nem véletlenszerű. Többségük vagy egy töltéshordozó aminosavnak töltés nélkülire való cseréje, vagy fordítva. Ez a valós helyzetnek a mutációk vizsgálatának módszeréből adódó torzítása. A legtöbb mutációt ugyanis a tünetmentes egyének hemoglobinjának elektroforetikus vizsgálata során fedezték fel. Mivel az elektroforézis a molekulák össztöltése alapján választja el a fehérjéket, ezeket a legkönnyebb detektálni. A kodontáblázat alapján nyilvánvaló, hogy a véletlenszerűen előforduló báziscseréknek csak mintegy negyede okoz olyan aminosavcserét, amely töltésváltozással jár. Ezért, bár a hemoglobinban több mutáció ismeretes, mint bármely más fehérjében, a legtöbb aminosavcsere a detektálási technika jellege miatt – ezidáig – rejtve maradt.

Az emberi hemoglobin aminosavcseréinek többsége nagyon ritka, gyakran csak egy, vagy néhány családban találták meg, és többnyire nem is okoznak súlyos kórképet. Ritkaságuk miatt ezeket általában csak heterozigóta formában észlelték, így a homozigótaság következményei nem is igen ismertek. Ez alól csak a sarlósejtes és néhány más hemoglobin (Hb^C, Hb^D, Hb^E,) a kivétel, amelyek ugyancsak a vörösvértest sarlósejtszerű megváltozását okozzák. A C, D vagy E hemoglobinra homozigóták csak igen enyhe anémiás tüneteket mutatnak, s általában normális életvitelűek. Mivel ezek a hemoglobinváltozatok ugyancsak gyakoribbak maláriás vidékeken, úgy tartják, hogy bizonyos mértékben ezek a heterozigóták is ellenállóbbak a betegséggel szemben.

Bizonyos aminosavcserék a hemoglobin-molekulák instabilitását okozzák, ami ugyancsak csökkenti a vörösvértestek élettartamát. Megint más változatokban az oxigén túl erősen kötődik a molekulához, így abból kevesebb szabadul fel a szöveti kapillárisokban. Gyakori az olyan mutáció, amely azokat a hisztidineket érinti, melyek a hem-csoport aktiválásában vesznek részt. Ebben az ún. methemoglobinban (röv. M hemoglobin) a vas ferri-ionként (Fe^{3+}) van jelen a normál ferro (Fe^{2+}) helyett, és oxigént egyáltalán

nem köt. A fehér bőrű populációban az M hemoglobinra homozigóták cianotikus (kékes-szürke) bőrűek, s általában enyhén anémiásak.

Néhány olyan hemoglobin-változat is ismert, amelyekben két aminosav cserélődött ki. Az egyik, amelynek a neve Arlington Park (általában a felfedezésük helye alapján nevezik el őket), a β-láncban tartalmaz két báziscserét. A 6. glutaminsav lizinre, a 95. lizin pedig glutaminsavra cserélődött. Mindegyik mutáció ismeretes külön-külön is. Az első a hemoglobin C, a második pedig a hemoglobin N (Baltimore hemoglobin). A kettős mutáns lehet két egymást követő mutáció eredménye, de még valószínűbb, hogy a két egyedi mutációra nézve heterozigótában – compound heterozigótában – létrejött *crossing over* következménye.

A TALASSZÉMIA KÜLÖNBÖZŐ FORMÁI

A fentebb tárgyalt hemoglobin-mutációkban a hemoglobin funkcióképessége megváltozott, de a mutáns hemoglobin-molekula termelése a normálisnak megfelelő szinten volt. A ***talasszémiák***ban (*thalassaemia*[5]) ezzel szemben normális globin molekulák képződnek, de mennyiségük csökkent, esetleg egyáltalán nem is szintetizálódnak. Igen súlyos következményekkel járó, nem ritkán halálos kimenetelű kórképek. Földközi-tenger környéki mediterrán populációkban és leszármazottaikban gyakoriságuk szokatlanul magas, talán ugyancsak a malária elleni védettségük miatt. Kezelésükre hatásos gyógymód nincs, de prenatális diagnosztikája megoldott.

A talasszémia különböző formáinak az elnevezése az érintett globin lánc megnevezésén alapul. A ***β-talasszémiák*** a legsúlyosabb egészségügyi problémák közé tartoznak, s évente több százezer gyermek haláláért felelősek. Minden változatában a β-lánc szintézise rendkívüli módon lecsökkent. A heterozigóták (*β-thalassaemia minor*) általában enyhén anémiásak, de a homozigóták (*β-thalassaemia major*, vagy eredeti nevén Cooley-féle anémia) többnyire 10. életévüket sem érik meg. A β-talasszémia majorban szenvedők a β-lánc hiányát nagyobb mennyiségű magzati és felnőttkori minor hemoglobin[6] szintézisével részben kompenzálják. A kompenzálás azonban általában csak részleges, és az anémia súlyos fokú. Az ily módon viszonylag nagyobb mennyiségben szintetizálódó α-globin a szükséges mennyiségű β-globin hiányában a vörösvértestekben kicsapódik, és csökkenti azok élettartamát. A β-talasszémiák elsősorban a Földközi tenger környezetében egy szűk sávban, illetve innen kelet felé haladva a Közel-Keleten, Indiában és

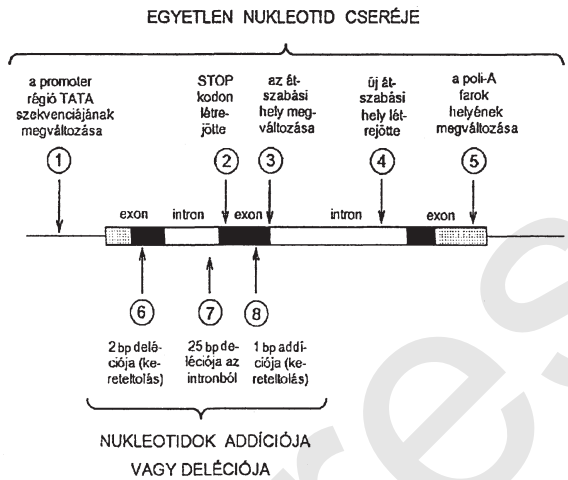
---

[5] Thalassa (gör.) = tenger; -aemia összetételek utótagjaként = vér, -vérűség.

[6] $\alpha_2\gamma_2$ és $\alpha_2\delta_2$ hemoglobin féleségek.

Kínában gyakoriak. Gyakoriságuk területenként változik, de mértéke akár az 1%-ot is elérheti, mint pl. Szardínia szigetén (21.2. ábra).

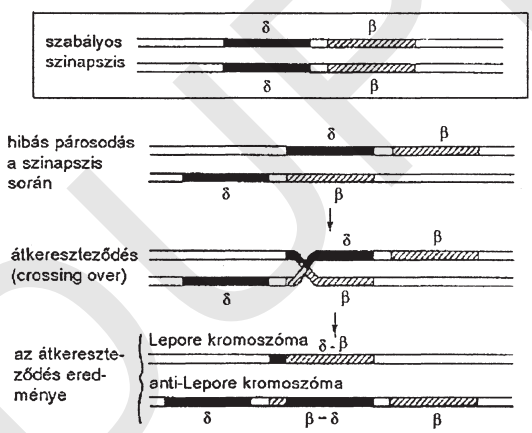
β-talasszémiát sokféle mutáció okozhat, melyeket a 13.6. ábrán foglaltuk össze.



13.6. ábra. *A β-globin gén szerkezete és annak 8, különböző fokú β-talasszémiát okozó mutációja.* Ezeket a több tucat ismert, hasonló mutáció példájaként mutatjuk be. A mutációk nemcsak a kódoló régiót érinthetik, hanem gyakran a gének előtti, vagy mögötti DNS szakaszon, illetve intronokon belül találhatók. Bizonyos esetekben, amikor a tünetek olyan súlyosak, mintha homozigóta lenne a beteg valamelyik mutációra, kiderült, hogy valójában két különböző β-globin gén mutációt hordoz, azaz *compound heterozigóta.* Az ① mutáció a β-globin génjének promoterét érinti, miáltal a transzkripció szintje csökken. Azok a betegek, akik erre a mutációra homozigóták, a normális β-globin szintnek csak mintegy 25%-át termelik, s enyhén anémiásak. A ② mutáció a 39. tripletet változtatja meg glutaminról stop kodonra. Ennek következtében a homozigótákban nincs funkcióképes β-globin szintézis. Súlyos következményei vannak, ez a mutáció okozza a β-talasszémiák 30%-át a földközi tengeri régióban, Szardínia szigetén kizárólag ez fordul elő. A ③, ④ és ⑦ mutáció nem kódoló régiókat érint. Az intron és exon régiók határán lévő szekvenciák a hnRNS átszabása (l. 16. fejezet) során fontosak, a kivágandó szakaszok kijelölésében vesznek részt. Az átszabás ilyenkor elmarad, vagy az intron belsejében egy hibás, alternatív átszabási hely jön létre. Intron-mutációk esetén egyáltalán nem szintetizálódik funkcióképes β-globin, valószínűleg azért, mert a keletkező mRNS egy teljesen funkcióképtelen polipeptidet kódol. Az ⑤ mutáció ott helyezkedik el, ahol az RNS-nek az érés során el kellene vágódnia és a poli-A faroknak a molekula 3'-végéhez hozzá kellene szintetizálódnia. A mutáció következtében a poli-A farok 3' irányban 900 bp-ral távolabb szintetizálódik, ahol az ehhez szükséges szignál-szekvencia véletlenszerűen ismét előfordul. Emiatt az mRNS molekula instabil, s ez egy enyhe fokú talasszémiát eredményez (a termináció mechanizmusával kapcsolatban l. 16.10. ábra). A ⑥ és ⑧ mutáció kereteltolásos mutáció eredménye. Az egyik két bázis deléciója, a másik pedig egy bázis inszerciója. Mindkettő a β-globin teljes hiányával jár.

Egy igen különleges talasszémiát okoz az ún. Lepore hemoglobin, melyet először egy Lepore nevű családban írtak le. A nem-α lánc hossza a szokásos 146 aminosav, de a moleka első része nagyon hasonlít a δ láncra (ami a felnőttkori minor hemoglobin része), a molekula további része pedig normális β-lánc. Annak megértéséhez, hogy ez hogyan jött létre, tudni kell, hogy a β és δ láncok mindössze 10 aminosavban térnek el. Mivel a gének ennek megfelelően majdnem azonos szekvenciájúak, és a 11. kromoszómán egymáshoz igen közel helyezkednek el, valószínű, hogy szinapszis képzéskor hibásan egymással, s nem saját alléljükkel párosodnak (13.7. ábra). Ha a hibásan párosodott kromoszómák között átkereszteződés jön létre, ennek eredménye lehet a „kevert" gén. Egy ilyen átkeresztezett termék a Lepore kromoszóma, mely sem intakt β, sem intakt δ gént nem hordoz, s talasszémiát eredményez. A másik átkeresztezett termék, az ún. anti-Lepore kromoszóma szintén ismert és ez majdnem normális fenotípust eredményez.

Az ***α-talasszémiá***k általában olyan nagyméretű deléciók eredményei, amelyek a 16-os kromoszómapáron két-két példányban lévő α-globin gén egyik, vagy mindkét példányát érintik. A betegség súlyossága arányos a deléciós allélek számával. Ha mind a 4 α-globin gén elveszett és egyáltalán nincs α-lánc szintézis, némi hemoglobin ugyan keletkezik a magzati élet során négy γ-láncból – ill. születés után négy β-láncból – de ezek oxigénszállító képessége nem megfelelő. A magzat többnyire még méhen belül elpusztul.

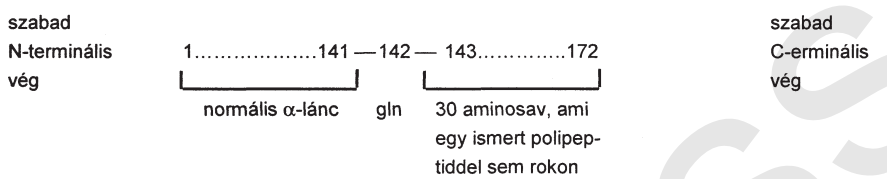


13.7. ábra. *A Lepore és anti-Lepore kromoszómák keletkezése.* Ezt a folyamatot, amelyben a homológ kromoszómák hibásan párosodnak, ***egyenlőtlen*** (inekvális) ***crossing over***nek nevezzük.

Az α-talasszémia egy különleges esete az ún. Constant Spring[7] talasszémia. Az α-lánc a normális 141 aminosav helyett 172 aminosav hosszúságú. Az első 141 aminosav a

[7] Jamaikai város

normális α-globin láncéval azonos, melyet egy glutamin követ a 142. pozícióban. Ezután egy olyan, 30 aminosavból álló lánc-szakasz következik, amely semmilyen ismert polipeptidre nem hasonlít:



A glutamint kódoló bázishármas egy olyan triplet, amely stop kodonból keletkezett egyetlen bp szubsztitúciójával. Ennek eredményeként a lánc terminációja elmarad, s a transzláció folytatódik az mRNS 3'-végi ún. uszály (normálisan peptid láncba át nem íródó) szekvenciáján egészen addig, amíg véletlenszerűen egy stop kodon ebben a leolvasási keretben elő nem fordul.

Kémiai mutagenezis

A mutációt kiváltó ágensek két nagy kategóriába sorolhatók. Ezek a kémiai mutagének és a sugárzások. A következőkben azt tárgyaljuk, hogy ezek a mutagének hogyan ismerhetők fel, illetve hatásuk hogyan mérhető. A genetikusok által különböző kísérleti objektumokon (mikroorganizmusok, magasabbrendű állatok) kapott adatok – bár pontosak és informatívak – nem mindig vonatkoztathatók emberre. Az alábbiakban három olyan vegyület hatását írjuk le, melyeket kísérleti állatokon gyakran használnak mint kémiai mutagént.

1. *Proflavin.* Az állatgyógyászatban fertőtlenítésre használatos vegyület. A DNS replikációja során, hatására egyetlen bázis inszerciója vagy delécióját jön létre. A genetikai kód megfejtésére irányuló klasszikus kísérleteiben Crick ezt a vegyületet használta a frameshift mutációk létrehozására. A proflavin mutagén hatása azon alapul, hogy planáris szerkezete révén a DNS kettős helix bázispárjai közé tud ékelődni (*interkalálódni*), s ezáltal a replikációt megzavarja.

2. *Salétromossav.* Hatását a DNS bázisainak dezaminálásával éri el, amikor is az amino-csoportok (-NH_2) keto-csoportokra (=O) cserélődnek. Hatására a citozin uracillá, az adenin pedig hipoxantinná (a purin metabolizmus normál intermediere) alakul. Mivel az így létrejött bázisok párosodási sajátságai eltérnek az eredeti bázisétól, replikáció során a szekvencia megváltozását okozzák.

3. *5-brómuracil.* Szerkezete igen hasonló a timinéhez (timin analóg, melyben a metil-csoportot Br atom helyettesíti), ezért replikáció során a timin helyett beépülhet. A DNS-be (bróm-dezoxi-uridinként) épült bróm-uracil szerkezete a timinnél nagyobb valószínűséggel vesz fel egy olyan tautomer formát, melyben a bázispárosodása megváltozik, s A helyett G-vel párosodik. Ez az alapja a mutagén hatásának.

Bár a fenti vegyületek nem részei az általános emberi környezetnek, az emberi populáció naponta ki van téve olyan anyagok hatásának, melyek mutagének lehetnek. Kb. 70 000 vegyület van különböző formában kereskedelmi forgalomban, s ezek mintegy egyharmada meglehetősen gyakori. Elképzelhető, hogy bizonyos anyagok számottevő genetikai károsodást okoznak anélkül, hogy erről tudomásunk lenne. A mutagén anyagok és hatásuk felismerése azért jelent problémát, mivel (*1*) az indukált mutációk fenotípusos hatása ugyanolyan, mint a spontán mutációé, (*2*) ezek a hatások generációkon keresztül rejtve maradhatnak, ill. (*3*) a mutáns fenotípushoz hasonló ún. fenokópiák (l. 21. fejezet) is előfordulhatnak. Ezért igen fontos a potenciális mutagének azonosítása, még mielőtt azok káros hatásukat kifejthetnék: ehhez érzékeny és megbízható tesztrendszerek kidolgozása szükséges, melyekkel nagyszámú potenciális mutagén megvizsgálható.

MUTÁCIÓK TESZTELÉSE

Mivel sem nem etikus, sem nem kivitelezhető, hogy a mutagének hatását emberen vizsgáljuk, ezért a humán populációra vonatkozóan közvetlen adataink nincsenek. A nagyszámú vizsgálati rendszer, melyet napjainkban alkalmazunk, baktériumokat, gombákat, növényeket, rovarokat, emlős állatokat, vagy emlős sejttenyészeteket használ. Elvben, lévén a DNS minden élőlényben azonos, az egyik élőlényben mutagén anyag a másikban is mutagén. A gyakorlatban azonban a fajok között nagy különbségek lehetnek, például az egyes szövetek védőhatása, a javító rendszerek eltérő hatásfoka miatt, vagy az egyes élőlényeknek a környezethez való adaptációját biztosító metabolikus különbségek miatt is. Az *E. coliban* pl. csak a sejtfal és sejtmembrán választja el a DNS-t a környezettől. Ezzel szemben emberben egy lenyelt mutagén a gyomor, belek erősen degradatív hatásának van kitéve, mielőtt az emésztőrendszer kapillárisain a véráramba felszívódik. Innen juthat a májba, ahol tárolódhat, de a májsejtek nagyszámú méregtelenítő enzime

át is alakíthatja. Csak ezután kerülhet kapcsolatba az ivarsejtekkel és a test egyéb sejtjeivel.

Számtalan mutagén anyag semlegesítődhet a fent leírt folyamatok során, míg más, nem mutagének mutagénné is válhatnak. A különböző emlősök, de még ugyanannak a fajnak a különböző változatai is egy bizonyos anyagot eltérően metabolizálhatnak. Ezenfelül, két vegyület együtt sokkal hatásosabb mutagén lehet, mint az egyedi mutagenitásuk összege, illetve egy nem mutagén anyag egy mutagén hatását fokozhatja. A mutagenitás meghatározása éppen ezért meglehetősen komplex és nehézkes, s az egyik fajban kapott eredmények nem vihetők át egyszerűen egy másik fajra. Komplikálja a helyzetet még az is, hogy a populáció egyes tagjainak az érzékenysége is eltérő lehet[8].

AZ AMES TESZT

Mivel a mutagén és karcinogén[9] hatás tesztelése laboratóriumi kisállatokban igen időigényes és költséges, ezért nagyszámú vegyület előzetes szűrésére egyszerű és gyors teszteket használnak. Majd azokat a vegyületeket, amelyek pozitívnak bizonyultak, tovább vizsgálják körülményesebb, de adekvátabb módszerekkel. A sokféle mutagenitási teszt közül talán a leggyorsabb, legegyszerűbb, legérzékenyebb és legolcsóbb az Ames által kidolgozott eljárás. Az ***Ames teszt***ben (13.8. ábra) baktériumokon vizsgáljuk a különböző vegyületek mutagén hatását, s ennek alapján következtetünk, hogy az illető vegyület várhatóan emlősökben mutagén ill. karcinogén lesz-e. Ez azért lehetséges, mivel a tesztben az ismert karcinogének több mint 90%-a mutagénnek mutatkozik. Igaz továbbá

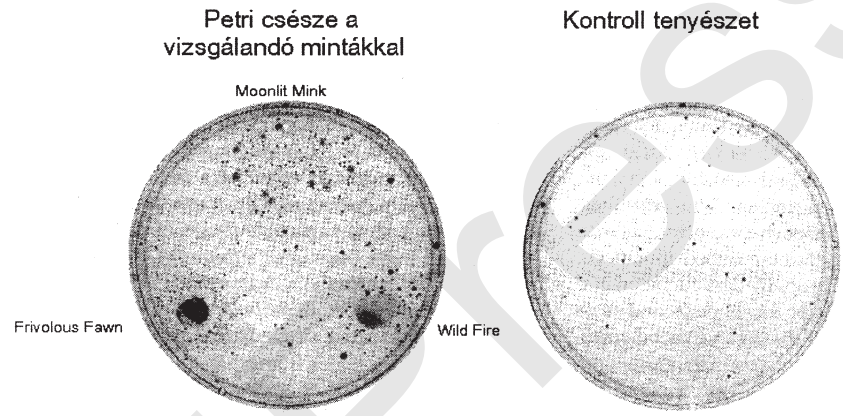
---

[8] Erre példa a koffein esete. A koffein természetes alkotórésze a kávénak, teának, de alkotórésze a csokoládénak, üdítőitaloknak és egy sor gyógyszernek. A koffeint a termelő növények védelmi célból (a rovarok ellen) termelik. A koffein purin vegyület, hasonlít az adenin és guanin szerkezetéhez, de azért eléggé különbözik is azoktól (három metil csoportban), úgyhogy a DNS-ben nem helyettesítheti őket. Baktériumokon és gombákon vizsgálva, a koffein mutagén hatású. Vizsgálatok szerint a koffein nem abban az értelemben mutagén, hogy önmagában hoz létre mutációt, hanem a DNS már meglévő hibáinak kijavítását végző (*repair*, l. alább) rendszerrel lép kölcsönhatásba. Növényben, illetve hörcsög és humán szövettenyészetben a nagy koncentrációjú koffein kromoszómatörést, valamint testvérkromatid kicserélődést (l. alább) okoz, a pontmutációk és a törések közötti összefüggés azonban nem tisztázott. A gyümölcsléggyel (*Drosophila*) kapott eredmények ugyancsak ellentmondásosak. Egerekben a kiterjedt vizsgálatok ellenére sem kaptak koffein által indukált mutációra utaló jeleket. Emberben a koffein gyorsan demetilálódik és kiválasztódik, bár a gonádokhoz eljut, és keresztülhalad a placentán is. Ennek ellenére a magzatokban semmiféle hatását nem észlelték, még igen erősen kávézó anyák esetében sem. Tehát a fenti adatokon egy csésze kávé fölött merengve, a koffein káros hatásától nem nagyon kell tartanunk. Természetesen a rizikó vállalása mindig egyéni döntés, s mindenki maga kell eldöntse, hogy rá nézve esetleg nincs-e a koffeinnek valamilyen más káros (vagy hasznos) hatása.

[9] A rosszindulatú daganatok a szomatikus mutációt elszenvedett sejtekből indulnak ki.

ennek fordítottja is, nevezetesen a nem-karcinogén vegyületek általában nem is mutagének az Ames tesztben.

Ugyanannak a potenciális mutagénnek a vizsgálatára több különböző hisztidin-igényes törzset is használhatunk. Egyesek ezek közül szubsztitúciós-, mások kereteltolódásos mutánsok. Így a különböző hatású mutagének is felismerhetők, amelyek esetleg egyetlen tesztobjektum alkalmazásakor rejtve maradnának, hiszen pl. egy bázis delécióját miatti kereteltolódásos mutáció egy bázis inszerciójával korrigálható, míg báziscsere ezt sohasem tudja korrigálni.



13.8. ábra. *Három különböző hajfesték Ames tesztjének az eredménye.* A teszt egy olyan *Salmonella typhimurium* törzset használ, amely hisztidin-igényes, mivel a hisztidin-bioszintézis egyik enzimének génje mutáns, s ennek termékére (egy enzimre) a törzs deficiens. A hisztidin a baktérium számára létfontosságú a növekedéshez. A tesztben hisztidin-igényes baktérium-sejteket szélesztenek hisztidint nem tartalmazó táptalajra. A *his*$^-$ sejtek a lemezen csak akkor szaporodnak, ha a mutáns allélt egy másik mutáció ismét visszalakítja vad típusúvá, s így az funkcióképes fehérjét kódol. Ezt hívják „*back*", ill. „*reverse*" (vissza-) mutációnak.

A baloldali tesztlemezen három pontban felcseppentették a hajfestékeket, a jobboldali kontroll lemezekre nem vittek fel semmit. Egy napig tartó tenyésztés után a „back-mutánsok" a táptalajon telepet képeznek (apró fekete pontok az ábrán). A tesztlemezen a felcseppentés körül nagyszámú telep látható, ami arra utal, hogy a vizsgált hajfestékek mutagének. Az természetesen egy másik kérdés, hogy a fejbőrön alkalmazva ugyancsak mutagénként viselkednek-e. (A kontroll lemezen, amely a tesztlemezzel teljesen azonos, és amire nem csöppentettek hajfestékeket, ugyancsak látható néhány telep, amely spontán mutáció eredménye.)

A tesztekben használatos *Salmonella* törzs egyéb olyan mutációkat is hordoz, melyek a tesztet igen érzékennyé teszik. Az egyik ilyen mutáció a sejteket permeábilissá te-

szi, ezért a vizsgált anyagok könnyen bejuthatnak a sejtbe. A DNS-javító enzimekre nézve ezek a törzsek ugyancsak deficiensek. A tesztekben ezenkívül patkány máj mikroszomális (ER) enzim-frakciót is használnak, ami az egyébként esetleg nem mutagén anyagokat metabolizálva azokból mutagént állít elő, vagy éppen fordítva, a mutagént alakítja nem mutagénné. Ezzel tulajdonképpen a bakteriális rendszert bizonyos fokig hasonlóvá tesszük az emlős rendszerhez, ahol a szájon át bejutó anyagok – mielőtt a vérkeringésbe kerülnének – a májon keresztül kell jussanak.

TESVÉRKROMATID–KICSERÉLŐDÉS

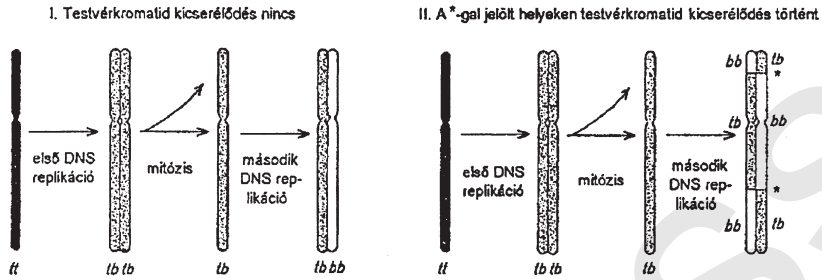
Az egyes anyagok emberben kifejtett mutagén hatásának tanulmányozására egy további lehetőség a humán sejttenyészetekben való vizsgálatuk. A sejteket, az illető anyaggal való kezelés után metafázisban vizsgálják az esetlegesen kialakult kromoszómarendellenességekre. Ennek az alapja az, hogy van bizonyos korreláció a kromoszómarendellenesség és pontmutáció, illetve a rosszindulatú daganatok között.

Az egyik ilyen citogenetikai teszt a ***testvérkromatid–kicserélődés*** (*sister chromatid exchange*, ***SCE***), mely viszonylag egyszerűen kivitelezhető és nagyon érzékeny. A SCE abban az értelemben hasonló a *crossing over*hez, hogy kromatid szakaszok kicserélődését jelenti, míg azonban a *crossing over* a homológ kromoszómák részeinek cseréje, addig az SCE a testvérkromatidok közötti cserét jelent. Mivel ez típusos esetben közvetlenül a DNS replikációja után bekövetkező esemény, tökéletesen azonos DNS szakaszok cseréje, semmiféle genetikai következménnyel nem jár, s genetikai módszerekkel kimutatni sem lehet. A mitózis során viszont a testvérkromatidok közötti kicserélődés könnyen észlelhető mikroszkóposan, ha valamilyen módon az egyes kromatidokat eltérő módon tudjuk jelölni. Ennek egy lehetséges módját a 13.9. ábrán mutatjuk be, amikor is a sejteket két osztódáson keresztül 5-brómuracilt tartalmazó táptalajon növesztettük.

Az I. esetben nincs SCE. A második replikáció után az egyik kromatid DNS-ének mindkét szála Br-dezoxiuridint tartalmaz, míg a másik kromatid „kevert" lesz, a DNS-nek csak az egyik szála tartalmaz Br-dezoxiuridint, a másik szál „normál" timin tartalmú. Ezt a különbséget megfelelő módszerrel ki lehet mutatni. Ilyenkor a DNS egyik szálában timint tartalmazó kromatid erősebben festődik. Amennyiben testvérkromatid-kicserélődés történt (II. eset), akkor sötéten és világosan festődő részek váltogatják egymást a metafázis kromoszóma kromatidjain. Az ilyen kromoszómákat *harlequin* kromoszómának nevezzük (13.10. ábra) a bohócok kockás ruhájára utalva (harlequin = bohóc).

Az SCE egyik változatában nem szövettenyészetet használnak, hanem élő állatot. Mutagénnel kezelt és kontroll állatokba juttatják be a Br-dezoxiuridint. Így tulajdonkép-

pen a teljes fiziológiai folyamat a teszt alapja. A kezelést követően különböző szövetek (vér, csontvelő, gonádok, stb.) vizsgálhatók, azaz sugárzás vagy valamely vegyület *in vivo,* élő állatban kifejlődött hatása tanulmányozható.



13.9. ábra. *Testvérkromatid-kicserélődés (SCE) kimutatása.* A sejteket két generáción keresztül 5-brómuracilt tartalmazó táptalajon tenyésztik. Ekkor mindegyik kromoszóma (vagy kromatid) jelölődik:

tt (fekete), ha a DNS mindkét szála timint tartalmaz,
tb (pontozott), ha a DNS egyik szála timint, a másik brómuracilt tartalmaz,
bb (fehér), ha a DNS mindkét szála bróm-uracilt tartalmaz.

Az I. esetben a második replikáció után egy olyan metafázis kromoszómát kapunk, melyben az egyik kromatidban (tb) a DNS egyik szála timint, a másik szála brómuracilt tartalmaz, míg a másik kromatid DNS-ének mindkét szála brómuracilt tartalmaz. Ezek a kromatidok eltérő festődésűek. A II. esetben a történések hasonlóak, kivéve, hogy itt a második replikáció során testvérkromatid-kicserélődés is történt, ami a kromatidok festődésében is látható különbséget ad. Ha az SCE az első replikáció során történt, az így nem detektálható.
*-A testvérkromatid kicserélődés helyei.

Ugyancsak lehetőség van különböző ártalmaknak kitett emberi populációk (bizonyos iparágakban dolgozók, kórházi személyzet, valamilyen veszélyes üzem vagy veszélyeshulladék-tároló környékén élők stb.) vizsgálatára is SCE segítségével. Ilyenkor a vizsgált személyek fehérvérsejtjeit jelölik *in vitro* brómuracillal. Az így tesztelt dohányosok többsége kissé emelkedett szintű SCE-t mutatott. Összefoglalóul elmondhatjuk, hogy a testvérkromatid-kicserélődés önmagában ugyan semmiféle veszélyt nem jelent (l. 11. fejezet), de a DNS különböző károsodásaival tapasztalt együttes előfordulása miatt mutagén hatások indikátora lehet.

DUNAPRESS

(A) (B)

13.10. ábra. *Testvérkromatid-kicserélődés hörcsög metafázis kromoszómákon* (a 13.9. ábrán bemutatott detektálás eredményeként). A) Kontroll sejtek metafázis kromoszómái. Ezek a sejtek semmilyen SCE-t kiváltó mutagénnel nem voltak kezelve. Ebben az esetben az SCE ritka. B) Ha a sejteket valamely karcinogén vegyülettel kezeljük, az SCE gyakorisága megnő, és sok harlequin kromoszóma látható.

A sugárzások hatásai

A röntgen és radioaktív sugárzás felfedezése után hamarosan nyilvánvalóvá vált, hogy bizonyos szöveti káros hatást azok az ágensek is képesek okozni, melyek érzékszerveinkkel nem észlelhetőek. Müller írta le 1927-ben, hogy a röntgen-sugár gyümölcslegyekben germinális mutációt idéz elő. Az embereknek a sugárzási ártalmak káros hatásai miatti aggodalma az 1950-es években erősödött fel, a Japánra ledobott atombombák és a sorozatos légköri kísérleti robbantások nyomán. A sugárzások orvosi alkalmazása és a világszerte működő mintegy 400 atomerőmű üzemelése a sugárzások káros hatásának vizsgálatát azóta is az érdeklődés középpontjában tartja. Ezt még csak fokozták a nukleáris balesetek (Three Mile Island, USA 1979. és Csernobil, Szovjetunió 1986.).

Minden élőlény ki van téve bizonyos természetes, elkerülhetetlen sugárzásnak, mint amilyen a napfény, kozmikus sugárzás, valamint a kőzetek, a talaj, s a levegő uránium, rádium, radon és más radioaktív elemek miatti sugárzása. Az elektromágneses sugárzások mutagén hatása elsősorban a fotonjuk energiájától függ, ami a hullámhosszal

fordítottan arányos. A részecske-sugarak mutagenitása pedig sebességük, tömegük és töltésük függvénye.

Ahhoz, hogy egy sugárzás mutagén legyen, a sugárzás energiájának a DNS-ig el kell jutnia, s azzal kölcsönhatásba lépve abból elektront kell kilöknie. Ennek eredményeként egy nagyon reakcióképes atom jön létre, ami a DNS molekula károsodásához vezet. Ez azonban nemcsak az ionizáló sugárzás és a DNS közvetlen kölcsönhatásakor jön létre, hanem ugyanilyen hatást váltanak ki az ionizáló sugárzások hatására a vízből keletkező ún. ***aktív radikálok***. Mivel az ultraibolya sugárzást a szövetek elnyelik, ezért a test mélyebb rétegeibe nem jut be, s nem is okoz germinális mutációt. A szomatikus mutációk révén azonban az UV fény nagyobb dózisa okozhat bőrrákot.

AZ EMBERT ÉRŐ IONIZÁLÓ SUGÁRZÁSOK

Az egységnyi anyagmennyiség által elnyelt sugárzást sugárdózisnak nevezzük. Ez számítható és műszerekkel (Geiger számláló, sugárérzékeny filmet tartalmazó dozimeter, stb.) mérhető is[10]. A sugárzási ártalomnak különböző formái vannak. Az embert nagy intenzitású forrásból érő sugármennyiséget akut dózisnak, az alacsony intenzitású sugárforrásból származó sugármennyiséget krónikus vagy alacsony szintű dózisnak nevezik. Egy szövet ugyanazt a dózist rövid idő alatt mint akut dózist, vagy hosszabb idő alatt, mint krónikus dózist egyaránt felveheti. A továbbiakban a krónikus sugárzás hatásaival foglalkozunk, mivel az emberi populációt érintő természetes és mesterséges sugárforrások hatása legtöbbször ilyen.

Egy tipikus amerikai polgárt 30 év alatt 5–6 rem sugárzás ér (13.3. táblázat). Ennek durván a fele természetes forrásokból származik. Az utóbbi időben a radon gáz mint természetes sugárforrás került bizonyos földrajzi régiókban az érdeklődés középpontjába. (A radon a talajból és a talajvízből szivárog be a házakba, s koncentrációja annál magasabb, minél jobb a házak szigetelése.)

Mesterséges sugárforrásból általában az orvosi és fogorvosi vizsgálatok során éri sugárzás az embert. Az egyetlen vizsgálat során kapott sugárdózis az alkalmazott műszer típusának és a szükséges felbontásnak is függvénye, de általában a 0,01–1 rem tartományban marad. A vizsgálatok egy része során (mellkasi felvételek, fogászati röntgen vizsgálat, mammográfia) a sugárzásnak csak elenyésző töredéke éri a gonádokat, míg más esetekben (has- és medenceüregi felvételek) a gonádok nem, vagy csak részben védhetők. Sokkal nagyobb dózisokat használnak (100–1000 rem), bár időben elnyújtva, bizonyos rosszindulatú daganatok sugárterápiája során. (Ugyanez a sugármennyiség egyetlen dózisban súlyos következményekkel, esetleg halállal is járna.) Érdekes, hogy a sugárzás nemcsak előidézője, hanem gyógyítója is lehet a különböző rosszindulatú daganatoknak. Az első esetben szomatikus mutációkat okoz, míg az utóbbiban elpusztítja a daganatos sejteket. Az utóbbi hatása azon alapul, hogy elsősorban a gyorsabban osz-

[10] A sugárzás leggyakoribb egységei a röntgen, rad, rem, gray és sievert. Definiciójuk megadása ezen jegyzet keretein kívül esik. L. a biofizika idevágó fejezeteit is.

tódó sejteket pusztítja. Ennek azonban az a káros következménye is megvan, hogy a nem malignus, de gyorsan osztódó sejteket (pl. csontvelő, bélbolyhok hámja, hajhagymák sejtjei) is ugyanúgy elpusztítja, mint a kórosan burjánzókat.

13.3. táblázat. *Egy* átlagos *amerikai állampolgárt 30 év alatt érő sugárzások* [a]

Sugárzás eredete	Dózis(rem)/ generáció (30 év)[b]	A teljes dózis %-ában
Természetes eredetű		
Kozmikus sugárzás	0,84	15
Kőzetek sugárzása	0,78	14
Szervezetbe jutott radioaktivitás[c]	0,78	14
Természetes összesen	2,4	43
Mesterséges eredetű sugárzás		
Orvosi/fogorvosi radiológia	2,77	50
Kísérleti atomrobbantások	0,14	3
Fogyasztási cikkek[d]	0,12	2
Egyéb[e]	0,12	2
Atomerőművek	0,01	0,2
Mesterséges összesen	3,16	57
Mindösszesen	5,56	100

[a] Az ultraibolya sugárzást figyelmen kívül hagyva.

[b] Az adatok a teljes testet érő sugárdózisok. Ennek csak egy kis része éri a gonádokat.

[c] Magában foglalja az élelmiszerrel a szervezetbe jutott ^{40}K és a lakásokba a levegővel beszivárgó ^{222}Rn hatását is.

[d] Magában foglalja a színes TV, a világító számlapok, és a dohányfüstben lévő ^{210}Po sugárzását is.

[e] Magában foglalja a légi utak alkalmával testünket érő kozmikus sugárzást, foglalkozási ártalmakat, stb.

A SUGÁRZÁSOK KÖVETKEZMÉNYEI

Közvetlen információink a sugárzások emberre kifejtett hatásáról nincsenek, hiszen (1) nem végezhetők erre vonatkozó kísérletek, (2) balesetek esetén, atomkatasztrófák alkalmával, vagy foglalkozási ártalomnál a dózismérések általában hiányosak, (3) s a dolog természetéből adódóan a kisebb dózisok hatása nem is vizsgálható. Állat és egyéb tesztobjektumokon végzett kísérletekből viszont elég tekintélyes adatmennyiség áll rendelkezésre. A kérdés csak az, mennyire extrapolálhatóak a gyümölcslegyeken, vagy egereken kapott adatok az emberre. Mindenesetre, ezekre a közvetett adatokra

DUPress

vagyunk utalva. Azonban az is tény, hogy ha az embert érő spontán és indukált mutációkkal tökéletesen tisztában lennénk, akkor sem lehetne túlságosan nagy biztonsággal megállapítani ezeknek az egyes családokra, vagy a jövő generációkra kifejtett hatását.

A sugárzásoknak sokféle hatása van. Ilyenek a kromoszómatörés és pontmutáció ivari és testi szövetekben, daganatok indukálása (igen gyakran leukémia), lokális „égési" sérülések, s még nagyobb dózis esetén az akut sugárártalom általános tünetei, mint hányinger, hányás, hasmenés, belső vérzés, általános legyengülés, s végső soron halál. Állandó vitatéma, hogy létezik-e egyáltalán a biztonságos dózisnak egy küszöbértéke, amely alatt nincs kockázat.

A sugárzások szomatikus hatásai közül az alacsony szintű ionizáló sugárzással kapcsolatban a legnagyobb aggodalom azok lehetséges daganatkeltő hatása. Japánban az atombomba támadás túlélőin, valamint a sugárterápiában részesülőkön végzett vizsgálatok alapján a kutatók azt tartják, hogy a normál szinten felüli 1 rem sugárdózis egy tízezres populációban csak 1-3 daganatos halálért felelős. Összehasonlításul: 10 000 élveszületésre 1500 daganat miatti haláleset jut (15%). Tehát a rákos halálesetek és a sugárártalom ilyenképpen nem hozható közvetlenül összefüggésbe már csak azért sem, mert a sugárzás és a daganat kialakulása között hosszú idő telik el, ill. a sugárzások kiváltotta daganatok nem különböznek a más okból kialakulóktól. Ez alól talán csak a leukémia kivétel, ahol eléggé valószínű, hogy sugárártalom következtében gyakrabban alakul ki, mint más mutagén hatásokra. Tehát eldönthetetlen, hogy létezik-e egy küszöbérték, vagy sem.

A sugárzások germinális hatásai közül a legnagyobb aggodalomra a pontmutációk és kromoszóma-aberrációk adnak legtöbb okot, melyek az utódokban azonnal megjelenhetnek. Az emberre vonatkozó megbízható adatokat nyerni különösen nehéz, mivel a legtöbb mutáció recesszív, azaz a mutáció megtörténte után generációkon keresztül rejtve maradhat. Kutatók becslése alapján 1 rad/generáció sugárzás 50 000 szülésenként okoz 1 örökletes betegséget. Ha ez a szintű sugárzás sok generáción keresztül folytatódik, akkor az ilymódon létrejött betegségek száma megnő, 7000 születésre esik 1, ami 0,014%. Összehasonlításul: jelenleg az újszülöttek 3%-a születik valamilyen örökletes vagy kromoszomális rendellenességgel.

A Hirosimára és Nagaszakira ledobott atombombák germinális mutációt kiváltó hatásának becslését nehezíti, hogy a túlélőket ért sugárdózis nem ismert. Mindenesetre nincs nagyon lényeges eltérés ezen populációban a koraszülés, csecsemőkori halálozás, születési súly, veleszületett rendellenességek, gyermekkori halálozás, leukémia, vagy a nemek aránya tekintetében, melyet a szülőket ért sugárkárosodás rovására lehetne írni. Ennek ellenére a kutatók egy része úgy gondolja, hogy a dózis-hatás görbe lineáris, s a legkisebb dózisnak is van – arányosan kisebb, ill. ritkábban fellépő – káros hatása, azaz az ivarsejtekre vonatkozóan nincs biztonságos küszöbérték.

Vizsgálták a sugárzás által indukált mutációkat egér spermatogoniumokon és oogoniumokon[11], mivel ezen sejtek nyugvó állapota emberben meglehetősen hosszú. A spermatogoniumok mutációjának vizsgálatakor a besugárzott állatokat néhány hét múlva (az érett spermium kialakulásáig várva) keresztezték bizonyos génekre homozigóta recesszív nőstényekkel, s vizsgálták a mutáns fenotípus megjelenését. Krónikus besugárzás az egerekben $1{,}5 \cdot 10^{-7}$/lokusz/rem gyakorisággal hoz létre recesszív pont-

11 ősivarsejtek

mutációt. Ha feltételezzük, hogy az egérnek 30 000 lokusza van, 1 rem sugárzás 1 mutációt indukál 200 gamétánként.

A fenti információk alapján kimondhatjuk, hogy – nem számítva a Nap UV sugárzása által okozott bőrrákot – a sugárzás általános káros genetikai hatása az emberi populációra elhanyagolható. Becslések szerint 50–250 rem krónikus sugárzás kellene ahhoz, hogy a jelenlegi spontán mutációs ráta megduplázódjon. Ezt a sugármennyiséget hívjuk megkettőződési dózisnak. A Hirosimában és Nagaszakiban végzett vizsgálatok alapján a megkettőződési dózist ennél is nagyobbra becsülték. Egy ember életének reproduktív szakaszában kb. 5–6 rem sugárzásnak van kitéve (természetes és mesterséges sugárzás együttesen), amiből az valószínűsíthető, hogy a spontán mutációk alapvetően nem a természetes háttérsugárzás következményei.

Rizikóvizsgálatok szerint az emberek veszélyérzete nincs korrelációban az egyes veszélyforrások életre káros hatásával. Az USA-ban kimutatták, hogy a cigarettázás, alkoholfogyasztás, motorizáció és fegyverviselés sokkal nagyobb veszélyt jelent az emberekre, mint a légi utazás, az atomenergia és a rovarölő szerek. Mégis, igen gyakran a nagyobb veszélyt toleráljuk, a kisebbek ellen pedig fellépünk, feltehetőleg azért, mert bizonyos rizikó vállalása önkéntes, míg másokat környezetünk kényszerít ránk.

A mutációs ráta már igen kisfokú növekedése akár egyes mutagén vegyületek, akár különböző sugárforrások által, mely nem is detektálható – és amit a fiatal, reproduktív korban lévő emberpárok nem is tekintenek veszélyesnek – populációs szinten igen komoly rizikó-faktort jelenthet. Tételezzük fel, hogy valamilyen környezeti tényező miatt az elmúlt 70–80 évben minden 10 000 születésre egy káros mutáció esett. Ebben az esetben egy 250 000 000 főből álló populációban (amennyi az USA lakossága), 25 000-rel több érintett egyeddel kell számolni. Ha ezek az ilyen önmagukban rendkívül kis hatású ártalmak azonosíthatók lennének, a mutagének hatása sokkal könnyebben érthető lenne. Az, ha valamiről nem tudjuk bizonyítani káros mutagén voltát, nem jelenti azt, hogy az illető környezeti hatás veszélytelen. Azt sem jelenti, hogy fel kellene adnunk a mutagének és karcinogének azonosítására irányuló erőfeszítéseinket. Inkább arra kell sarkalljon bennünket, hogy még nagyobb energiával dolgozzunk az erre alkalmas módszerek felkutatásán, s a tesztobjektumokon kapott eredményekből próbáljunk meg az emberi populációra érvényes következtetéseket levonni.

A meghibásodott DNS molekulák kijavítása

A DNS az egyetlen olyan makromolekula, amelynek szerkezetében bekövetkezett változások, hibák fajlagos enzimrendszerek segítségével a sejtek élete folyamán korrekcióra kerülnek. (A többi makromolekulának a sejtekben *„turnovere"* [12] van, azaz az elhasznált molekulák lebomlanak, és helyettük újak szintetizálódnak.) Ráadásul a DNS maga kódolja a kijavításában résztvevő enzimeket is. Ahogy a DNS replikációja, ugyan-

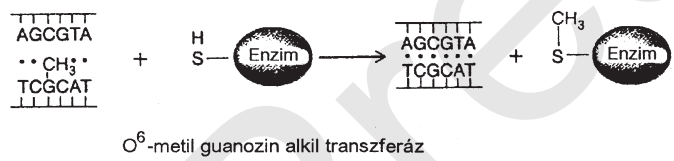
[12] *Turnover* (itt) = „forgalom"

úgy a különböző hibák (külső hatásra bekövetkező bázis módosulások, mint pl. timin dimer, alkilálás, vagy ezek következtében a replikáció során keletkező egyszálas szakaszok, illetve a replikáció pontatlansága miatt létrejövő nem komplementer szakaszok [*mismatch*]) kijavítása is a DNS szálainak komplementaritásán alapul. Ez a folyamat a ***DNS kijavítása*** *(DNA repair).*

A javításnak két alapvető módja ismeretes.

1. JAVÍTÁS ÚJ DNS SZINTÉZISE NÉLKÜL

a. A különböző alkiláló szerek O^6-alkil szubsztituált guanin bázisokat hoznak létre a DNS-ben. Ezek az alkil csoportok baktériumokban és emlősökben közvetlenül eltávolíthatók (13.11. ábra).



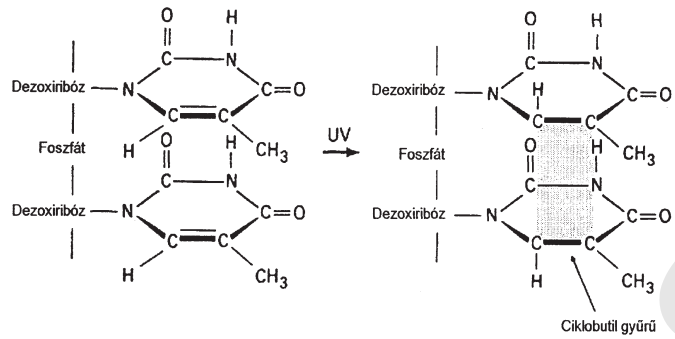
13.11. ábra. *Az O^6-metil guanin dealkilálása.* A reakciót egy specifikus DNS alkil transzferáz katalizálja.

A folyamatot egy O^6-alkil guanin-DNS alkil transzferáz katalizálja, melynek során az alkil csoport az enzim –SH csoportjára tevődik át, s ez egyben az enzimet inaktiválja. A szó szoros értelmében tehát ez nem is enzim reakció, mivel a folyamat végén az enzim nem áll rendelkezésre változatlan formában és mennyiségben. Ez egy ún. „öngyilkos enzim". Baktériumokban ez az enzim alkilálással indukálható, emlősökben nem.

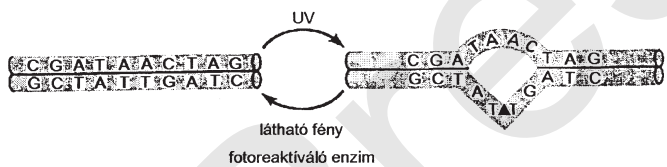
b. Az ultraibolya sugárzás a DNS szomszédos pirimidin bázisai között dimereket hoz létre (13.12. ábra). Mivel ezek a dimerek gátolják a DNS replikációt, ezért feltétlenül ki kell őket javítani. A javítás egyik módja, hogy egy enzim (fotoliáz) közvetlenül kapcsolódik a dimerhez, azzal stabil komplexet képez, s a fény energiájának felhasználásával visszaállítja az eredeti állapotot (13.13. ábra).

A dimerek kijavításának ez a módja (fotoreaktivációs repair) baktériumokban és alacsonyabb rendű eukariótákban ismeretes, de emlősökben mind ez idáig nem találták meg.

PUPress



13.12. ábra. *Timin dimer képződésének vázlata.*



13.13. ábra. *Pirimidin dimerek képződése UV fény hatására, és visszaalakítása egy látható fénytől függő enzimreakcióban (fotoreaktivációs repair).*

2. JAVÍTÁS A MEGHIBÁSODOTT DNS SZAKASZ KIVÁGÁSÁVAL (EXCÍZIÓS REPAIR)

A fent leírt javítási mechanizmusokkal a DNS megváltozásainak csak egy része (alkilálódás és pirimidin dimer) állítható helyre. Az ettől eltérő károsodások kijavítására más mechanizmusok alakultak ki, amelyek azonban a pirimidin dimerek és alkilációk javítására is alkalmasak.

Ezek a mechanizmusok a hibás DNS szakasz kivágását, s az eredetivel megegyező, hibátlan kiegészítő szál szintézisét foglalják magukba. Mindez több enzim koordinált együttműködését igényli.

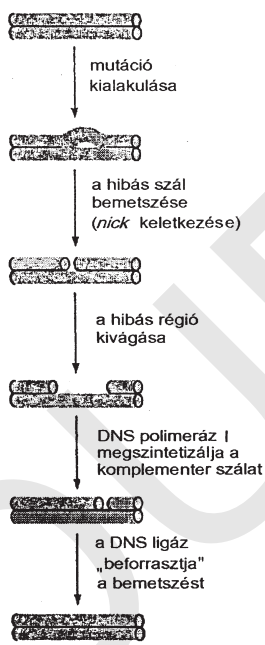
a. *Javítás bázis excízióval.* Bizonyos esetekben a hibás szál felismerésében és a bevágás helyének kijelölésében ún. DNS glikozilázok is résztvesznek. Ezek a megváltozott szerkezetű nukleobázist lehasítják a dezoxiribózról, ezáltal egy purin vagy pirimidin bázis nélküli (apurin vagy apirimidin, AP) helyet hozva létre a DNS molekulában. Ezeket

a AP helyeket ismerik fel azután endonukleázok, amelyek vagy csak az AP hely 5' oldalán, vagy mindkét (5' és 3') oldalán, bemetszik a hibás szálat. A javítás mechanizmusa ettől kezdve megegyezik az alább ismertetett, glikoziláz részvétele nélkül végbemenő javítási mechanizmussal.

b. Javítás nukleotid excízióval. A DNS bázisainak megváltozását bizonyos endonukleázok glikoziláz segítsége nélkül is felismerik. Itt is két eset lehetséges.

Az egyik esetben a hiba 5' oldalán történik csak bevágás. Az ilyenkor létrejövő szabad DNS véghez exonukleáz kapcsolódik, s lebontja a DNS egy rövid szakaszát, amely magában foglalja a hibás nukleotidot is. Az így létrejövő egyszálú DNS lánc komplementerét *E. coli*ban a DNS polimeráz I megszintetizálja, majd DNS ligáz a foszfodiészter kötést kialakítja (13.14. ábra). Mivel a DNS polimeráz I exonukleáz aktivitással is rendelkezik, elvileg egymaga, szimultán végezheti a hibás szakasz kivágását és szintézisét. Kísérleti adatok szerint azonban ez csak az esetek egy részében történik így.

A másik esetben a hibás DNS szakasz mindkét oldalán bemetszés történik, s egy, a meghibásodott szakaszt is magában foglaló oligonukleotid kerül kivágásra. *E. coli*ban, ez az utóbbi mechanizmus a gyakoribb, s a folyamat kulcsenzime az ***uvrABC endonukleáz***. Az így létrejövő egyszálú DNS szakasz kiegészítése a már fentebb leírt módon történik (13.15. ábra).

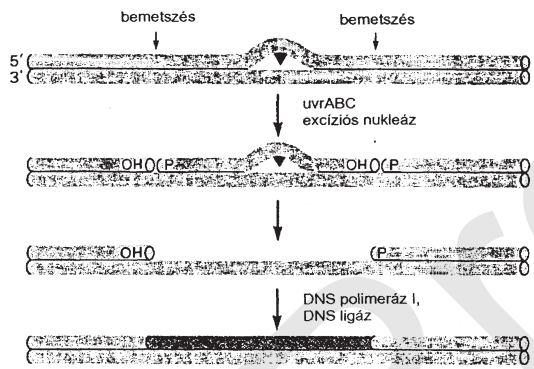


13.14. ábra. *A hibás DNS szakasz kijavítása excízióval, a hiba egyik oldalán történő bemetszést követően.*

DUPRESS

NEM-KOMPLEMENTER BÁZISPÁROK KIJAVÍTÁSA

Az eddigiekben a DNS környezeti tényezők hatására történő megváltozásainak kijavítási mechanizmusaival foglalkoztunk. Legalább ennyire fontos azonban a DNS azon megváltozásainak a javítása, amelyek a DNS replikációja közben, a DNS polimeráz ritkán előforduló tévesztései miatt jönnek létre. Ha ugyanis a DNS polimeráz nem a komplementer bázist építi be a replikáció során, azon a helyen ún. ***mismatch***[13] jön létre. Ezek javítása első pillantásra meglehetősen nehéznek tűnik, mivel a javítást végző enzimnek valamilyen módon el kell „dönteni", melyik szál az eredeti szülői és melyik az



13.15. ábra. *DNS hiba javítása E. coliban az uvrABC komplex közreműködésével.* Az endonukleáz komplex a hiba mindkét oldalán bevágva, mintegy 12-15 bp hosszúságú oligonukleotidot hasít ki, amit az *uvrD* gén által kódolt helikáz segít eltávolítani, majd DNS polimeráz I és DNS ligáz a keletkező egyszálas DNS szakaszt kiegészíti.

újonnan szintetizált hibás szál. Ez *E. coli*ban a DNS-ben átlagban 256 bázispáronként véletlenszerűen előforduló 5' GATC 3' palindrom szekvenciák adeninjének a metilációja alapján könnyedén eldönthető. A szülői szálakban ez a szekvencia mindkét szálon metilált, míg az újonnan szintetizálódott szálon ugyanezen szekvencia metilációja időt igényel, azaz a replikáció után még nem metilált, illetve a metiláció foka kisebb. Ez alapján a javítást végző enzimkomplex felismeri a szülői szálat, s a nem-metilált szálat fogja kijavítani. Lényeges, hogy a javításnak a replikáció után hamar be kell következnie, mert ha az újonnan szintetizált szál is metilálódik, utána a két szál már nem különböztethető meg. Ebben az esetben a javítás már véletlenszerű, ami pontmutációhoz vezethet.

Ugyanezzel a javító mechanizmussal magyarázhatjuk a crossing over után keletkező heteroduplex régiók javítását, s az ilyenkor gyakori génkonverziót is.

---

[13] *Mismatch* = hibás párosítás, a javítási mechanizmus közimsert angol neve pedig *mismatch repair.*

PUPress

A mismatch javításának ez a DNS metilációján alapuló módja nem általános az élővilágban. Élesztőben és *Drosophila*ban például ez nem található meg, s nem is ismerjük az egyébként szükségszerűen előforduló hibás bázispárosodások javításának mechanizmusát.

JAVÍTÓ MECHANIZMUSOK, AMELYEK VALÓJÁBAN NEM JAVÍTANAK

Az eddig leírt javító mechanizmusok valódi javító mechanizmusok, mivel a hibás DNS szakaszt teljes mértékben megszüntetik. Gyakran előfordul azonban, hogy a DNS szerkezetében előforduló hibákat a javító enzimek a replikáció megkezdéséig nem javítják ki. Mivel ezen hibák területén a replikáció elmarad, s ez letális, a sejtekben ennek a problémának a megoldására, a túlélés biztosítására ugyancsak kialakultak bizonyos védekezési mechanizmusok, melyeket szintén javítási mechanizmusnak neveznek, holott ilyenkor az eredetileg meglévő hiba nem javítódik ki.

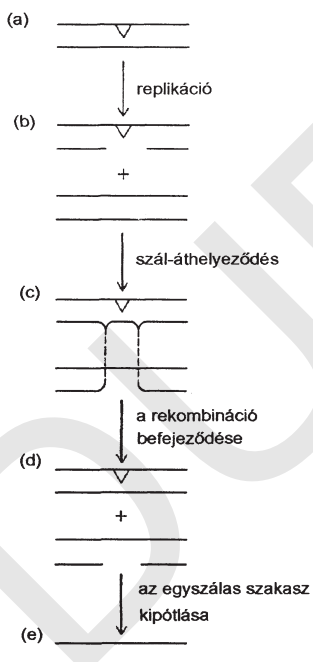
REKOMBINÁCIÓS VAGY REPLIKÁCIÓ UTÁNI JAVÍTÁS

Ezt a javítási mechanizmust az E. coliban mutatjuk be, ahol a folyamat jól ismert (13.16. ábra). A replikációkor a DNS egyik szála hibás (a), (pl. timin dimert tartalmaz), s mivel ez a régió nem használható templátként, vele szemben a komplementer szál szintézise elmarad (b). A replikáció a hibás szakasz után folytatódik, aminek eredménye, hogy a keletkező DNS molekula egy rövid szakaszon egyszálas lesz, ami a DNS funkciójával összeegyeztethetetlen, s lehetetlenné teszi a következő replikációt. Ennek kiegészítése történhet meg az egyszálas szakasz és a replikáció eredményeként keletkezett másik, hibátlan DNS utód molekula homológ szakasza közötti rekombinációval (c). Ez tipikus homológ rekombináció, amely a recA fehérje működésén alapszik. Ennek a rekombinációnak az eredménye az egyszálas régió kiegészülése (d), de nem a kijavítása, hiszen az eredeti hiba változatlanul megmarad. Ennek kijavítására az újabb replikáció előtt azonban ismét lehetőséget kap a sejt. A rekombináció eredményeként a másik, ép molekulán keletkezik egy egyszálas szakasz, amely ugyancsak kijavításra (befoltozásra) kerül (e).

ELTE Press

VÉSZREAKCIÓ AZ *E. coli*BAN, AVAGY A DNS HIBÁS „JAVÍTÁSA"

Ez a „javító" mechanizmus, mint neve is mutatja (angolul *error prone* = hibára hajlamos) szintén nem szünteti meg a DNS szerkezetében fellelhető hibákat, de a replikáció végbemenetelének biztosításával lehetővé teszi a sejtek túlélését. Működését az erős UV sugárzás, vagy más, a DNS szerkezetét súlyosan károsító környezeti behatás váltja ki. Működése a recA fehérjéhez kötött. A DNS károsodása, pl. a sejtekben az egyszálas DNS megjelenése következtében különböző, ún. SOS javító rendszerek aktiválódnak, s a hibás DNS szakasszal szemben is szintetizálódik egy új szál, ami azonban, mivel normális replikáció nem mehet végbe, általában nem komplementere a szülői szálnak. Ilymódon a DNS replikáció megtörténik, s a sejtnek lehetősége van a hiba (pl. timin dimer) kijavítására, de ennek eredménye általában mutáció lesz. A replikációt ilyenkor is a DNS polimeráz III enzim végzi, de önellenőrző és javító funkciója fel van függesztve (pl. egy másik fehérje kapcsolódik hozzá).



13.16. ábra. *A rekombinációs, vagy replikáció utáni (posztreplikációs repair) javítás mechanizmusa.*

A DNS JAVÍTÁS ELMARADÁSÁNAK KÖVETKEZMÉNYEI

A vad típusú *E. coli* genomonként kb. 50 timin dimert képes tolerálni, mivel a javító mechanizmusai képesek azokat kijavítani. Az *uvrABC* operon bármely génjének mutációja sokkal érzékenyebbé teszi a sejteket UV fényre, mivel elmarad az exciziós repair, de a sejtek még mindig képesek a hibák javítására. Az *uvr* és *recA* génekre kettős mutánsok UV fényre rendkívül érzékenyek, mivel sem exciziós, sem rekombinációs javításra nem képesek. Ezen sejteknek már sejtenként és genomonként 1-2 pirimidin dimer is letális.

DUPress

Hasonló a helyzet emberben is. A DNS-javító rendszerek veleszületett rendellenességei esetén különböző betegségek (*xeroderma pigmentosum, ataxia telangectasia,* Fanconi-féle anémia, Bloom szindróma) alakulnak ki. Az utóbbi három betegség esetén igen gyakori a kromoszóma rendellenesség, különösen a törések és a folytonosság hiánya a kromoszómán. A Bloom szindrómára kifejezetten jellemző a gyakori testvérkromatid kicserélődés eredményeként megjelenő kockás arlekin (Harlequin) kromoszóma (13.10. ábra). Ezekben a kórképekben a daganatos betegségek kialakulása is gyakoribb a populációs átlagnál, ami valószínűleg a különböző kémiai mutagének által okozott mutációk kijavításának elmaradásával magyarázható.

Valamelyest többet tudunk a *xeroderma pigmentosum*ról. Ezek a betegek rendkívül érzékenyek UV fényre, bőrük pigment termelése fokozott, s napfény hatására a populációs átlagnál többezerszer gyakrabban alakul ki bőrrák, mivel a kialakuló timin dimerek kijavítására nem képesek. Különböző páciensek sejtjeinek *in vitro* fúziója, s a fúziós sejtek UV érzékenységének vizsgálata alapján a résztvevő gének kilenc komplementációs csoportba oszthatók, azaz legalább kilenc, a javításban résztvevő fehérje génjének károsodása hozhatja létre ugyanazt a fenotípust (pszeudoallélia). Ezen kísérletek alapján egyébként azt is kimutatták, hogy leggyakrabban az exciziós repair első, láncbemetszési lépése deficiens. Az ilyen egyénekben gyakrabban fejlődnek ki más daganatos betegségek is.

Egyes szerzők az öregedés folyamatát is összefüggésbe hozzák a DNS javítás elmaradásával és hibáival. Egyes teóriák szerint az aktív radikálok által okozott mutációk a fő okai az öregedésnek és egyes, az öregedéssel összefüggő betegségeknek, s ezek kialakulása antioxidánsokkal megelőzhető illetve késleltethető.

Összefoglalás

(*1*) Azt, hogy a genetikai kód bázishármasokból áll, bázispárok deléciójának és inszerciójának a hatása alapján igazolták. Az egyes tripletek jelentését mesterségesen szintetizált RNS molekuláknak *in vitro* fehérje-szintetizáló rendszerben történt alkalmazásával állapították meg.

(*2*) A genetikai kód (majdnem) minden élőlényben azonos (univerzális).

(*3*) A pontmutációk általában báziscserék, vagy kereteltolásos mutációt okozó deléciók és inszerciók, melyek testi és ivarsejtet egyaránt érinthetnek.

(*4*) A sarlósejtes anémia egyetlen báziscsere következménye. Gyakorisága bizonyos fekete populációkban nagy. Jelenleg nem gyógyítható, de prenatálisan diagnosztizálható.

PUPress

(*5*) A globin gén több száz szubsztitúciós mutációját ismerjük. A genetikai kód ismeretében a megváltozott aminosavsorrend megállapítható. A fenotípusos következmények annak függvényei, hogy a változás mennyiben érinti a hemoglobin molekula sajátságait.

(*6*) A talasszémia az α- vagy a β-globin csökkent szintézisének a következménye. Ezek tanulmányozása azt mutatta, hogy sokféle olyan mutáció van, amely a globin gének transzkripcióját, vagy transzlációját befolyásolja.

(*7*) A spontán mutációk főként replikációs hibák miatt keletkeznek. Az indukált mutációk ismert mutagének hatására jönnek létre.

(*8*) A különböző mutagén anyagok mikroorganizmusokat, szövettenyészeteket, vagy kisállatokat felhasználó különböző tesztrendszerekkel azonosíthatók. A legelterjedtebb ilyen teszt az Ames teszt *Salmonella* baktériumot használ, de maga a rendszer részben utánozza az emlős szervezetet. A testvérkromatid-kicserélődés a kromoszóma-aberrációt okozó anyagok azonosítására alkalmas.

(*9*) Az emberi populáció mind természetes, mind mesterséges eredetű ionizáló sugárzásnak ki van téve, melyek a testi sejtekben daganatos elváltozást, ill. az ivarsejtekben öröklődő mutációkat okozhatnak.

(*10*) Az ivarsejtekre vonatkozóan valószínűleg nincs biztonságos sugárdózis. A szokásos diagnosztikai eljárásokban használatos sugárzás egyébként is csekély veszélyessége tovább csökkenthető biztonságosabb berendezések, megfelelő védelem alkalmazásával.

(*11*) Az UV fény által létrehozott pirimidin dimerek baktériumokban egy fotoreaktivációs javítás során közvetlenül visszaalakíthatók.

(*12*) Alkilált guanin bázisok ugyancsak közvetlenül, új DNS szintézise nélkül javíthatók egy transzalkilálási reakcióban, amelyben egy öngyilkos enzim –SH csoportja veszi fel az alkil csoportot.

(*13*) A legtöbb mutáció kijavítható az ún. kivágásos javító mechanizmussal, melynek fő lépései a következők: 1. a hibás szakasz felismerése (glikoziláz részvételével vagy anélkül); 2. bemetszés a hibás szakasz egyik, vagy mindkét oldalán; 3. a hibás rövid szakasz nukleotidonként, vagy oligonukleotidként való eltávolítása; 4. új komplementer szál szintézise.

(*14*) A hiba kijavításának elmaradása esetén a sejtek kétféleképpen is képesek a DNS replikációját teljessé tenni. Az egyik a rekombinációs repair, a másik pedig az SOS repair. Egyik esetben sem történik meg azonban a hiba tényleges kijavítása.

(*15*) A mutációk kijavításának elmaradása súlyos következményekkel jár. Emberben is több betegséget ismerünk, melynek oka a DNS repair hiánya.

DUPress

Kérdések

(*1*) Jelöljük + jellel egyetlen bázis inszercióját és – jellel egyetlen bázis delécióját. Ha feltételezzük, hogy a mutációk a gének belül egymáshoz közel helyezkednek el, véleménye szerint az alábbi mutáns génekről szintetizálódhat-e funkcióképes fehérje? a/ +– b/ +–+ c/ +++ d/+––+ e/+++–

(*2*) A szomatosztatin volt az első rekombináns géntechnológiával előállított emberi hormon. A rekombináns baktériumba az alábbi szekvenciájú mesterségesen szintetizált DNS-t ültették be:

3' CGACCAACATTCTTGAAGAAAACCTTCTGAAAGTGAAGCACA 5'

Mi a szomatosztatin aminosavsorrendje? (Használja a kódszótárt!)

(*3*) Az alábbi mRNS molekulák milyen polipeptidet kódolnak?

a/ poli A

b/ UCAUCAUCAUCA...

c/ UUCCUUCCUUCC...

(*4*) A ϕX174 vírusban az E fehérje kódoló szekvenciája a *D* génen belül helyezkedik el. Ennek ellenére az E polipeptid aminosav sorrendje teljesen eltérő a D polipeptid megfelelő szakaszáétól. Hogyan lehetséges ez? Mi a vírus trükkje?

(*5*) a/ A ϕX174 vírus *D* génje mRNS-ének vége GCGGAAGGAGUGAUGUAA szekvenciájú, s a leolvasás a GCG GAA keretben történik. Melyek a *D* gén által meghatározott utolsó aminosavak a D polipeptidben? b/ Az *E* gén mRNS-ének vége ugyanaz, de a leolvasás a G CGG AAG keretben történik. Melyek az E polipeptidbe beépülő utolsó amiosavak?

(*6*) a/ A glicin CCC tripletjéből egyetlen bázis cseréjével melyik kilenc triplet jön létre? b/ Mennyi nem fog ezek közül aminosavcserét okozni? c/ Hány olyan eset van, amikor a báziscsere a glicinhez hasonló töltés nélküli aminosavat eredményez? d/ Hány olyan báziscsere van, amelyik egy más elektroforetikus mobilitású polipeptidet eredményez?

(*7*) A hemoglobin α-láncában a 75. pozícióban az aszparaginsav (asp) helyén 5 különböző aminosavat (tyr, his, asn, ala és gly) találtak. Elméletileg milyen további aminosavcserék léteznek, ha csak egyetlen bázis cseréjét tételezzük fel?

(*8*) Milyen értelemben hasonlít az Ames-teszt egy emlős tesztrendszerre?

(*9*) Egy sugárlaboratóriumban dolgozó férfi beperelte a munkáltatóját, mert hemofiliás fia született, s szerinte ezért a munkáltatóját terheli a felelősség. Mint orvosszakértő milyen szakvéleményt adna a bíróságnak?

(*10*) Mivel indokolná azt az állítást, hogy a legtöbb spontán mutáció emberben nem sugárbehatásra jön létre?

Puffess

(*11*) A β-talasszémiára homozigóta újszülöttek igen gyakran egészségesek, s a betegség tünetei csak néhány hónap múlva jelentkeznek. Az α-talasszémiára homozigóta újszülöttek viszont súlyos betegek, s gyakran intrauterin elpusztulnak. Mi a különbség magyarázata?

(*12*) Tételezzük fel, hogy az Arlington Park hemoglobin mutáció a hemoglobin C-re és a hemoglobin N-re heterozigótában crossing overrel jött létre. A cross over a 6. és 95. kodon között történt. A β-lánc 6. és 95. poziciójában a következő aminosavak vannak:

Hemoglobin6	***95***	
A (normál)	glu	lys
C	lys	lys
N (Baltimore)	glu	glu
Arlington Park	lys	glu

Milyen hemoglobint kódol a másik crossing over termék?

(*13*) Az alábbiakban megadjuk a hemoglobin α-lánc szekvenciáját a Constant Spring (CS) és a Wayne (W) mutánsokban. A CS egy, a 142. triplet első bázisát érintő szubsztitúció eredménye, mely a 142. pozícióban stop kodonból értelmes kodont hoz létre. A W mutáció az X helyen létrejött (139. triplet első bázisa) kereteltolás következménye. Az alábbi táblázatban adja meg a normál gén bázissorrendjét!

	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148
CS	lys	tyr	arg	gln	ala	gly	ala	ser	val	ala
gén										
W X	asn	thr	val	lys	leu	glu	pro	arg	STOP	

(*14*) Az alábbiakban a β-globin mRNS 7. - 23. tripletek közötti szekvenciáját adjuk meg. Ismeretes a β-talasszémiának olyan esete, ahol a 8. aminosavat meghatározó triplet aláhúzott két adeninje hiányzik. Mi a következménye ennek a kereteltolásos mutációnak?

7	8	8	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
GAG	AAG	UCU	GCC	GUU	ACU	GCC	CUG	UGG	GGC	AAG	GUG	AAC	GUG	GAU	GAA	GUU
glu-	lys-	ser-	ala-	val-	thr-	ala-	leu-	trp-	gly-	lys-	val-	asn-	val-	asp-	glu-	val

DUPLESS

Válaszok:

(*1*) Az *a, c* és *d* esetekben igen, mivel csak néhány aminosavat érint a mutáció. A *b* és *c* esetekben eléggé valószínűtlen, hacsak nem a gén 3' végéhez közeli mutációról van szó.

(*2*)

NH_2: Ala-Gly-Cys-Lys-Asn-Phe-Phe-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys :COOH

(*3*) a.\ ... Lys-Lys-Lys-Lys ...

b.\ ... Ser-Ser-Ser-Ser ... és ... His-His-His-His ... és ... Ile-Ile-Ile-Ile ...

c.\ ... Phe-Leu-Pro-Ser ... (ezek ismétlődnek négyesével!)

(*4*) Elvileg a leolvasás történhet a másik szálról is. Ebben az esetben viszont a leolvasás ugyanarról a szálról, egy másik leolvasási keretben történik.

(*5*) a.\ ... Ala-Glu-Gly-Val-Met (STOP)

b.\ ... Arg-Lys-Glu (STOP)

(*6*) a.\ ACC Trp CAC ValCCA Gly

GCC Arg+ CGC Ala CCG Gly

TCC Arg+ CTC Glu- CCT Gly

b.\ 3

c.\ 3

d.\ 3

(*7*) Val és Glu.

(*8*) Szokás a táptalajhoz emlős máj-homogenizátumot (máj enzimeket) is adni, így nemcsak magukat a vizsgálandó anyagokat, hanem a májban esetlegesen keletkező metabolitjait is tesztelhetjük.

DUPress

(*9*) Bár a sugárzás okozhat mutációt, ennek az embernek nincs igaza, mivel fia a mutáns gént nem tőle, hanem X kromoszómáján az anyjától örökölte.

(*10*) Becslések szerint 50-450 rem sugárdózis okozhatná emberben a spontán mutációs rátának megfelelő gyakoriságú mutációt. Az embert érő átlagos sugárdózis ennél lényegesen kisebb.

(*11*) Az α-globin mind a fötális, mind a felnőttkori hemoglobinnak alkotórésze, míg a β-láncok csak a felnőttkori hemoglobinnak alkotórészei.

(*12*) Hemoglobin A.

(*13*)

	139	140	141	142	143	144	145	146		
CS	lys	tyr	arg	gln	ala	gly	ala	ser	val	ala
gén	T T T A T G G C A G T T C G A C C T C G G A G C C A T C G									
W X	asn	thr	val	lys	leu	glu	pro	arg	STOP	

(*14*)

7	8	8	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
GAG	GUC	UGC	CGU	UAC	UGC	CCU	GUG	GGG	CAA	GGU	GAA	CGU	GGA	UGA	...
glu-	val-	cys-	arg-	tyr-	cys-	pro-	val-	gly-	gln-	gly-	glu-	arg-	gly-		

Vegyük észre, hogy a 21. triplet STOP kodon lesz, s ezért a funkció nélküli polipeptid csak 20 aminosav hosszúságú.

DUPress

14. FEJEZET

A GENETIKAI INFORMÁCIÓ ÉS ANNAK VÁLTOZÁSAI II.

A genetikai rekombináció molekuláris mechanizmusa

Az általános (homológ) rekombináció
Specifikus rekombinációk
Fág genom integrálódása és kivágása
Rekombináció IS elemek részvételével
Hin/hix rekombináz rendszer működése *Salmonellá*ban
Nem-konzervatív, szakasz-specifikus rekombináció

Mozgékony elemek a genomban

A transzpozíció típusai

A mozgékony genetikai elemek típusai

Az inszerciós szekvenciák (IS elemek)
Transzpozonok
Transzpozonok baktériumokban
Transzpozonok eukariótákban
Mozgékony genetikai elemek plazmidokon
A transzpozíció molekuláris mechanizmusa baktériumokban

Retroelemek és retroszekvenciák

Mozgékony elemek a humán genomban; *Alu* és *L1* szekvenciák

Hogyan fejlődhettek ki a ma ismert eukarióta gének és fehérjék?

A moduláris fehérjék

DUPress

A genetikai rekombináció molekuláris mechanizmusa

A ***crossing over***rel, a homológ kromoszómák között végbemenő ***átkereszteződés***sel az 1. fejezetben már megismerkedtünk (1.11.-1.14. ábrák), genetikai következményeit a 4. fejezet tárgyalja. A molekulák elvágásával és áthelyezésével a DNS hosszú szakaszai cserélődnek ki. Ezt a cserét és áthelyeződést ***rekombináció***nak nevezzük. A rekombinációban résztvevő enzimrendszerek, DNS szekvenciák és magának a folyamatnak a mechanizmusa igen sokféle lehet, melyeket a 14.1. táblázat szerint célszerű osztályozni.

14.1. táblázat. *A rekombinációs mechanizmusok áttekintése*

I. Homológ (általános) rekombináció
II. Specifikus DNS szakasz irányította rekombináció („specifikus rekombináció")
- A) Transzpozíció
- B) Szakaszra specifikus rekombináció
  1. konzervatív* szakasz-sepcifikus rekombináció
     - a/ Int-család (3' foszfodiészter kötés a rekombinázzal)
     - b/ Hin-család (5' foszfodiészter kötés a rekombinázzal)
  2. Nem konzervatív** szakasz-specifikus V(D)J rekombináció
- C) Régió-specifikus rekombináció*** (pl. élesztőgombák párosodási típusváltása)

---

* Konzervatív: rekombináció során nincs bázis vesztés vagy betoldás

** Nem-konzervatív: a rekombináció helyén bázis vesztés és/vagy betoldás is előfordul

*** A rekombináció egy meghatározott DNS szakaszon megy végbe, de nincs kikötve, hogy a szakaszon belül melyik bázispárok között történik a bemetszés és átkeresztezés

AZ ÁLTALÁNOS (HOMOLÓG) REKOMBINÁCIÓ

Ezt a rekombinációs mechanizmust azért nevezzük általánosnak, mert közreműködő enzimei bármilyen eredetű, bármilyen bázissorrendű DNS molekulákat fel tudnak használni szubsztrátként, ha azok elég hosszú szakaszon homológok egymással. Létrehozzák a homológ szakaszok között a száláthelyeződést, majd ezt követően az áthelyezett szálak kereszteződésénél a két DNS között molekula részek cseréjét. Kb. 800 bázispárnyi homológ (azaz legfeljebb egy-két bázispár kivételével azonos) DNS szakasz szükséges a folyamat lejátszódásához. Ezért nevezik homológ rekombinációnak is.

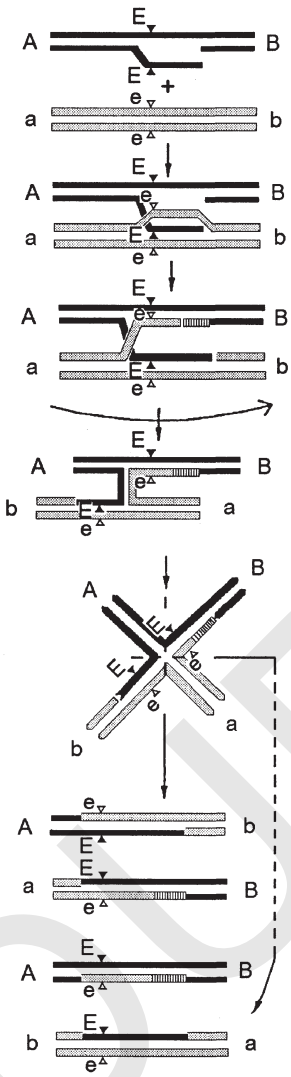
PUPress

Az általános rekombináció molekuláris mechanizmusa eukariótákban azért is tisztázható nehezen, mert összekapcsolódik a meiózis lefolyását szabályozó, ill. irányító eseményekkel: az egyik elakadása a másik lefolyását is lehetetlenné teszi vagy nagyon megzavarja. Ezért nehéz csak eukariótákat tanulmányozva kideríteni, hogy egy-egy fehérje az egyik vagy a másik folyamatban játszik-e szerepet. A homológ rekombináció eseményeit prokarióták (leggyakrabban *E. coli*) rekombinációs folyamatainak tanulmányozásával lehetett kideríteni. Az egyes lépések természetét, azaz az egyes közreműködő enzimek szerepét itt is *in vitro* kisérletekben lehetett pontosan megismerni és a feltételezéseket bizonyítani. *E. coli* esetében ismerjük a rekombináció egyes lépéseit és az ebben közreműködő legfontosabb fehérjéket. Szerencsénkre az evolúció a legfontosabb közreműködő fehérjéket eukariótákban is felismerhető formában megőrizte. Ez lehetőséget ad szerepünknek *in vitro* kisérleti rendszerekben történő tanulmányozására.

A homológ rekombináció egymást követő lépéseinek modelljét Meselson és Radding írta le. A modell szerint a folyamat két egymással legalább 800 bázispár hosszúságú szakaszon homológ DNS molekula között akkor kezdődhet meg, ha a két molekula térben elég közel kerül egymáshoz és az egyik molekula homológ szakasza egyszálas formában van jelen. Az egyszálas forma többféleképpen is létrejöhet: lehet specifikus ***rekombinációs endonukleáz*** általi behasítás, vagy a DNS egy meghibásodott rövid szakaszának a javítása során a hibás szakasz kivágása után a szabad végű szál letekeredésének a következménye. Létrejöhet egy-egy szakasz replikációjának akadályoztatása (pl. timindimerek kialakulása UV besugárzás hatására) következtében (14.1. ábra).

A rekombináció következő lépése már specifikusabb. Baktériumokban csak a ***RecA fehérje*** képes ezt a lépést katalizálni és segítő fehérjék közreműködésére is szükség van. Lényege a száláthelyezés. A RecA fehérje kötődik mind az egyszálas, mind a duplaszálas DNS-hez. A kettős hélixet a sok hozzákötődött RecA fehérje kissé szétnyitja és a RecA-val fedett egyszálas szakaszt hozzá hibridizálja a kétszálas forma komplementer szálához, kiszorítva helyéből az eredeti szálat. Ez pont azért lehetséges, mert az egy- és kétszálas DNS-hez egyaránt kötődik. A folyamat energiaigényes, a RecA ATP-hasítással fedezi az energia szükségletet. A RecA-nak ezt a működését több más fehérje is segíti (köztük az egyszálas DNS-t kötő ún. SSB fehérje).[1]

[1] Az SSB (*Single Strand Binding*-) fehérje RecA emellett közreműködik az SOS-repair rendszer aktiválásában is.



14.1. ábra. *A homológ (általános) rekombináció modellje prokariótákban (Holliday után).* 1. Az ábrán AB-vel jelölt DNS egyik szálát valamelyik javító enzim, vagy sajátos rekombinációs endonukleáz bemetszi, szabad szálvég alakul ki. A bemetszett szál 5' vége kiszabadul a kettős hélix szerkezetből és RecA, valamint SSB fehérjék kapcsolódnak hozzá. A RecA fehérje segítségével a szabaddá vált szál áthelyeződik a vele homológ dupla szálas (ab-vel jelölt) DNS molekulára. A magával azonos bázissorrendű szálat – miközben a vele komplementer szállal hibridizál – az újonnan jött szál az ab DNS-ről kiszorítja. A kiszorított szálból ún. D-hurok képződik. A bemetszett szál helyben maradó 3' végéhez a DNS polimeráz I az AB DNS molekulán hosszabb-rövidebb új szekvenciát szintetizálhat – templátként használva annak egyszálú szakaszát.

2. A D-hurok bemetsződik és nagyrészt megemésztődik. A belőle megmaradó 5' szabad vég (RecA segítségével) szintén áthelyeződik a partner (AB) molekulára. A szabad szálvégeket DNS-ligáz köti össze. Ezzel létrejön az ún. Holliday intermedier. Ez két, egymással homológ szekvenciákat tartalmazó DNS molekula, melyeknek egy-egy szála átkereszteződik, azaz egyik molekula egyik szálaként indul, majd átlép a másik molekulára és azon folytatódik. (Az átkereszteződés helyét fajlagos ***helikáz***ok előre-hátra tologathatják, viszonylag nagy távolságra is).

3. A jobb átláthatóság kedvéért az egyik molekulát 180°-kal elfordítottuk, igy az a és b végek felcserélődnek. A valóságban ez nem jelent különbséget.

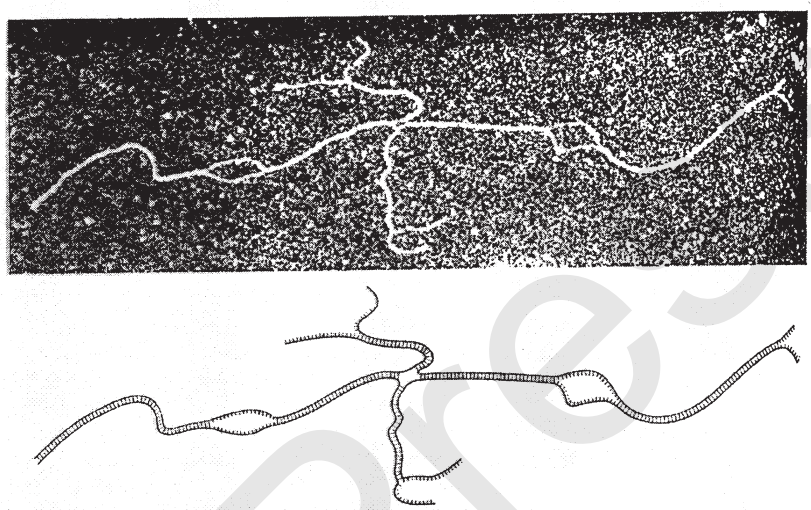
4. A Holliday intermedier kiterítve (14.2. ábra). A fekete, ill. szürke csíkok mutatják a két (AB és ab) DNS molekulából származó szálak és a rövid, újonnan szintetizált szekvencia (merőleges csíkolat) egymáshoz való viszonyát.

5. A Holliday intermediert egy specifikus endonukleáz egymásra merőleges tengelyek mentén vághatja szét. Egyik esetben (az ábrán a függőleges tengely) *crossing over* történik, a kétszálas DNS molekulák szálai helyet cserélnek.

6. A másik esetben (vízszintes tengely) majdnem helyreáll az eredeti állapot, kivéve, hogy egy-egy rövid egyszálas szekvencia átkerül az egyik DNS molekuláról a másikra. Mindkét irányú hasítás után jelen lesznek olyan szakaszok, ahol a dupla hélixet a két különböző DNS molekula szálai alkotják. Ha a két szál eredeti bázissorrendje nem volt teljesen azonos, ***heteroduplex*** keletkezik. Ilyenkor az egymással nem illeszkedő bázisok egyike „hozzá javítódik" a másikhoz (génkonverzió). Ennek illusztrálására az E és e jelölések a homológ szakaszok közötti bázissorend különbségeket tüntetnek fel. Ezeken a pontokon a száláthelyezés után nem-komplementer bázisok kerülnek egymással szembe.

DUPLÁS

Ezekkel a lépésekkel olyan kapcsolódás jön létre a két DNS molekula között, hogy a kettős hélixek egy-egy szála az átkereszteződési pontnál átlép a másikra, így általuk a két molekula összekapcsolódik. Ezt az átkeresztezéssel összekapcsolt formát ***Holliday-intermedier***nek (köztiterméknek) nevezik (14.2. ábra).



14.2. ábra. *Holliday intermedier elektronmikroszkópos képe és vázlata.* A kereszt alakú struktúra in vivo és in vitro körülmények között egyaránt kialakul, ill. kialakítható.

A Holliday-intermediert egy erre fajlgos endonukleáz hasítja ketté két külön molekulára. A hasítás kétféleképpen következhet be. Egyik esetben visszakapjuk az eredeti molekulákat a rövid szakaszon áthelyezett, ill. újonnan szintetizált szállal. A másik esetben a bemetszések olyan molekulákat eredményeznek, melyek egyik szakasza egyik, többi része pedig a másik DNS-ből származik. A bemetszéskor keletkezett szabad végeket a DNS ligáz természetesen összekapcsolja és ezzel befejezetté válik a homológ rekombináció.

Ha az áthelyezett egyszálas szakasz szekvenciája egy-két bázisban eltér a kiszorított szál bázissorrendjétől, a komplementaritás a kialakuló kettős hélixben tökéletlen lesz, ***heteroduplex*** keletkezik. A DNS-javítórendszer az egyik szálhoz javítja a másikat. Az valószínűleg a véletlenlenen múlik, hogy melyik szál szolgál templátként és melyik kerül

kijavításra. Ez eltéréseket okozhat az osztódást követően az utódsejtek allél arányaiban. Ezt a jelenséget ***génkonverzió***nak nevezzük. Társulhat crossing-overhez, vagy lehet a rekombinációs esemény egyetlen következménye.

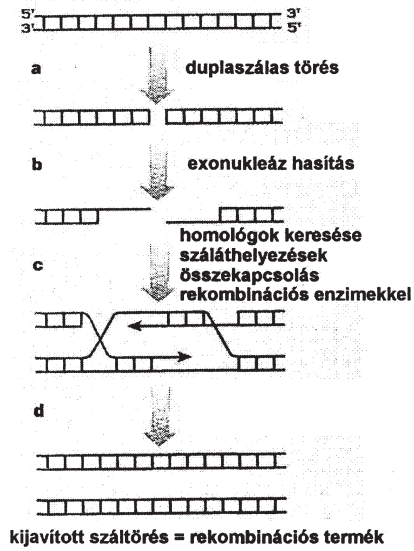
Bár a láncáthelyezést katalizáló RecA fehérje nem válogat a szekvenciák között, mégis vannak ún. ***rekombinációs „forró pontok"***, azaz olyan DNS szakaszok, ahol sokkal gyakrabban következik be rekombináció, mint más helyeken. Ennek az a magyarázata, hogy a bemetszést végző endonukleázok nagyobb affinitást mutatnak ezen szekvenciák iránt.

Alá kell húzni a rekombinációs és javító rendszerek közötti igen szoros kapcsolatot. A legfontosabb fehérjék egyaránt közreműködnek mindkettőben.

Az eukarióták rekombinációs rendszere hasonlít a baktériumokéhoz, csak annál sokkal bonyolultabb. Ahol a baktériumokban egy-egy feladat megoldására egyetlen fajta fehérje szolgál, ott eukariótákban egy-egy fehérje családot találunk, a család tagjai közötti sajátságos faladat megosztással.

Az élesztőtől az emberig a RecA feladatát több fehérje látja el. Közülük a RecA-val homológok is két családba sorolhatók. A Rad51 és a másik három ***Rad fehérje*** (Rad54, Rad55 és Rad57) a Rad52-vel kapcsolódva a repair folyamatokban és mitótikus rekombinációban működnek közre a száláthelyezést katalizálva (a Rad52 fehérje nem homológ a RecA-val, ennek ellenére éppúgy képes szabad szál áthelyezést katalizálni mint a RecA homológ Rad51). A Rad51 és Rad52 emellett a meiótikus rekombinációban is nélkülözhetetlenek, míg a Dmc1 nevű RecA-val szintén homológ rekombinációs enzim normális körülmények között csak a meiózisban jelenik meg (a Rad51 enzimmel együtt mutatható ki az alakuló szinapszisok területén). Azonosítani lehetett élesztőben majd emlősökben is több, rekombinációban közreműködő helikázt és nukleázt is. A meiótikus rekombinációhoz azok a szerkezeti fehérjék is nélkülözhetetlenek, melyek a rekombinációhoz szükséges szerkezetek (szinaptonemális komplex, rekombinációs nodulus) kialakításában működnek közre. Élesztő meiózisában viszonylag gyakoriak egyes rekombinációs forró pontok területén a DNS molekulák kétszálas törései. A kétszálas töréseket nagyobb részben II. típusú topoizomerázok hozzák létre. A DNS-t károsító tényezők - pl. ionizáló sugárzások - nem a meiózisban okoznak kettős száltörést, így javításuk szomatikus sejtekben eredményezhet rekombinációt. Ezek javítása rekombinációval kapcsolódik össze, melynek gyakori kísérője a génkonverzió, de kisebb-nagyobb DNS szakaszok deléciója is bekövetkezhet.

A homológ rekombináció enzimei a duplaszál törések javításában is közreműködnek (14.3. ábra). Ez azt is jelenti, hogy a duplaszál törések javítása rendszerint rekombinációval is jár.



14.3. ábra. *DNS kettős száltörés javítása.* A szabaddá váló végekről exonukleázok nukleotidokat emésztenek le, lépcsősen túlnyúló egyszálas szakaszok jönnek létre. Az egyszálas szakaszokhoz fehérjék kapcsolódnak. Megkeresik a töréssel homológ ép DNS szakaszt és a törvégeket száláthelyezéssel az ép molekulához kapcsolják. Így a szálak kétszeresen átkereszteződnek. A hiányzó szakaszokat a megfelelő DNS polimeráz enzim pótolja. Az egyik átkereszteződés vágása után éppúgy Holliday intermedier jön létre, mint a Radding modell szerinti rekombinációban. Az intermedier vágása itt is vezethet akár az eredeti állapot helyreállításához, akár rekombinációhoz génkonverzióval, vagy anélkül.

SPECIFIKUS REKOMBINÁCIÓK

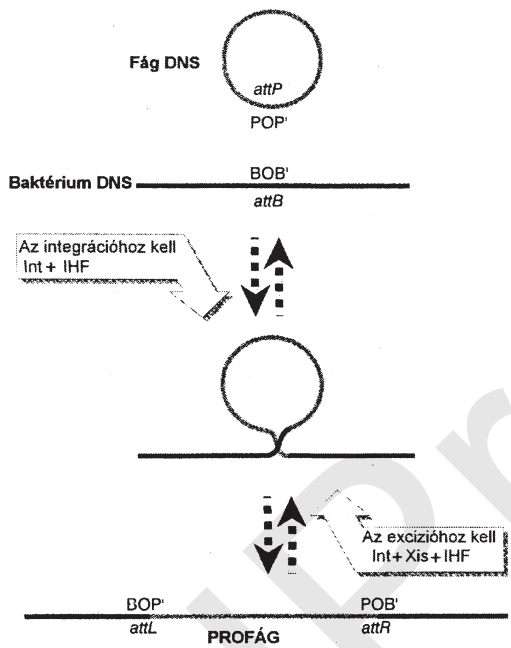
Az általános rekombinációval ellentétben a specifikus rekombináció csak meghatározott nukleotid sorrendű DNS szakaszok között mehet végbe. Különböző típusai vannak, melyek különböznek a rekombinációt lehetővé tevő szakaszok szekvenciájában, a rekombinációt kivitelező enzimekben és a rekombinációhoz vezető lépések tekintetében. Közös jellemzőjük, hogy a rekombinációs szekvencia rendszerint rövid, 4-15 bázispár hosszúságú, nem palindróma szerkezetű, vagyis a szakaszok egymással azonos vagy ellentétes irányultsága egyértelműen felismerhető. A rekombináció feltétele, hogy ezek a szakaszok azonos irányultsággal kerüljenek egymás mellé. A teljesség igénye nélkül ismertetjük a specifikus rekombináció néhány főbb típusát.

FÁG GENOM INTEGRÁLÓDÁSA ÉS KIVÁGÁSA

Az ún. mérsékelt (temperált) fágok – amilyen az *E. coli* λ fágja is – az esetek jelentős hányadában nem indulnak szaporodásnak és nem pusztítják el a megfertőzött baktériumot, hanem beépülnek annak kromoszómájába, s csak azzal együtt szaporodnak.

A beépülés helyét mind a fág genomban, mind a baktérium genomban egy-egy meghatározott DNS szakasz jelöli ki. Ezeket a szakaszokat ***att*** (*„attachment"* = csatlakozás)

névvel jelöljük. Az *att* szakasz egy 15 nukleotidpár hosszúságú, nem palindróm szerkezetű központi „mag" (*core*) szekvenciából és az ezt két oldalról közrefogó, a közreműködő fehérjéket kötő szakaszokból áll. A *core* szekvencia fágban és baktériumban teljesen azonos[2] (14.4. ábra).



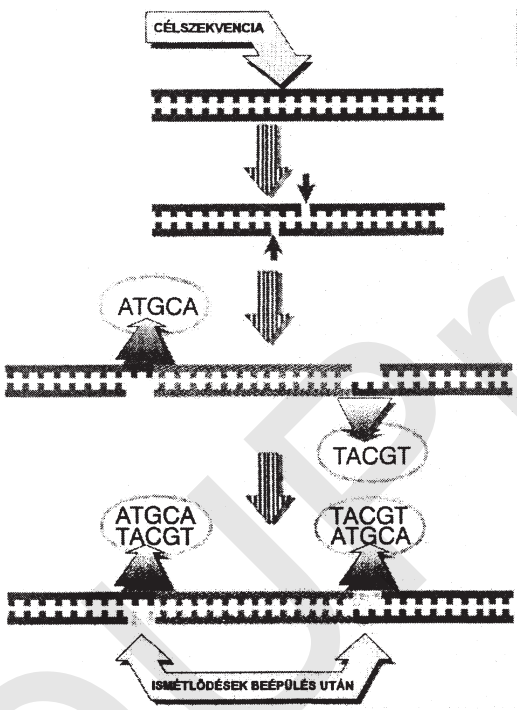
14.4. ábra. *A λ fág genom baktérium kromoszómába történő integrálódásának és kivágódásának vázlata.*(Az attL és attR a csatlakozó szekvencia bal és jobb felét jelöli a baktériumban.)

Az ezt közrefogó szakaszok a fág genomban és a baktérium kromoszómában nagyon különböznek. A POP' szakasz mintegy 240 bp hosszúságú, a BOB' mindössze 23 bp (azaz mindkét oldalon csak 4 bp-ral terjed túl a *core* szekvencián). A rekombináció végrehajtásához integrációban a fág által kódolt ***integráz*** enzimre - **Int protein** - és az *E. coli* gazdasejt IHF-nek nevezett segédfehérjéjére van szükség. Kivágáshoz ezek mellett még egy, a fág által kódolt, Xis-nek nevezett segédfehérje is kell. Minden fehérjének több példánya vesz részt a rekombináció folyamatában. A segédfehérjék a DNS-nek a rekombináció szempontjából kedvező térbeli helyzetét hozzák létre, az Int protein a rekombinációt katalizálja. Ez az enzim működési módját tekintve az I. típusú topoizomerázok családjába tartozik. A kettős hélix egy-egy szálát vágja a *core* szekvencia 5' végétől 5 nukleotid távolságra és kovalensen hozzákötődik a szabaddá vált 3'-véghez. Ezt követően a fág DNS szabaddá vált 5' végét a baktérium DNS szabaddá vált 3'-végéhez köti. Kivágáskor fordítva történik: a fág DNS fág DNS-sel, a bakteriális bakteriálissal kapcsolódik (14.4. ábra). Rekombináció során 7 bp hosszúságú egyszálas komplementer szakaszok átfedése biztosítja a pontos illeszkedést.

[2] A szerkezet jelölése a fág genomjában *attP*, a baktérium kromoszómán *attB*. Használatos ugyanezekre a *POP'* és *BOB'* jelölés is, ahol B a bakteriális, a P a fág DNS szekvenciák csatlakozási pontjait jelöli, az O a kettő közötti *core* szekvencia (mindkét esetben azonos).

REKOMBINÁCIÓ IS ELEMEK RÉSZVÉTELÉVEL

Az ***IS elem*** elnevezés az ***inszerciós szekvencia*** rövidítéséből származik. Ezek közös jellemzője, hogy két rövid, fordítva ismétlődő sorrendű DNS szakasz egy közel ezertől néhány ezer bázispár hosszúságú, fehérjét kódoló DNS darabot fog közre. Ez a fehérje ***transzpozáz***nak nevezett ***rekombináz***, mely a fordítva ismétlődő végeken lévő 9-40 bázispár hosszúságú szakaszhoz kapcsolódik és pontosan a végeken vágva toldja be vagy vágja ki az IS szakaszt a cél DNS-be, ill. a cél DNS-ből. A DNS-en a felsimert szakasz, melynél beékelődik az IS elem, sokkal rövidebb, 4-13 bp hosszúságú. A betoldás során a célszekvencia lépcsősen vágódik és a betoldott IS szakasz mindkét végén megtalálható lesz egy-egy duplaszálassá kiegészített példánya (azaz betoldás közben megduplázódik, 14.5. ábra).



14.5. ábra. *Transzpozon beékelődése egy DNS molekula célszekvenciájába.*

Az egyes IS elemeket számokkal különböztetik meg (14.1. táblázat). A transzpozáz mennyisége és aktivitása a különböző IS elemek esetében más-más módon szabályozódik (valami módon fékezni kell a beékelődések gyakoriságát, különben életképtelenné tenné a baktériumot, melynek kromoszómájába beépül).

DUPress

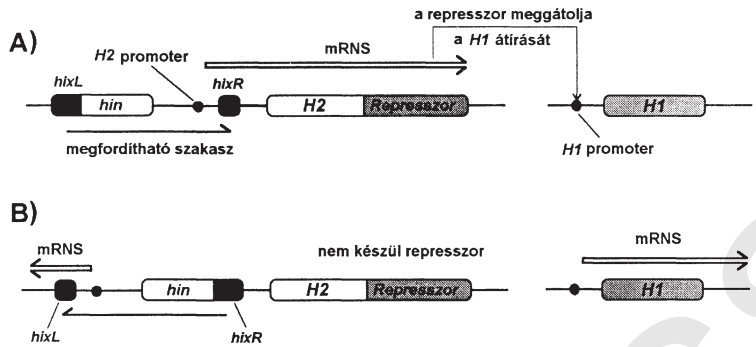
Az IS elemek mini transzpozonoknak tekinthetők. A komplex transzpozonok hosszabb DNS molekulaszakaszok, melyeknek mindkét végén ugyanaz az IS elem található meg. A transzpozonok áthelyezését egyik DNS molekuláról a másikra az IS elem által kódolt transzpoáz végzi. A kivágás akkor következik be, ha ugyanannak a transzpozonnak két példánya van jelen egy adott DNS molekulán. A kivágó enzim a ***reszolváz***, melyet nem az IS elemek kódolnak, génje az IS elemek által közrefogott szakaszon van. Az általa katalizált specifikus rekombináció hasonlít a λ fág integrációjára/kivágására. Támadáspontja a transzpozon nem ismétlődő szakaszán van. Hatására kivágódik vagy megfordul a transzpozon két példánya közötti kromoszóma-szakasz (deléció v. inverzió).

HIN/HIX REKOMBINÁZ RENDSZER MŰKÖDÉSE *SALMONELLÁ*BAN

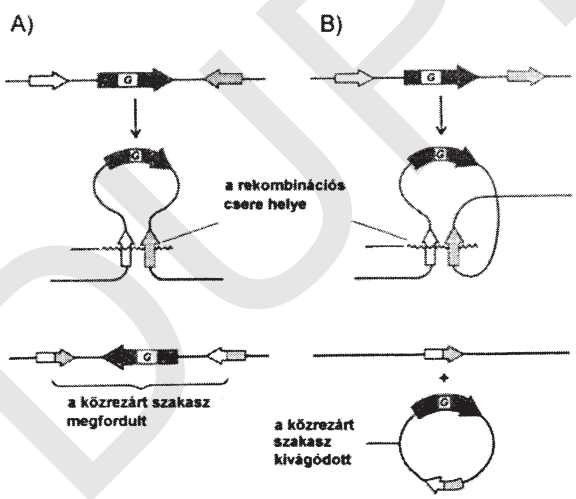
A *Salmonella* baktérium váltogatni képes a csillóiban jelenlévő fehérje-antigén termelését. (Ennek a fertőzött állat ill. ember immunválaszának kivédésében van szerepe.) Az antigén váltás a ***hix***-nek nevezett szekvenciák által közrefogott DNS szakasz megfordításának következménye (14.6. ábra).

A megfordítás specifikus rekombinációval történik. A rendszer által felismert *hix* szekvencia 26 bp hosszúságú, közepén 14 bp palindróm szekvencia van. A rekombináció a *hix* szakasz közepén történik. A rekombinációs szakasz a kromoszómán, az egyik flagellin gént közrefogva, fordítva ismétlődik, így a közöttük végbemenő rekombináció a szakasz megfordítását eredményezi (14.7. ábra). A *hix*–re specifikus rekombináz a Hin fehérje – gyakran nevezik Hin invertáznak is – a *hix* szakaszhoz kapcsolódik és a közeli enhancerhez kapcsolódó FIS protein aktiválja működését. A DNS duplaszálas vágása tompa végeket hoz létre és az átkapcsolódás ezek között megy végbe. A *Hin* rekombináz is kapcsolódik az elvágott szál végéhez, de az Int enzimtől eltérően az 5' véghez kötődik. Az enzim kötődése a vágott szálon maradó foszfát csoporthoz lehetővé teszi az ATP felhasználás nélküli összetoldást a szálak között. Több hasonló rekombinációs rendszert is ismerünk, melyekben specifikus rekombináz és hozzá tartozó célszekvencia található.

DUPress



14.6. ábra. *Salmonella flagellin operonjainak átkapcsolása Hin/hix rendszerrel.* A) A *hixL* és *hixR* fordítva ismétlődő jelszekvenciák (*inverted repeat*) a *H2* gén promoterét fogják közre. A reakciót katalizáló hin fehérje génje (*hin*) szintén a közrefogott DNS szakaszon van. A promoterről csak egyik irányban indulhat a transzkripció, mely egyik állásban a jelszekvencián áthaladva mRNS-t szintetizál a *H2* és hozzá tartozó represszor génről. A represszor a *H1* operon kifejeződését meggátolja. B) Megfordított szakasszal sem a *H2* gén, sem a represszor génje nem íródik át, nem termelődik sem H2 antigén, sem represszor, míg a *H1* gén kifejeződhet. (A *H1* és *H2* alternálva termelődő csilló antigének génjei, a nyilak a transzkripció irányát jelzik.)



14.7. ábra. *Specifikus rekombináció a két szál azonos helyén történő vágásával.*

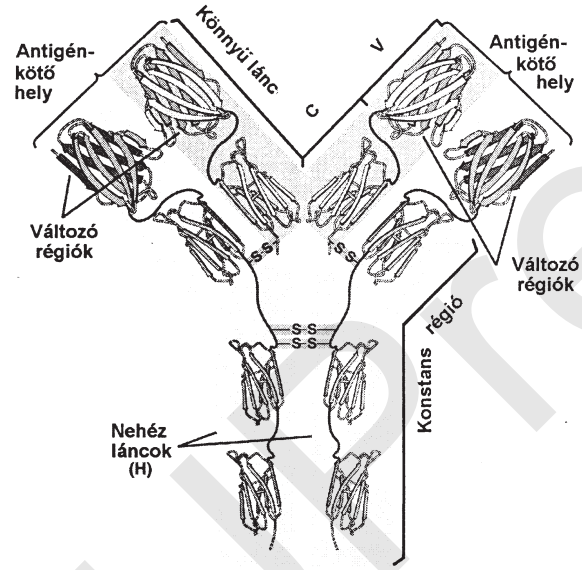
A) Fordítva ismétlődő rekombinációs jelzőszekvenciával – ilyen *Salmonella*knál a Hin/hix rekombinációs rendszer. A rekombináció a jelszekvenciák által közrefogott szakaszt megfordítja. A rekombináció ismétlődése az eredeti állapotot állítja vissza.

B) Azonos irányítottsággal ismétlődő jelszekvenciák – a rekombináció a közrezárt szakasz kivágását eredményezi. Így működik transzpozonoknál a reszolváz enzim.

DUPLÁSS

NEM-KONZERVATÍV, SZAKASZ-SPECIFIKUS REKOMBINÁCIÓ

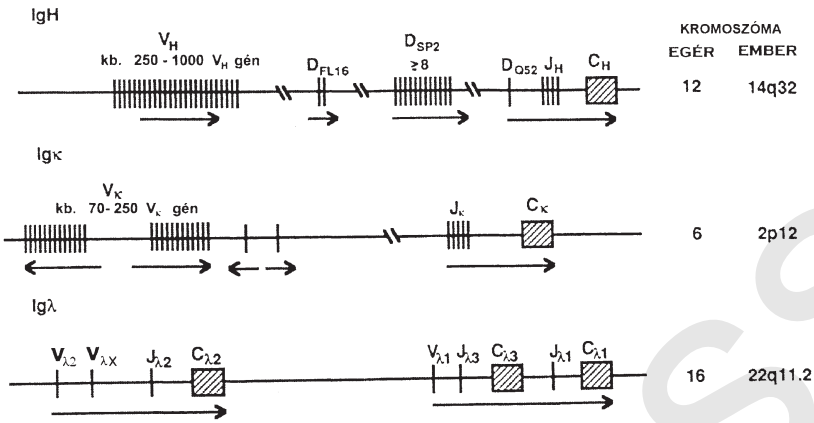
Humángenetikában fontosságát az ***immunglobulin*** és ***T-sejt receptor*** gének érésében játszott szerepe adja. A specifikus immunitás alapját jelentő immunglobulinok és T-sejt-receptorok (14.8. ábra) génjei a B-, ill. T-limfociták érése során rekombinációval jönnek létre a géncsoportot alkotó V-, (D-) és J-szekvenciákat kódoló szakaszokból (14.9. ábra). A V- és J-szekvenciák a konstans C-szakasz mellett mind a könnyű, mind a nehéz láncokban jelen vannak. D-szekvencia csak a nehéz láncokban található.



14.8. ábra. *Az immunglobulin molekula szerkezetének vázlata.* Mind a nehéz, mind a könnyű láncoknak van változó (V) és konstans (C) régiója.

Az egy-egy immunglobulin féleségben azonos C-terminális konstans régiót kódoló gén csak egyetlen példányban van jelen a genomban, a V-, D- és J-régiókat a megfelelő szekvenciák nagy számú változata kódolja, melyek közül egy-egy épül be az érett immunglobulin génbe (14.10. ábra).

Ezek adják az immunglobulin változó régióját, ami meghatározza az antitest antigénnel szembeni fajlagosságát. A lehetséges kombinációkat és változatokat figyelembe véve, ezekből a génszakaszokból a könnyű láncoknak mintegy $5 \cdot 10^4$, a nehéz láncoknak $3 \cdot 10^{13}$ egymástól különböző változata állítható elő. Összességében tehát mintegy 10^{18} különböző immunglobulin jöhetne létre. A lehetséges T-sejt-receptor változatok száma még ennél is nagyobb. (Elvileg így bármely antigénnel szemben készíthető vele specifikusan kapcsolódó antitest, ill. T-sejt-receptor.) Mondhatjuk úgy is, hogy az immunglobulinok génje DNS modulokból szerelődik össze, amiket ***jelző szekvenciák*** fognak közre.



14.9. ábra. *Az immunglobulin (Ig) gének nehéz és könnyű láncának génjei rekombináció előtt egérben és emberben.* A nyilak a transzkripció irányát jelzik. Az ábra jobb oldalán az Ig láncokat kódoló géncsapat tagjainak elhelyezkedését tüntettük fel a kromoszómákon (ember esetén a régiót is feltüntettük). A nyilak az RNS szintézis irányát jelzik a megfelelő szakaszokról.

A jelző szekvencia két végén egy hét és kilenc tagú oligonukleotid szakasz található. Ezek bázissorrendje a modulok mindkét végén azonos, irányuk is mindenhol ugyanaz. A modul egyik végén a leolvasás kezdete felől a hetes és kilences szakasz között 12 bázispár, a másik végen 23 bázispár hosszúságú **elválasztó szakasz** van. A rekombinációban mindig egy 12-es és egy 23-as elválasztást hordozó szakasz vesz részt (14.10. ábra).

A DNS két szálát a jelző és a kódoló szekvenciák határán (azonos magasságban) vágja el a közreműködő RAG1 és RAG2 enzimek komplexe. (*RAG* = rekombinációt aktiváló gén.) A kivágott jelző szakasz körré záródik, a kódoló szakaszvégek pedig hajtűvé záródnak (14.11. ábra). A hajtűvé zárt kódoló végek egyesítésében más, a DNS duplaszál törésének javításában közreműködő fehérjék is részt vesznek (SCID, Ku70/80, XRS1). Bármelyik enzim meghibásodása az immunrendszer működésének súlyos zavarához vezet.

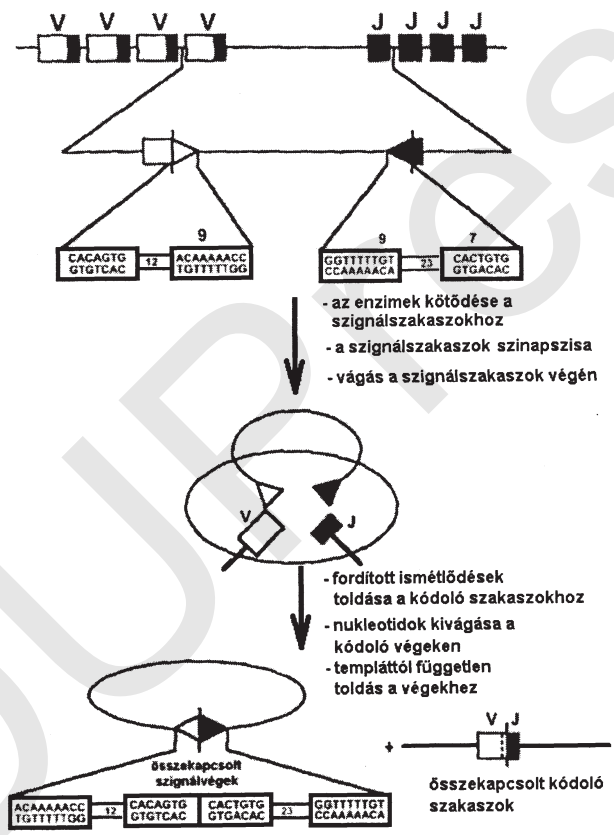
A kódoló végek összetoldása során a zárt hajtűk bemetsződnek és tompa vagy lépcsősen vágott végek keletkeznek bővüléssel. A szabad végekről legtöbb esetben nukleotidok vesznek el és/vagy kerülnek betoldásra. Ennek eredményeként ezen a helyen a toldás során mutációk is bekövetkeznek.

Az immunglobulinok könnyű lánca κ vagy λ lánc lehet. A nagy számú V_K, J_K, ill. $V_λ$ és $J_λ$ génszakaszok mellett csak egyetlen konstans génszakasz (C_K, ill. $C_λ$) található, melyhez a kialakult VJ szakasz kapcsolódik. A nehéz láncok esetén a konstans régió (C) immunglobulin osztályonként (IgM, IgD, IgG, IgE és IgA, ill. ezek altípusai) más és más. Minden osztály C régiójának a génje egy példányban van jelen. Éretlen B-limfocitákban

PRESS

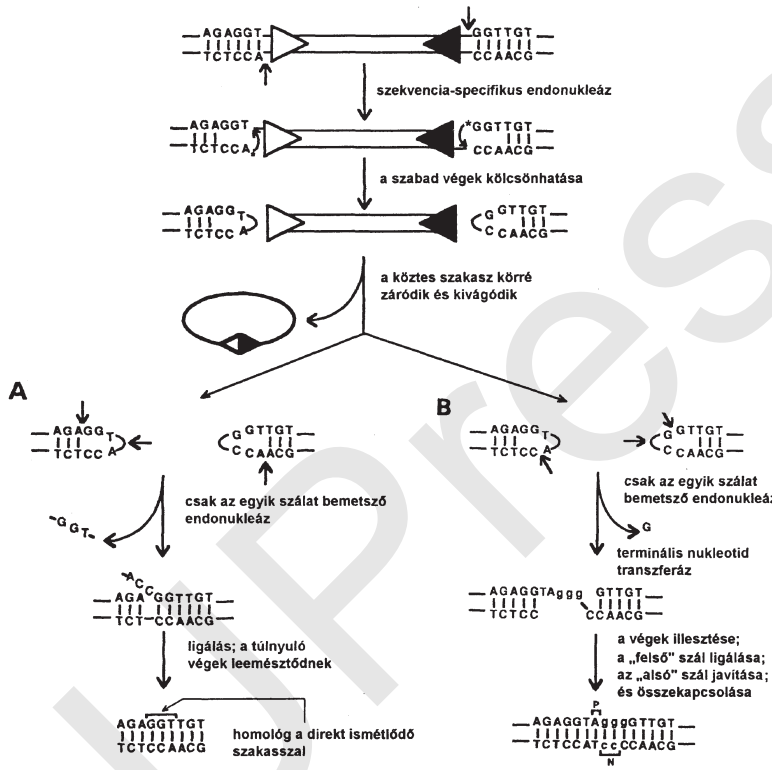
RNS szinten, az átszabás folyamán kapcsolódik a változó VDJ kombinációhoz előbb a C_μ átirat (IgM), később vagy marad a C_μ, vagy a C_δ kapcsolódik (IgD). Még később, a B-limfocita érése során DNS szinten vágódnak ki a C_μ, C_δ, ill. azokkal szomszédos szakaszok és a megmaradó C_γ, C_ε vagy C_α szekvenciáknak a VDJ-vel való kapcsolódásával alakulnak ki az érett nyiroksejtek IgG, IgE, ill. IgA osztályba tartozó immunglobulinjainak a génjei (egy adott sejtben mindig csak egy).

A rekombináció lefolyása transzpozonok áthelyezésével és retrotranszpozonok beékelődésével mutat rokonságot, mely rekombinációs eseményekben ugyancsak közbeékelt szakasszal elválasztott jelszekvenciák játszanak szerepet.



14.10. ábra. *V(D)J rekombinációs jelzőszekvenciák és rekombináció az immunglobulin gének érése során.*

DUPress



14.11. ábra. *A V(D)J specifikus rekombináció nem-konzervatív jellege: A; nukleotidok kivágása, B; nukleotidok betoldása.*

DUPress

Mozgékony elemek a genomban

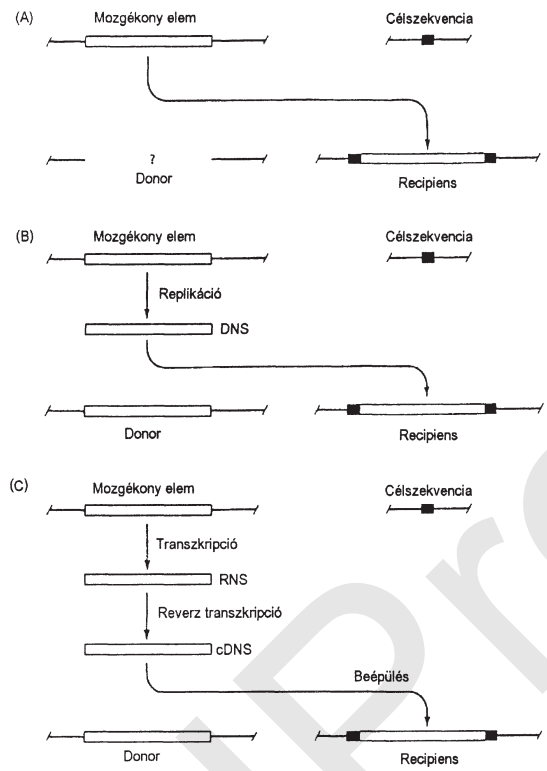
A TRANSZPOZÍCIÓ TÍPUSAI

A gének áthelyeződésével kapcsolatos eseményeket alapvetően két fő csoportba sorolhatjuk. Az egyiknél a szekvencia átvitelében csak DNS szerepel mint genetikai elem, ezt egyszerűen ***transzpozíciónak*** szokás nevezni. A másiknál RNS-szintézis és reverz transzkripció révén történik az áthelyeződés. Ezt a formát ***retrotranszpozíciónak*** (*retrotransposition*) nevezzük.

Az RNS nélküli transzpozíció tovább osztályozható. A különbségtétel azon alapul, hogy a mozgékony genetikai elem replikálódik-e a transzpozíció során, vagy sem (14.12. ábra). A **nem-replikatív típusú transzpozíciónál** az elem kilép az eredeti helyéről és egy új helyre épül be. A mozgás eredményeként az elem sejtenkénti száma nem változik, csak a helye. A donor helyen kétszálú DNS-törés keletkezik. Ennek további sorsa kétféle lehet, vagy lebontódik (ez letális lehet), vagy a repair-rendszer kijavítja. Ugyancsak replikáció nélkül zajlik a *konzervatív transzpozíció*, ami hasonló az előzőhöz. A különbség annyi, hogy itt az áthelyeződés során egyetlen nukleotid sem vész el és a donor hely teljesesen helyreáll. A **replikatív (duplikatív) transzpozíció** során az elemről másolat készül, és az épül be az új helyre. Ilyenkor az eredeti helyen is marad egy példány, tehát az elem sejtenkénti száma is változik. A mozgékony elemek egy része csak egyféle módon (vagy replikatív, vagy pedig nem-replikatív úton) képes transzpozícióra, de számos elemnél mindkét alapvető mechanizmus előfordul.

A retrotranszpozíció során a mozgékony elem (amely a kromoszómába beépült DNS-szakasz) előbb átíródik RNS-be, majd az RNS-ről reverz transzkriptáz DNS másolatot készít (cDNS-t), és végül ez a DNS-szekvencia épül be az új helyre. A folyamat végére megmarad az elem az eredeti helyén, és létrejön egy másolata a genom egy másik részébe integrálódva. Ilyen értelemben a retrotranszpozíció is duplikatív.

A felsorolt típusok előfordulnak prokariótákban és eukariótákban egyaránt. Közös sajátosságuk, hogy a beépülés helyén mindig megdupláznak egy rövid szekvenciát. Ez a szekvencia 4-12 bp hosszú, a fajra és a mozgékony elem típusára jellemző bázissorrenddel rendelkezik, és a beépülést megelőzően egy példányban található meg (szokás ***célszekvenciá***nak [*target site*] is nevezni). A beépülés után az egyik példány az integrálódott elem előtt, a másik pedig mögötte helyezkedik el. 5′-3′ irányban olvasva azonos a bázissorrendjük. Az utóbbi miatt ezt ***azonos irányú ismétlődés***nek (*direct repeat)* nevezzük.



14.12. ábra. *A transzpozíció típusai.* (A) Nem-replikatív transzpozíció. A mozgékony elem átlép a donor helyről a célhelyre. (B) Replikatív transzpozíció. A replikáció és transzpozíció egyetlen lépésben történik, az elemről DNS-másolat képződik, és ez épül be a célhelyre, ugyanakkor a donor helyen is marad egy példány. (C) Retrotranszpozíció. Az elemről RNS-másolat képződik, majd arról DNS-másolat. Az így keletkező ún. cDNS épül be a célhelyre. Mindhárom típusnál a célhely részét képező rövid DNS-szakasz (vastag fekete blokk) megduplázódik a beépülés során.

A mozgékony elemek számos típusa a szervezet valamennyi sejtjében képes transzpozícióra. Vannak azonban olyanok is, amelyek csak bizonyos sejttípusokban mozognak. Ilyenek például a *D. melanogaster* P-elemei, amelyek csak a csírasejtekben transzponálódnak. A lehetséges integrációs helyek elhelyezkedése szempontjából is többfélék az elemek. Vannak olyanok, amelyek csak egy bizonyos helyre épülnek be. Ilyen az *E. coli* IS4 szekvenciája, amely csakis a *lac* operon egy bizonyos pontjánál tud beékelődni. Mások, mint a Mu-bakteriofág (a fágok, vírusok és a mozgó elemek viszonyára még visszatérünk), véletlenszerűen épülnek be a genom bármely pontjára. A mozgékony elemek jelentős hányada a két véglet közé esik: a genom egyes régióit előnyben részesítik (ezek az ún. „***forró pontok***")[3], de azokon belül többé-

[3] A mutációk nem azonos valószínűséggel következnek be a DNS szekvencia különböző pontjain. Azokat a helyeket, ahol gyakrabban fordulnak elő, nevezték el „forró pontok"-nak. A „forró pontok"-ért molekuláris szinten nem egyetlen eseménytípus felelős, többféle ok állhat mögöttük. Egyik ilyen ok lehet a citozin-metiláció (l. 16. fejezet) és egy másik, ettől eltérő mechanizmus lehet az, hogy bizonyos régiókba preferenciálisan „ugranak be" mobilis genetikai elemek, adott esetben mutációt okozva.

DUPress

kevésbé a véletlentől függ a kiválasztott hely. (Konkrét példák vannak a 14.2. táblázat utolsó oszlopában.)

A mozgékony genetikai elemek típusai

A transzpozíció mechanizmusa és a genetikai információtartalom alapján a mozgékony genetikai elemeket három csoportra oszthatjuk: ***inszerciós szekvenciák*** (*insertion sequences*), ***transzpozonok*** (*transposons*) és ***retroelemek*** (*retroelements*).

AZ INSZERCIÓS SZEKVENCIÁK (IS ELEMEK)

A legegyszerűbb mozgékony elemek csak annyi információt hordoznak, amennyi a transzpozíciójukhoz nélkülözhetetlen (l. fent a rekombinációt). Általában rövidek, méretük 700 és 2500 bp között mozoghat. Előfordulnak baktériumokban, bakteriofágokban, plazmidokban, egyes növényekben (pl. kukoricában).

A baktériumok inszerciós szekvenciáit IS rövidítéssel jelöljük. Az IS1 jelű inszerciós szekvencia szerkezetét a 14.13. ábrán láthatjuk. Az IS1 előfordul *E. coli*-ban és *Shigella dysenteriae*-ben. 770 bázispárból áll, két végén egy-egy 23 bázispárból álló szakasz található, amely fordított irányban olvasva majdnem azonos nukleotidsorrendet mutat. Az ilyen szakaszokat ***végálló fordított ismétlődések***nek (*inverted terminal repeats*) nevezzük. Rajtuk kívül az IS1 elem két gént is tartalmaz, az *InsA*-t és az *InsB*-t. Ezek a transzpozáz enzimet kódolják, amely a transzpozíciós folyamat lebonyolításához szükséges. A többi IS elemnél egyetlen gén kódolja a transzpozázt (ez a jellemző). A vázolt szerkezet – két azonos irányú ismétlődés között két végálló fordított ismétlődés – általánosan jellemző a transzpozonokra. Ha újonnan meghatározott szekvenciában ilyet találnak, az alkalmas a transzpozon „diagnosztizálására". *E. coli*-ban számos más IS-szekvencia is előfordul. Méretük, szerkezetük törzsenként változó, sejtenkénti számuk általában 10 alatti. Néhány képviselőjük jellemző adatait tartalmazza az 14.2. táblázat.

Dunress

Jelentősen hosszabbak, mint az inszerciós szekvenciák. A legrövidebbek 2500 bázispárból állnak, a leghosszabbak meghaladják a 7000 bázispárt. A transzpozonok is tartalmaznak olyan géneket, amelyek a transzpozíciójukhoz szükséges információt hordozzák, de mindig hordoznak más funkciójú géneket is.

Megjegyzendő, hogy a szakirodalom nem mindig következetes a transzpozon kifejezés használatában. Időnként olyan gyűjtőfogalomként használja, amelybe beletartozik az összes mozgékony genetikai elem, tehát az inszerciós szekvenciák és a retrotranszpozonok is.

14.2. táblázat. *Bakteriális IS elemek*

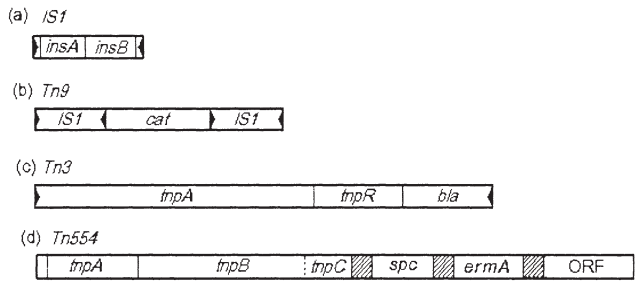
IS elem	Célszekvencia hossza (bp)	Végálló fordított ismétlődés hossza (bp)	Méret (bp)	Target kiválasztása
IS1	9	23	768	véletlenszerű
IS2	5	41	1327	„forró pontok"
IS4	11-13	18	1428	$AAAN_{20}TTT$*
IS5	4	16	1195	„forró pontok"
IS10R	9	22	1329	NGCTNAGCN
IS50R	9	9	1531	„forró pontok"
IS903	9	18	1057	véletlenszerű

*N: bármely nukleotid lehet az adott helyen

TRANSZPOZONOK BAKTÉRIUMOKBAN

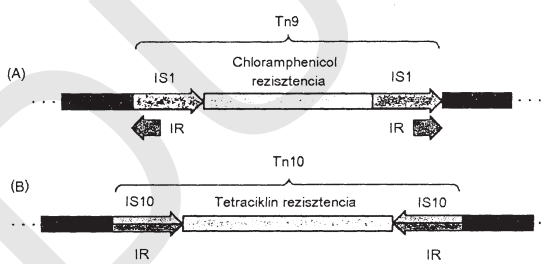
A baktériumokban a transzpozonokat Tn-nel jelöljük. Szerkezetük nagyon változatos (14.13. ábra). Egyik csoportjuk az *összetett (composite) transzpozonok*, amelyek tulajdonképpen két IS-ből és egy általuk közrefogott DNS-szakaszból állnak. Az utóbbi tartalmazhat egy vagy több gént is. Ezek között általában vannak olyanok is, amelyek valamilyen rezisztenciát biztosítanak a sejt számára.

DUPress



14.13. ábra. *A bakteriális mozgékony elemek négy típusának sematikus szerkezete.* (a) *E. coli* és *S. dysenteriae* IS1 inszerciós szekvenciája. (b) *E. coli* Tn9 transzpozonja. (c) Az *E. coli* Tn3 transzpozonja. (d) *Staphylococcus aureus* Tn554 transzpozonja. A fekete háromszögek a végálló ismétlődéseket és azok irányát jelentik (további magyarázatok a szövegben).

A 14.13. ábrán látható Tn9 transzpozon *cat* génje a gazdasejt chloramphenicollal szembeni rezisztenciáját okozza. A végálló IS1 szekvenciák ennél a transzpozonnál azonos irányúak, azaz azonos irányban olvasva mutatják ugyanazt a bázissorrendet. Azonban mindkét IS1 mindkét végén megtalálható ugyanaz a rövid fordított állású ismétlődés is (lásd fent és az 14.2. táblázatban), így végeredményben a Tn9 legelső 23 bázispárja és a legutolsó 23 bázispárja egymás fordított irányú másolatainak tekinthetők. A 14.14. ábrán mindez részletesebben is látható. A Tn10 transzpozonban a közrefogó inszerciós szekvenciák fordított állásúak. Ennek következtében a végálló fordított ismétlések jóval hosszabbak, mintegy 1400 bázispárból állnak (14.14. ábra). Mindkét transzpozonra jellemző, hogy transzponálódhat egészben is, de előfordulhat, hogy csak az egyik vagy a másik IS transzponálódik a transzpozon többi része nélkül.



14.14. ábra. *A végálló IS-szekvenciák irányultságának két lehetősége bakteriális transzpozonokban.* (A) A Tn9 transzpozonban a két IS1 iránya azonos. (B) A Tn10 transzpozonban a két IS10 iránya ellentétes. IR: fordított ismétlődés.

Az ún. *TnA család*ba tartozó bakteriális transzpozonok nem tartalmaznak IS-szekvenciákat. Ezekben a végálló ismétlődések sokkal rövidebbek. A 14.13. ábrán példát láthatunk erre a típusra is. A Tn3 két végén egy-egy 38 bázispárból álló szekvencia található, amelyek egymás fordított állású másolatai, de nem tekinthetők inszerciós szekven-

ciáknak. Három gént fognak közre. A *tnpA* kódolja a transzpozázt, azt az enzimet, amely a transzpozícióhoz nélkülözhetetlen és amelyet a Tn9 és Tn10 transzpozonoknál (14.14. ábra) a végálló inszerciós szekvenciák génjei biztosítottak. A *tnpB* (vagy *tnpR*) egy másik enzimet kódol, a reszolvázt, amelyik szintén a transzpozícióhoz szükséges. A harmadik gén a *bla*, egy β-laktamázt kódol. Az utóbbi képes inaktiválni az ampicillint, és így azok a sejtek, amelyekben a Tn3 jelen van, rezisztensek az ampicillinnel szemben.

Végül ismerünk olyan transzpozonokat is, amelyek végén nincsenek ismétlődő szekvenciák. A 14.13. ábrán látható Tn554-ben öt gén ismert. A *tnpA*, *tnpB* és *tnpC* mindegyike egy-egy transzpozázt kódol. Az *spc* spectinomycin, az *ermA* pedig erythromycin elleni rezisztenciát okoz. Az ORF egy olyan nyitott leolvasási keret, amely szerepéről keveset tudunk.

A 14.3. táblázat néhány további bakteriális transzpozon legfontosabb jellemzőit is bemutatja. Figyeljük meg, hogy valamennyi hordoz olyan gént is, amelyik rezisztenciát okoz. A rezisztencia megnyilvánulhat antibiotikummal, nehézfém-ionokkal vagy toxinokkal szemben.

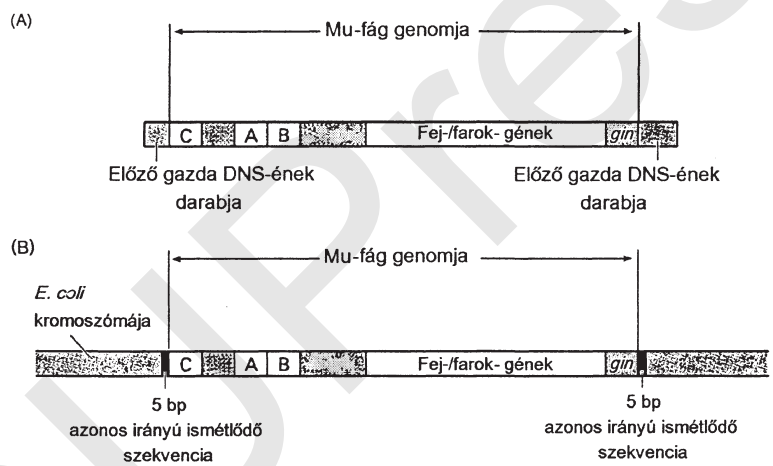
A transzpozon fogalmát kicsit szélesebben értelmezve bizonyos bakteriofágok is ide sorolhatók. A Mu-fág például egy nagyméretű (38 000 bp) transzpozonnak tekinthető. Nevét (Mu = *mutator*) azért kapta, mert a kromoszomális génekbe beépülve, azokat megszakítva, mutációkat okozhat. Hordozza mindazt az információt, amely genomjának a baktériumkromoszómába történő beékelődéséhez és a beépülés helyéről más helyekre történő transzpozíciójához szükséges.

14.3. táblázat. *Néhány bakteriális transzpozon jellemző adatai*

Transzpozon	Specifikus gén (rezisztencia)	Teljes hosszúság (bp)	Végálló ismétlődés
Tn1	ampicillin	4957	38 bp
Tn3	ampicillin	4957	38 bp
Tn5	kanamycin	5400	IS50L, IS50R
Tn9	chloramphenicol	2638	IS1
Tn10	tetraciklin	9300	IS10L, IS10R
Tn501	higany	7800	38 bp
Tn554	erythromycin és spectinomycin	6200	–
Tn732	gentamycin és tobramycin	11000	–
Tn903	kanamycin	3100	IS903
Tn1681	hőstabil enterotoxin	2088	IS1

A 14.15. ábrán láthatjuk a Mu-fág genomjának két lehetséges állapotát. A felső séma mutatja a gazdasejten kívüli állapotot, vagyis azt a lineáris duplaszálú DNS-t, amelyik a fágrészecskékben található. Ez tartalmazza a teljes fág-genomot és a DNS két

végén egy-egy rövid szakaszt, amit a legutóbbi szaporodása során a gazdaszervezet kromoszómájából ragadott magával. Ha egy ilyen DNS-molekula behatol egy baktérium-sejtbe, beépülhet annak kromoszómájába. A beépülés a nem-replikatív transzpozíció logikáját követi, és ennek megfelelően a gazdasejt kromoszómájából egy rövid darabot megdupláz. A megkettőzött szakasz tekinthető a célhelynek, vagyis annak a helynek, ahova a beépülés történik. (Érdekes, hogy ez jóval kisebb, mint a fágrészecskében lévő DNS végén elhelyezkedő bakteriális eredetű szekvenciák.) Hogy azokkal mi történik az integráció során, egyelőre nem teljesen világos. A beépülés után egy represszor képződik, amit a fág egyik génje kódol. Ez a represszor meggátolja a többi gén nagy részének működését, és így a Mu-fág a gazdaszervezet kromoszómájának „csendes" részeként, profágként viselkedik. A replikációk során azonban időnként másolat képződik róla, amely a gazdasejt kromoszómájának más részeibe épül be. A folyamat a replikatív transzpozícióhoz hasonló módon megy végbe. Természetesen a beépülés nem jelenti azt, hogy a fág nem szaporodhatna. A beépült genomról készülhetnek olyan másolatok is, amelyek szabad, önálló molekulákként megindíthatják a fág szaporodását a baktériumsejtben.



14.15. ábra. *A Mu-fág genomjának két állapota.* (A) A fág genomja a fágrészecskében. B) A fág genomja a baktérium kromoszómájába beépülve.

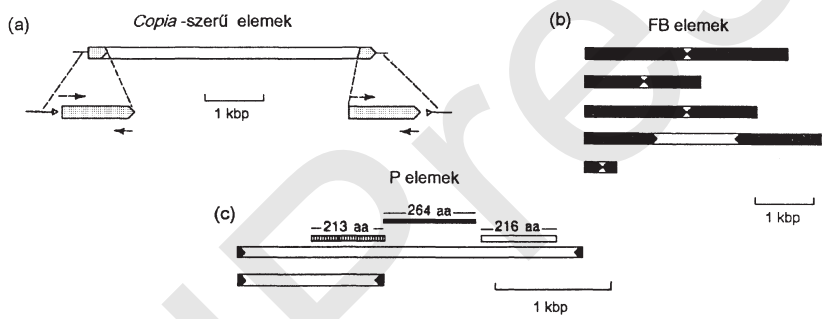
DUPRESS

TRANSZPOZONOK EUKARIÓTÁKBAN

A transzpozonok előfordulnak eukariótákban is. Legtöbbet a *Drosophila* és a kukorica transzpozonjairól tudunk.

Drosophila-ban három típus ismert: a copia-szerű elemek, az FB-elemek és a P-elemek (14.16. ábra). Jelentőségüket jellemzi, hogy a genom 10%-át is alkothatják.

A ***copia-szerű elemek***[4] (*copia-like elements*) két viszonylag rövid, azonos irányú végálló ismétlődésből, és az általuk közrefogott lényegesen hosszabb szakaszból állnak. A 276 bp hosszú végálló ismétlődések szekvenciájára jellemző, hogy a végeik egymás fordított ismétlődései. Bizonyos mértékben emlékeztetnek az IS-szekvenciákkal határolt bakteriális transzpozonokra. A *copia*-szerű elemek több alcsoportba sorolhatók. A csoportok mérete 5 kb és 8,5 kb közé esik.



14.16. ábra. *A* Drosophila *mozgékony genetikai elemeinek három típusa.* (a) Copia-szerű elemek, (b) FB-elemek és (c) P-elemek. A satírozott szakaszok és a háromszögek a végálló ismétlődéseket jelzik. A P-elemek fölötti három vonal a három nyitott olvasási keretet jelzi, a számok a kódolt aminosavak feltételezett számát mutatják.

Az ***FB-elemek*** (*fold-back*) szintén tartalmaznak végálló ismétlődéseket, de azok iránya fordított. Hosszúságuk változó, és rendszerint közrefognak egy rövidebb vagy hosszabb DNS-szakaszt. Előfordul azonban olyan FB-elem is, amely csak két végálló ismétlődésből áll.

A ***P-elemek*** végeiken rövid fordított állású ismétlésekkel rendelkeznek. Valószínű alaptípusuk egy 2,9 kb hosszúságú DNS-szakasz, amely lerövidülhet, s ez nyilvánvalóan a leolvasási keretek számának csökkenésével jár. A P-elemek nagy jelentőségre tettek szert a génsebészeti kutatásokban. Különösen az egyedfejlődést irányító genetikai

[4] A *copia* a legjobban jellemzett transzpozon-család *Drosophila*-ban. Neve onnan származik, hogy nagy kópiaszámú rokon szekvenciákból áll, melyekről élénk mRNS szintézis folyik.

mechanizmusok tanulmányozásában értek el velük, illetve az általuk kiváltott mutációk segítségével számos olyan tudományos felfedezést, amelyek az emberi szervezet egyedfejlődésének kutatásában is óriási segítséget jelentettek.

A kukoricában többféle rendszert is ismerünk. Ezek meglehetősen bonyolult módon egymással is kölcsönhatásban lévő mozgékony elemekből állnak. Mivel jelentőségük az orvosi genetika szempontjából csak többszörösen közvetett lehet, eltekintünk részletes ismertetésüktől.

Azon kívül, hogy a genom egyik lokuszáról áthelyeződnek egy másikra, a transzpozonok másfajta DNS-átrendeződéseket is okozhatnak. Ezek többnyire akkor fordulnak elő, ha egy transzpozon több kópiában van jelen. Ha pl. egy mobilis elem saját eredeti helyétől bizonyos távolságra ismét beépül ugyanazon DNS molekulába, a két példány között rekombináció jöhet létre. Ennek a következménye attól függ, hogy a két mozgékony elem azonos, vagy egymással ellentétes orientációjú. Általános szabály, hogy két azonos irányú ismétlődés között végbemenő rekombináció a köztük levő DNS-szakasz elvesztésével jár. Így keletkezhet pl. ***deléció*** egy kromoszómán (15.10. ábra).

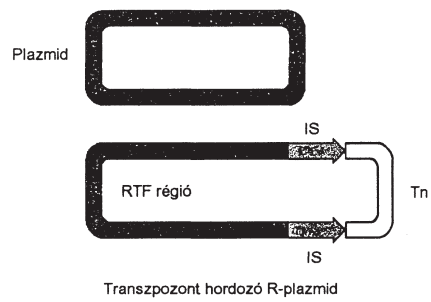
Ha fordított irányú ismétlődések (transzpozonok) között jön létre a rekombináció, akkor a közöttük elhelyezkedő régió megfordul, így jöhet létre pl. egy ***inverzió*** a kromoszómán.

MOZGÉKONY GENETIKAI ELEMEK PLAZMIDOKON

Japán kórházakban az 50-es években megfigyelték, hogy kórokozó baktériumok rendkívül gyors ütemben váltak rezisztenssé egyidejűleg többféle antibakteriális anyaggal szemben is. Ezek a baktériumok eredetileg érzékenyek voltak számos antibiotikumra. Azonban hirtelen egyre több betegben jelentek meg olyan változataik, amelyek egyszerre mutattak rezisztenciát penicillinnel, tetraciklinnel, szulfanilamiddal, streptomycinnel és chloramphenicollal szemben. Alaposabb vizsgálatokkal sikerült kideríteni, hogy a többféle rezisztencia egy „csomagban" öröklődött. Ráadásul „fertőzőnek" bizonyult: a rezisztens törzsekből átjutott az érzékeny törzsekbe, sőt más baktériumfajok törzseibe is. A későbbiek során molekuláris biológiai vizsgálatok segítségével sikerült megtalálni a magyarázatot is. A rezisztenciákért felelős genetikai információk egy közös plazmidon helyezkedtek el, amely az F-faktorhoz hasonlóan konjugáció segítségével jutott át egyik sejtből a másikba, egyik törzsből vagy fajból a másikba (l. 15. fejezet). Ezt a „fertőző rezisztenciát" hordozó elemet ***R-faktor***nak vagy ***R-plazmid***nak nevezzük.

Az első R-faktor felfedezését számos további leírása követte. Összehasonlító vizsgálatukból kiderült, hogy mind méretükben, mind információtartalmukban nagyon sokfélék lehetnek. Alapvetően két részből állnak: az RTF-régióból és a rezisztenciát (rezisztenciákat) biztosító génből (génekből). Az ***RTF*** (*resistance transfer functions*) valószínűleg egy olyan plazmidból származik, amelyik az F-faktorhoz hasonló módon képes (vagy ké-

pes volt) átjuttatni önmaga másolatát egy másik sejtbe. A rezisztenciáért felelős gének pedig tulajdonképpen transzpozonok, amelyek pl. a gazdaszervezet kromoszómájáról kerülhettek át a plazmidra. A két komponens összeépülésének (14.17. ábra) eredményeként az R-faktort tartalmazó baktériumsejt rezisztens, és a rezisztenciáját képes továbbadni más baktériumsejteknek is. A 14.18. ábra egy R-faktor részletesebben megrajzolt szerkezetét mutatja be. Érdemes összehasonlítani a mellette látható F-faktor szerkezetével. Mindkettő tartalmaz géneket a konjugációs transzferhez, mindkettőben előfordulnak inszerciós szekvenciák is, de transzpozonokat csak az R-faktorban láthatunk.

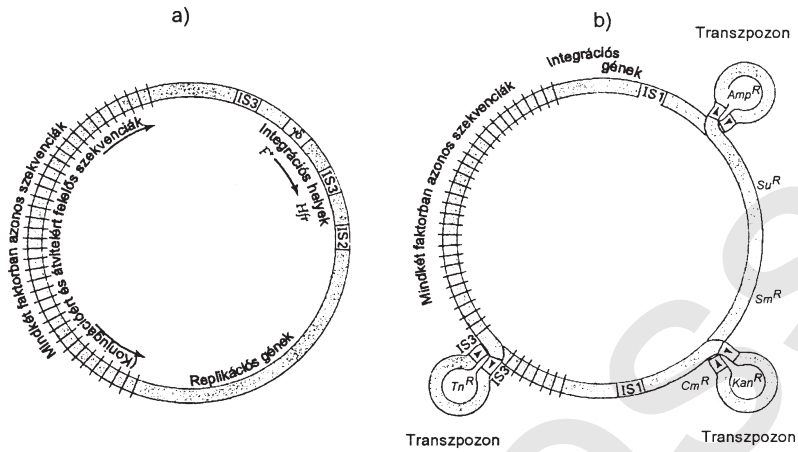


14.17. ábra. *Egy transzpozon (Tn) beépülése egy plazmidba.* Az RTF-régió tartalmazza a sejtek közötti átvitelhez szükséges géneket. A transzpozon két inszerciós szekvenciából és egy általuk közrefogott DNS-szakaszból áll. Az utóbbiban helyezkedik el a rezisztenciáért felelős gén.

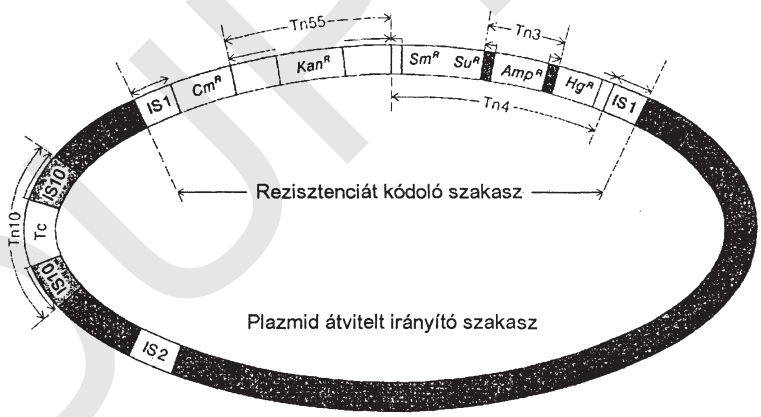
Transzpozonok és IS-szekvenciák természetesen nemcsak a gazdaszervezet kromoszómájából kerülhetnek az R-faktorokba. Transzpozíció az R-faktorok között is lejátszódhat. Az utóbbinak köszönhetően nagyon sokféle rezisztenciakombinációt hordozó R-faktorok jöhetnek létre, ami nagyon megnehezíti az antibakteriális hatóanyagok eredményes használatát. Ha mindehhez hozzávesszük, hogy a különböző R-faktorok között rekombinációk is lejátszódhatnak, akkor szinte végtelen a sokféleség lehetősége. A 14.19. ábra egy többszörös transzpozícióval és rekombinációval létrejött bonyolult összetételű R-faktor sémáját mutatja.

A TRANSZPOZÍCIÓ MOLEKULÁRIS MECHANIZMUSA BAKTÉRIUMOKBAN

A transzpozíció felfedezése óta számos modell született a mechanizmus magyarázatára. Közülük most kiemelünk egyet (14.20. ábra), amely alkalmas a replikatív és a nem-replikatív transzpozíció magyarázatára egyaránt és ugyanakkor összhangban van a kutatás eddig elért kísérleti eredményeivel is. A modell szerint a transzpozíció azzal kezdődik, hogy enzimatikus úton bemetsződik a mozgékony elem mindkét vége (14.20. ábra a és b). A bemetszések csak az egyik szálat érintik, így a DNS nem törik ketté. Mindkét esetben az a szál metsződik be, amelynél az elem végén egy szabad 3' pozíció jöhet létre. A két végén szabad 3'-vel rendelkező mozgékony elem alkalmas arra, hogy kölcsönhatásba lépjen a célhellyel. Mint tudjuk, célhelyként általában olyan DNS-szakasz jöhet számításba, amely tartalmaz egy rövid, meghatározott bázissorrendű részt.

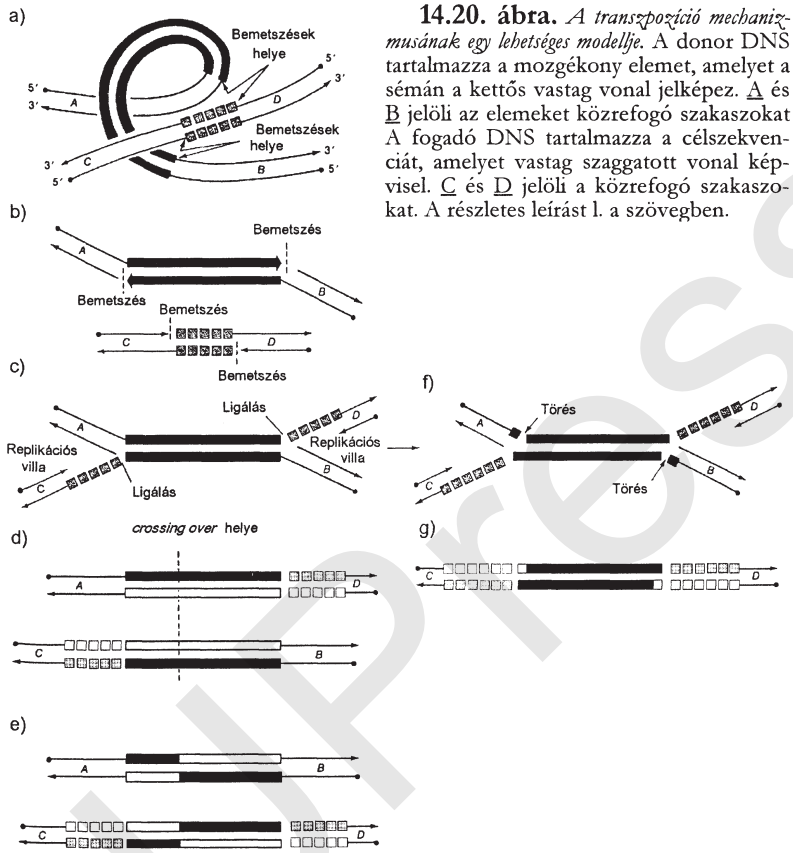


14.18. ábra. *Egy R-faktor és az F-faktor felépítésének összehasonlítása.* a) Az E. coli F-faktora. b) R-faktor. A három hurok az R-faktor gyűrűjén három transzpozont jelent. AmpR: ampicillin-rezisztencia; KanR: kanamycin- rezisztencia; TnR: tetraciklin-rezisztencia; Su^R: szulfonamid-rezisztencia; Sm^R: streptomycin-rezisztencia; Cm^R: chloramphenicol-rezisztencia.



14.19. ábra. *Többszörös rezisztenciát kódoló R-faktor térképe.* Tartalmaz egy RTF-régiót, inszerciós elemeket és transzpozonokat. A Tn3 transzpozon a Tn4 transzpozonba ékelődött. Cm^R: kloramfenikol-rezisztencia; Kan^R: kanamycin-rezisztencia; Sm^R: sztreptomicin-rezisztencia; Su^R: szulfonamid-rezisztencia; Amp^R: ampicillin-rezisztencia; Hg^R: higany-rezisztencia; Tc^R: tetraciklin-rezisztencia.

DUPLEX



14.20. ábra. *A transzpozíció mechanizmusának egy lehetséges modellje.* A donor DNS tartalmazza a mozgékony elemet, amelyet a sémán a kettős vastag vonal jelképez. A és B jelöli az elemeket közrefogó szakaszokat A fogadó DNS tartalmazza a célszekvenciát, amelyet vastag szaggatott vonal képvisel. C és D jelöli a közrefogó szakaszokat. A részletes leírást l. a szövegben.

Ennek a célszekvenciának a két végén is bekövetkezik egy-egy szimpla szálat érintő bemetszés. Azonban a mozgékony elemtől eltérően itt szabad 5' pozícióknak kell létrejönniük. Miután a bemetszések megtörténtek, a szabad DNS-végek kölcsönhatásba léphetnek egymással. A mozgékony elem 3' végei összekapcsolódhatnak a célszekvencia 5' végeivel és közöttük kovalens kötések jöhetnek létre. Természetesen ez is enzim, a DNS ligáz hatásra játszódik le. Mindez csak akkor következhet be, ha a célszekvencián belül a dupla hélix megszűnik, azaz a két DNS szál elválik egymástól.

A célszekvencia mindkét oldalon szimplaszálú, vagyis templátként szolgálhat, ugyanakkor a célszekvenciák szélénél mindkét oldalon van egy-egy 3'-végű komplementer szál is, amely viszont primerként szerepelhet egy kezdődő replikációnál (14.20. ábra c). Más szóval a mozgékony elem mindkét végén létrejöhet egy-egy replikációs villa.

DUPress

Eddig a pontig a replikatív és a nem-replikatív transzpozíció menete azonos. A továbbiakban viszont eltérő módon folytatódnak.

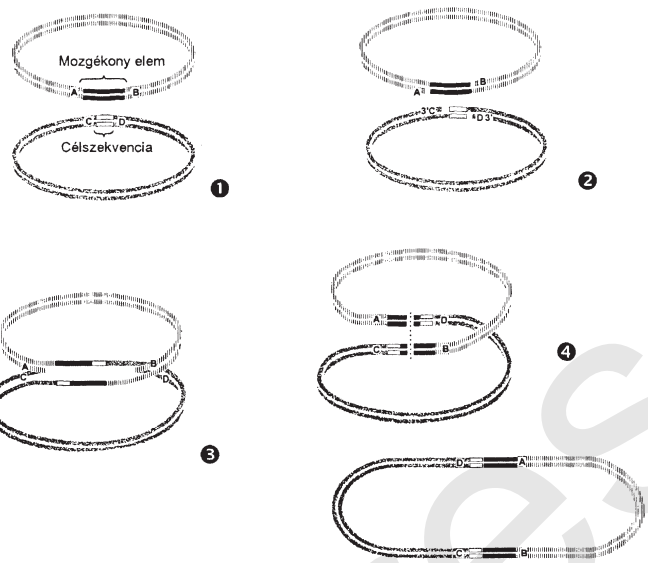
Kövessük először a replikatív mód menetét (14.20. ábra c és d). Az előbb említett replikációs villák irányából, mindkét oldalról elindul a DNS szintézis. Először megszintetizálódnak a célszekvenciák kiegészítő szálai, majd a szintézis tovább folyik, szétfeszítve a mozgékony elem két DNS-szálát. A végeredmény az lesz, hogy megduplázódik a célszekvencia is és a mozgékony elem is. Vegyük azonban észre, hogy ebben az állapotban az elemet hordozó DNS és a célhelyet hordozó DNS átkereszteződtek. Ha például az előbbi a kromoszómán volt, az utóbbi pedig egy plazmidon, akkor ezzel az eseménnyel a plazmid tulajdonképpen beépült a kromoszómába. A jelenség megértésében segíthet a 14.21. ábra.

A folyamat többnyire itt nem áll meg, hanem a megkettőződött mozgékony elemek között lejátszódik még egy átkereszteződés, egy helyspecifikus rekombináció. Ennek következtében a kromoszóma és a plazmid elválnak egymástól, mégpedig úgy, hogy a kromoszómában marad egy intakt elem és a plazmidon lesz egy hasonlóan teljes mozgékony elem, két oldalról egy-egy célszekvenciával közrefogva.

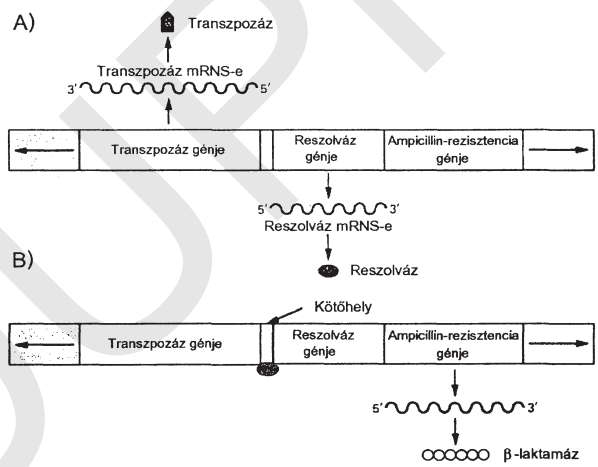
A nem-replikatív transzpozíciós mechanizmus érvényesülése esetén (14.20. ábra f és g) a donor DNS-ben a mozgékony elem mindkét végén a másik szál is eltörik. Ezáltal az elem mintegy kihasad az eredeti helyéről és átkerül a célhelyre. Mindkét oldalán lesz egy-egy szimplaszálú célszekvencia, amelyeket a DNS javító folyamatok (*repair*) duplaszálúra egészítenek ki. Végeredményként tehát a mozgékony elem átkerült az eredeti helyéről a célhelyre, miközben megduplázódott a célszekvencia.

A transzpozíció mindkét típusánál több olyan esemény is szerepel, amelyeket enzimek katalizálnak. Az enzimek többsége a gazdaszervezetben mindig jelen van, hiszen más folyamatokhoz is szükségesek. Vannak azonban olyan enzimek is, amelyek genetikai információját a mozgékony elemek maguk hordozzák. Ilyenek például a transzpozáz és a reszolváz. Az előbbi részt vesz a transzpozíciót elindító szimplaszálú bemetszések létrehozásában, az utóbbi a replikatív transzpozícióban szereplő helyspecifikus rekombinációhoz szükséges. A Tn3 rendelkezik mind transzpozázt, mind pedig reszolvázt kódoló génekkel (14.22. ábra).

A két gén egymás mellett helyezkedik el, és egy közös szabályozó régió irányítása alatt áll, ebből a régióból indul ki a két gén egymással ellentétes irányú átírása. Ebből az is következik, hogy az egyik génnél a DNS dupla hélixének egyik szála, míg a másik génnél a dupla hélix másik szála az értelmes. A rendszer további érdekessége, hogy képes a transzpozíciók számát korlátozni. Ugyanis a Tn3 számának növekedésével nő a két enzim mennyisége is a sejtben. Egy határon túl a reszolváz gátolni kezdi a közös szabályozó régió működését. Valószínűleg rákötődik és represszorként működve megakadályozza a gének átíródását. A gének aktivitásának lefékezése a transzpozíciók leállításához vezet, és ez megakadályozza a transzpozon túlzott elszaporodását, ami végül a genom teljes inaktiválódását okozhatná.



14.21. ábra. *A replikatív transzpozíció során a donor és a fogadó DNS molekulák összeépülnek egyetlen molekulává.*



14.22. ábra. *A Tn3 génjeinek transzkripciója.* (A) A Tn3 három gént tartalmaz, amelyek egy transzpozázt, egy reszolvázt és egy β-laktamázt kódolnak. (B) A transzpozíciók számának növekedésével nő a géntermékek mennyisége is. Ha a reszolváz mennyisége a sejten belül meghalad egy értéket, rákötődik a transzpozázzal közös szabályozó régióra és leállítja a két gén átírását. A β-laktamáz gén transzkripciója ettől független.

DUPress

A magasabbrendűekben lejátszódó folyamatokról is számos molekuláris részletet feltárt a kutatás. Legbehatóbb ismereteink egyes növényekről és a *Drosophila*ról vannak. Mivel ezeknek egyelőre kevés a humán vonatkozásuk és a tananyag lehetséges terjedelme is korlátozott, ismertetésüktől eltekintünk.

Retroelemek és retroszekvenciák

Ebbe a kategóriába tartoznak azok a mozgékony DNS-elemek, amelyek transzpozíciója RNS-szintézis közbeiktatásával történik. A retroelemek és retroszekvenciák azonban nem mindig mozgékonyak. Közös tulajdonságuk, hogy tartalmaznak (vagy korábbi evolúciós időszakokban tartalmaztak) olyan gént, amely reverz transzkriptázt kódol. Többféle módon is csoportosíthatók. Az egyik lehetséges csoportosítást mutatja a 14.4. táblázat.

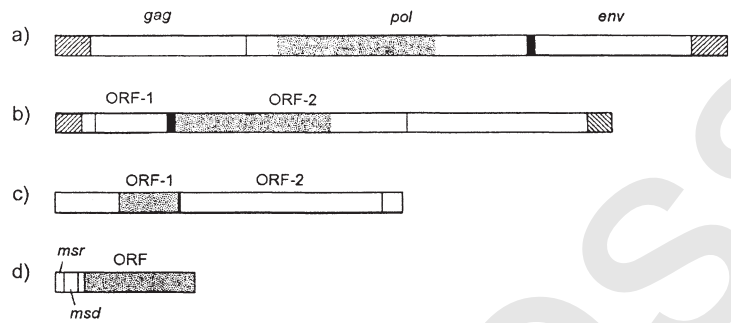
14.4. táblázat. *A retroelemek és retroszekvenciák osztályozása*

Elem	Reverz transzkriptáz génje	Transzpozíció	Végálló ismétlődések	Virion részecskék képzése
Retron	van	nincs	nincs	nincs
Retropozon	van	van	nincs	nincs
Retrotranszpozon	van	van	van	nincs
Retrovírus	van	van	van	van
Pararetrovírus	van	nincs	van	van
Retroszekvencia	nincs	nincs	nincs	nincs

Látható, hogy a hat kategória közül öt hordozza a reverz transzkriptáz génjét. A reverz transzkriptáz képes az RNS másolatok DNS-sé történő „vissza-átírását" katalizálni. Néhány retroelem szerkezetét mutatja a 14.23. ábra.

A ***retrovírusok*** a legbonyolultabb retroelemek. Velük kezdjük az áttekintést, mivel az életciklusuk megértése vezetett el a retrotranszpozíció jelenségének felismeréséhez. A 14.24. ábra mutatja az életciklust. A retrovírus részecskében, a virionban, a genetikai információ RNS-ként van jelen. A virion megkötődik a gazdasejt felszínén található receptoron, majd bejuttatja a sejtbe az RNS-ét. Az RNS-ből a reverz transzkriptáz segítségével DNS-másolat (cDNS) készül. A cDNS bejut a magba és beépül valamelyik kromoszómába. Az integrálódott provírusról ezután egyrészt rövidebb mRNS-ek képződnek a vírusfehérjék szintéziséhez, másrészt teljes hosszúságú RNS-molekulák is, amelyek majd

beépülnek az újonnan képződő virionokba. A retrovírusok genomjának két végén viszonylag hosszú ismétlődések (***LTR***-ek)[5] találhatók. Ezek regulációs régiókat biztosítanak egyrészt a transzkripcióhoz (az integrált állapotban), másrészt a reverz transzkriptázhoz (az integrálódást megelőző állapotban).



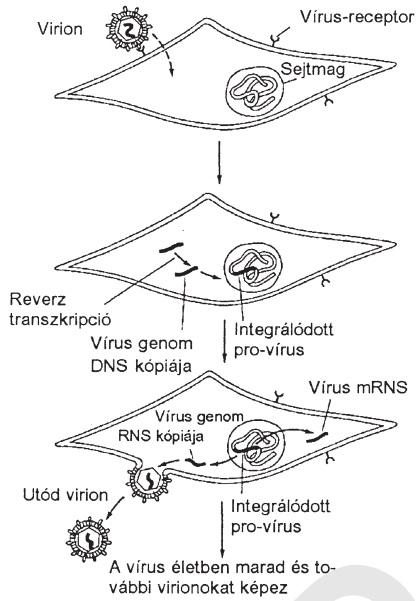
14.23. ábra. *Néhány retroelem szerkezetének sémája.* A pontozott szakaszok kódolják a reverz transzkriptázt. A fekete szakaszok a szomszédos gének átfedéseit jelentik. A vonalkázott részek felelnek meg a végálló ismétlődéseknek (LTR-elemek). a) Macska leukémia retrovírus. A *gag, pol* és *env* rövidítések három kódoló régiót jelentenek. b) A *Dictyostelium discoideum* DIRS-1 jelű retrotranszpozonja. Az ORF1 és ORF2 egy-egy nyitott leolvasási keretet jelentenek. c) A *Drosophila melanogaster* G3A retropozonja. Vegyük észre, hogy nincsenek benne LTR-ek. d) A *Myxococcus xanthus* baktérium retronja. Itt sincsenek LTR-ek.

A ***retropozonok*** és a ***retrotranszpozonok*** olyan mozgékony elemek, amelyek nem képeznek virionokat, így nem képesek elhagyni a sejtet. A retropozonoknak nincs, a retrotranszpozonoknak viszont van végálló ismétlődésük, azaz LTR-ük. A *Drosophila copia*-eleme egy tipikus retrotranszpozon, amely két LTR-ből és az általuk közrefogott nyitott leolvasási keretből áll. Az utóbbi biztosítja a reverz transzkriptáz szintézisét.

A legegyszerűbb retroelemek a ***retronok***. Néhány baktériumban és az *Oenothera bacteriana*[6] mitokondriumában bizonyított az előfordulásuk. Rendelkeznek egy szakasszal, amely reverz transzkriptázt kódol, de maguk nem képesek átlépni a genom más részébe. Nem is rendelkeznek LTR-ekkel. Tulajdonképpen a kromoszóma stabil, transzkripcióra alkalmatlan részeinek tekinthetők.

[5] LTR: *LongTerminal Repeat*

[6] A ligetszépefélék családjába tartozó növény.



14.24. ábra. *A retrovírus életciklusának egyszerűsített sémája.*

A ***pararetrovírusok*** – mint például a hepatitis B vírus – genomjának szerveződése hasonló a retrovírusok genomjához. Vannak benne LTR-ek is, viszont hiányzik az integrálódás képessége. A pararetrovírusok genomja ennek következtében nem ékelődik be a gazdaszervezet kromoszómájába.

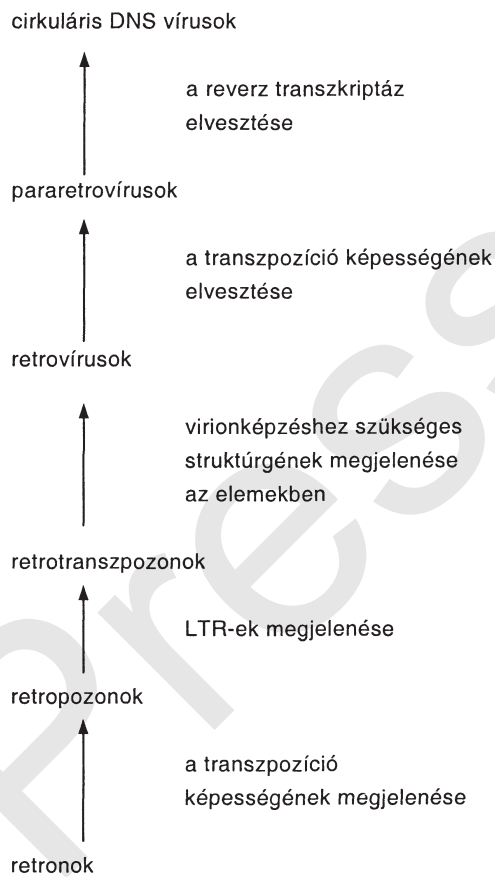
A retronok és a pararetrovírusok tehát nem is mozgékony elemek, hiszen vagy képtelenek átlépni más helyre, vagy képtelenek integrálódni. Megemlítésüket ezen a helyen az indokolja, hogy nagy valószínűséggel részei lehettek egy hosszú evolúciós folyamatnak, amely egyes kromoszomális szekvenciák fokozott önállósulásán keresztül vezetett a mai mozgékony retroelemekhez és a vírusokhoz (14.25. ábra). Az elképzelés egyelőre hipotetikus, de egyre népszerűbb, mivel logikus rendszerbe tudja foglalni a sokféle elemet és vírust.

Mindazokat a retroelemeket, melyek szerkezetükben és működésükben hasonlítanak a retrovírusokra, reverz transzkriptázt kódolnak és többé-kevésbé önálló transzpozícióra képesek, a ***virális szupercsalád***ba soroljuk. Ide tartoznak pl. a *Drosophila copia*-, az élesztő *Ty*-elemei és az ember L1 szekvenciái.

A ***retroszekvenciák*** olyan DNS-szakaszok, amelyek RNS-ek reverz transzkripciójával keletkeztek, majd beépültek a kromoszómába. Mivel az RNS-ek a genomban normálisan jelenlévő génekről képződtek, a retroszekvenciák lényegében ezen gének intronmentes másolatai. Általában működésképtelenek, ugyanis a gének átírása során a szabályozó régiók nem kerülnek transzkripcióra, az RNS-ről szintetizálódó cDNS-ben sem lesznek jelen, így a kromoszómákba beépülő másolat az RNS szintézis iniciációja számára nem lesz hozzáférhető.

Promoter hiánya miatt a másolat nem kerülhet transzkripcióra, azaz állandó csendre ítélve a genom néma részeként marad fenn. Mivel működésképtelen, pszeudogénnek, pontosabban ***retropszeudogén***nek tekinthető.

DUPress



14.25. ábra. *A retroelemek evolúciójának hipotetikus sémája*

Valamennyi RNS-típusról (mRNS, tRNS, snRNS és 7SL RNS) képződhetnek retropszeudogének. Érdekes módon sokkal gyakoribbak az emlősökben, mint az alacsonyabbrendűekben. Mindazon retroelemeket, melyek megállapíthatóan RNS-ről íródtak át, de maguk nem kódolnak a transzpozícióért felelős enzimeket, a ***nem-virális szupercsaládba*** soroljuk. Ezek csak passzív résztvevői a transzpozíciónak, amit egy másik elem által kódolt reverz transzkriptáz kivitelez.

Számos gén esetében a funkcióképes példányon kívül nagyszámú pszeudováltozat is előfordulhat. A retrotranszpozonok (retropozonok) közül az emberi genomban előforduló két legfontosabbat az alábbiakban tárgyaljuk.

DUPress

MOZGÉKONY ELEMEK A HUMÁN GENOMBAN; *Alu* ÉS *L1* SZEKVENCIÁK

Ez a két szekvenciafeleség a főemlősök, elsősorban az ember genomjára jellemző. Az *Alu*[7] szekvenciák kb. 300 000 példányban vannak jelen (kb. 5 kbp-ként!), a humán DNS kb. 5%-át teszik ki. Tartalmazzák az RNS polimeráz III iniciációjához szükséges belső szabályozó szekvenciát (l. 16. fejezet), ez utóbbi az *Alu* szekvenciát átírhatja RNS-be, amiből a reverz transzkriptáz komplementer DNS szekvenciát szintetizálhat, ami aztán új helyre ékelődhet a genomba. Így az *Alu* szekvenciák további szóródásához sejtjeinkben jelenleg is megvannak a feltételek.

Az *Alu* szekvencia kópiaszámának emelkedése az emlős fajok vizsgálatának tanúsága szerint evolúciós időben mérve a „közelmúltban" ment végbe (14.26. ábra). Nagyon okszerű a következtetés, hogy az emberi sajátságok kialakulását eredményező genetikai változásokban az *Alu* szekvenciáknak jelentős szerepe lehetett. A retropozíció mára már ritkább, becslések szerint kb. 500-1000 *Alu* között egy akad, ami a jelenben is aktív, melytől további retropozíció származhat. Sok közöttük az utólag elvariált szekvencia.[8]

Az *L1* (másik neve: *Kpn*-) szekvencia hordozza a reverz transzkriptáz és egy fajlagos endonukleáz génjét, amelyek az *L1* új helyre történő beépüléséhez szükségesek. 20 – 50 000 példányban van jelen, az emberi DNS 7%-át teszi ki. Az *L1* szekvenciát a DNS-ről az RNS polimeráz II írja át. Az *Alu* -val ellentétben az *L1* RNS-e gyakran kimutatható sejtjeinkben, ez a szekvencia a retropozíció szempontjából a jelenben is aktív!

A retrotranszpozonok – előnyös, vagy káros – hatásaikat többféle mechanizmus szerint is kifejthetik: i) beépülésükkel szétválaszthatnak, félbeszakíthatnak DNS szekvenciákat és ezzel működésüket károsíthatják, felfüggeszthetik, ii) a genom távoli pontjai között egymás számára felismerési pontokat képeznek. Ezen pontok rekombinációja rövidebb-hosszabb DNS szakaszoknak mind betoldását, mind delécióját okozhatják, annak minden, előre nehezen kiszámítható következményével együtt. Pontatlan kromoszómapárosodást okozhatnak a meiózis I profázisában. Mivel a párosodó homológ kromoszómapár mentén sok-sok példányban fordulnak elő, megesik, hogy két olyan kromoszóma szakasz között alakul ki a szinaptonemális komplex, amelyek nem azonos helyzetűek. Ilyenkor az illeszkedés a kromoszómák mentén nem lesz teljes, helyenként

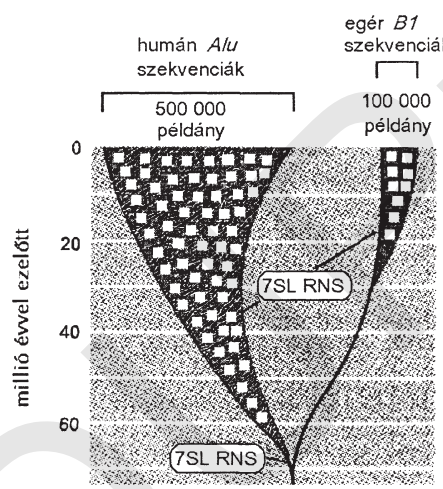
---

[7] A szekvencia neve onnan ered, hogy a 280 nukleotid pár hosszú *Alu* szekvencián belül az *Alu*1 restrikciós endonukleáz rendelkezik egy hasítási hellyel. Egérben felfedezett rokonaik a B1 szekvenciák, amelyek 50 ezer példányban vannak jelen.

[8] Az *Alu* szekvenciáknak ez az „elcsendesedése" nem tekintendő szükségszerűnek. A kínai aranyhörcsögben jelen van egy *Alu*hoz hasonló szekvencia, melynek gyakori retropozíciója figyelhető meg a jelenben is. Természetesen csak millió éves beosztású skálán lenne megítélhető, vajon az aranyhörcsög evolúciós értelemben gyorsabban fejlődik-e?

nem-párosodó hurkok jönnek létre. Ha a nem homológ helyzetű szekvenciák között rekombináció játszódik le, deléció jöhet létre az egyik kromoszómán és duplikáció a másikon. Ilyen okokra lehetett visszavezetni például a hyperkoleszterinémia egyes duplikációs formáit (l. fentebb). A retinoblasztóma kialakulásában viszont deléciók játszhatnak szerepet (l.17. fejezet).

Érdekes módon ritka kivételként olyan esetek is előfordulnak, amelyekben a retroszekvencia nem válik pszeudogénné, hanem működőképes marad (ill. újra működőképessé válik). Például az ember foszfoglicerát-kinázát (PGK) kódoló szekvencia három helyen is előfordul. Kétszer az X kromoszómán, egyszer a egyik autoszómán. Az X-kromoszómán levő két gén közül az egyik hosszabb, mint a másik. A hosszabb tartalmaz intronokat is. A rövidebb génben nincsenek intronok, és nem is működik, tehát az egy retropszeudogén. Az autoszómán található példányban sincsenek intronok, ez is reverz transzkripcióval jöhetett létre. Ennek ellenére, bizonyos szövetekben átíródik, feltehetően utólag, véletlenül kombinálódott promoter szekvenciával.



14.26. ábra. *A humán genomban található Alu szekvenciák fejlődésének valószínű időbeli lefolyása.* Az egérben is található egy *Alu*-hoz hasonló transzpozon (*B1*). Valószínűleg mindkét szekvencia a sejt számára nélkülözhetetlen 7SL RNS (az endoplazmatikus retikulumban folyó fehérjeszintézisben a szignál-peptid felismeréséhez szükséges SRP részecske alkatrésze) génjének származéka.

A rekombináns DNS technikák fejlődésével számos olyan eset is ismertté vált, amelyben az *Alu* szekvenciák jelenléte káros (esetenként súlyos) genetikai elváltozásokat eredményezett. *Alu* szekvenciák szerepét mutattak ki neurofibromatózisnál (l. 2. fejezet) és hemofilia B-nél. A hemofilia esetében az *Alu* beépülése megzavarta az RNS átszabás (*splicing*) folyamatát, kivágásra került egy nagy exon és csonka IX. faktor keletkezett. A neurofibromatózisos esetnél az az érdekes lelet adódott, hogy a páciens *NF1* génjében kimutatható volt az *Alu* szekvencia, a szüleinél viszont nem. Okszerű magyarázat, hogy pont valamelyik szülő ivarsejt képződése során következett be friss mutáció.

Az *Alu* szekvenciák jelenlétének drámai következményeit tapasztaljuk az *LDLR* (*Low Density Lipoprotein Receptor,* l. BiolJegyz 7. fejezet) génjében, amely 21 kópia *Alu*-t tartalmaz. Jellegzetes a génnek egy 5,5 kb-ra terjedő deléciója, amely a génben lévő két ellentétes orientációjú *Alu* közötti rekombináció következménye. Gyakoribbak ennél az azonos orientációjú *Alu*-k közötti rekombinációk, amelyek minden valószínűség szerint a meiotikus osztódások során keletkeznek.

Az ***L1-elem*** jelenléte is eredményezhet defektust. Egy összehasonlító vizsgálat során 200 hemofilia A-ban szenvedő beteg közül kettőnél *L1*-elemet találtak a VIII. faktort kódoló gén egyik exonjában.

Hogyan fejlődhettek ki a ma ismert eukarióta gének és fehérjék?

A bakteriális genetika eredményei alapján az eukarióta génekben a kódoló szekvenciák megszakított jellege nem várt észlelet volt, és sok biológus gondolta úgy, hogy az intronok az evolúció késői, bizarr megnyilvánulásai. Ma már kétségtelennek látszik, hogy az ellenkezője az igaz, az intronok közbejöttével megvalósuló információ-tárolás az ősibb forma, amely az eukariótákban maradt fenn, és az intronoknak a prokariótákból való elvesztése volt a másodlagos.

A jelenkori fehérjék őseinek is „hasított" génjei voltak. A triózfoszfát-izomeráz – amely evolúciós értelemben az egyik legősibb enzimfehérje – egymástól távol eső fajokból izolált génjeit mutatja a 14.27. ábra. A különböző enzimfehérjék aminosavsorrendjének meghatározásából megállapítható volt, hogy azok génjei közös ős génekből származnak. A közös ősi enzimtől való elágazás több mint 1 milliárd évvel ezelőtt következhetett be (a baktériumból és emberből izolált triózfoszfát-izomeráz aminosavsorrendje már csak 46%-ban azonos). Eukarióták viszonylatában az intronok majdnem azonos lokalizációja azonban utal ezeknek a géneknek a rokonságára, továbbá, hogy már azok közös ősében is ott voltak az intronok. (Maguk az intronszekvenciák sokkal jobban különböznek egymástól, mint helyzetük a gének belül. Erre az az okszerű magyarázat, hogy ezek, polipeptid kódot nem hordozván, nem konzerváltak.) Az eubaktériumok kis, gazdaságos genomszervezése az evolúciósan fiatalabb. Az élővilág fejlődése szolgált később tanúsággal arra, hogy a megszakításokat hordozó genomszervezés rejt magában több lehetőséget a változékonyságra, az összetettebb szervezetek kialakulására.

14.27. ábra. *Az intronokkal történő genetikai információ-tárolás ősi eredetének példája.* A triózfoszfát-izomeráz exon-elrendeződése kukoricában és gerincesekben igen hasonló. A tele nyílhegyek jelzik az azonos, az üresek pedig az egymástól különböző intron-pozíciókat (maguknak az intronoknak a hossza természetszerüleg eltér egymástól a vizsgált élőlényeknél).

Mozgékony elemek gyakran eredményezik új génkombinációk kialakulását. A mozgékony elemek a magasabbrendűek genomjának 10%-át is kiteszik. Bár ezek aktiválódása ritka esemény, leírták pl., hogy a *Drosophila* spontán mutációinak legalább felét mozgékony elemek okozzák. Úgy látszik, hogy a magasabbrendűek genomjának elrendeződése – rövid exon szekvenciákat hosszú intronok szakítanak meg – kedvező lehetőséget teremt a mozgékony elemek által létrehozott genom-átrendeződésekre, melyek egyik alapvető formája az ún. ***exon keveredés*** (*exon shuffling*, 14.28. ábra).

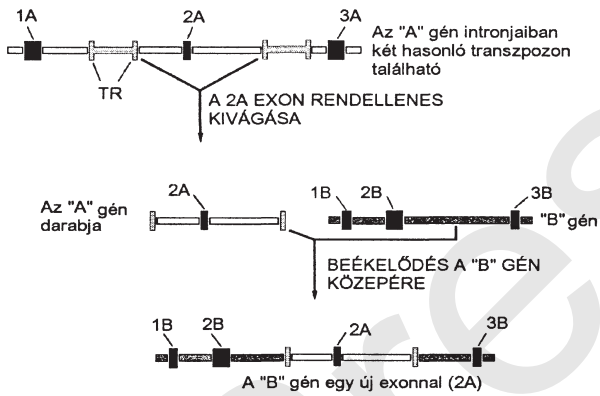
A MODULÁRIS FEHÉRJÉK

A ***moduláris fehérjék*** másod-, ill. harmadlagos szerkezetében egymástól jól elkülönülő, szerkezetileg állandó doméneket találunk, amelyek a fehérjéknek funkcionális szempontból is megkülönböztethető részegységeit képezik. Az ilyen – az összehasonlító vizsgálatok tanulsága szerint igen ősi – egységek kódját a génekben egy-egy exon hordozza. Az ilyen fehérje részegységeket hívjuk ***modul***oknak (14.29. ábra). A hatalmas, sok ezer fehérje aminosav szekvenciáját tartalmazó, számítógépes adatbázisok lehetővé tették a modulok aminosav-sorrendjének részletes, összehasonlító vizsgálatát. Ebből kiderült, hogy a jelenkori – a működés szempontjából különböző – fehérjék modulok kombinációjából állnak, szerkezetük tehát mozaik jellegű. A moduláris fehérjék kifejlődését evulúciósan úgy képzelhetjük el, hogy egy viszonylag kisebb számú – és méretű – polipeptid modul exonjának kombinálódása vezetett a jelenlegi fehérjék génjeinek a kialakulásához.

Tanulságos felsorolni, hogy mely fehérjék tartoznak ebbe a csoportba: 1) extracelluláris struktúrfehérjék, 2) sejt-sejt kölcsönhatásokban résztvevő fehérjék, 3) sejtfelszíni receptor fehérjék, 4) véralvadási faktorok, valamint a vérrögök feloldódásában szereplő enzim fehérjék, 5) immunglobulinok. A csoport tagjait úgy jellemezhetjük, hogy azok funkciója kölcsönhatások létrehozása más fehérjékkel, vagy egyéb struktúrákkal. A fel-

DUPress

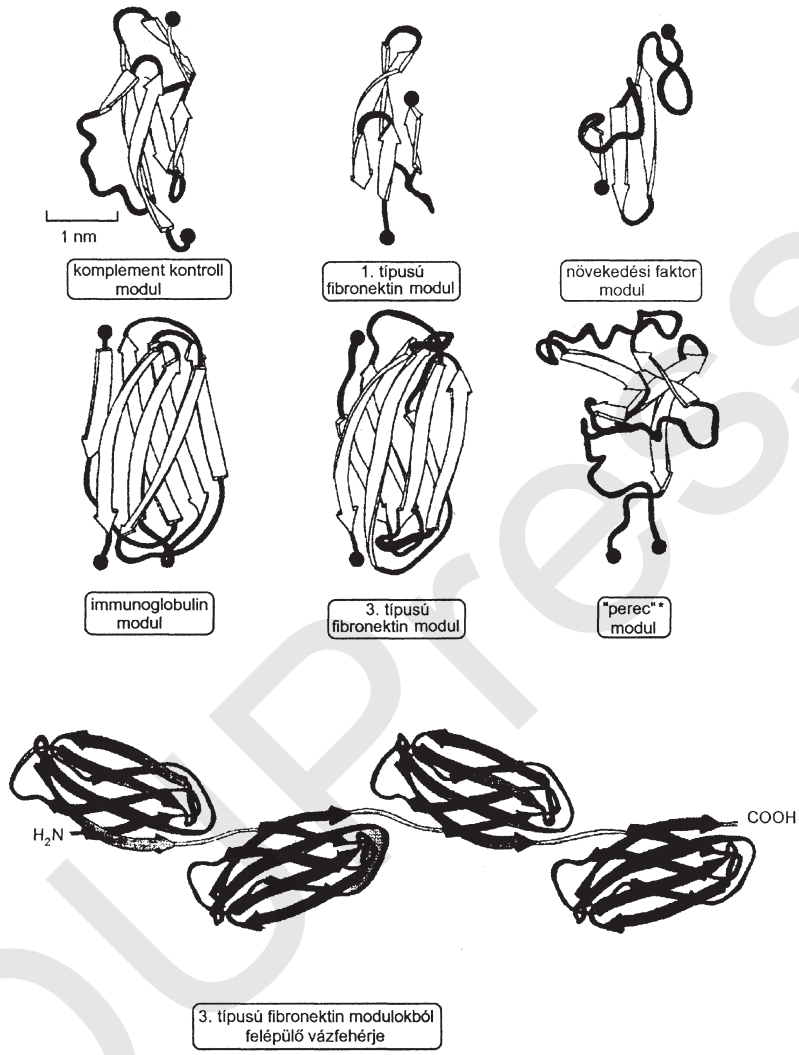
sorolásból láthatjuk, csupa olyan fehérjék tartoznak ide, amelyekhez csak soksejtű szervezeteken belül rendelhető értelmes funkció (pl. sejt-sejt adhéziós molekulák, BiolJegyz 11. fejezet). Önként adódik a következtetés, hogy a modulári fehérjék megjelenése (ill. azok génjeinek kialakulása) alapvető jelentőségű volt a soksejtű szervezetek kifejlődéséhez.



14.28. ábra. *Mozgékony elemek jelenléte eredményezhet exon-keveredést.* Az „A" génbe ékelődött két azonos típusú transzpozon (szürke sávok) jelenlétében megtörténhet, hogy a transzpozíció nem ugyanazon transzpozon két vége, hanem a két transzpozon végálló ismétlődő szekvenciái (TR, terminal repeat) között menjen végbe. Ennek eredményeként a két ismétlődő szekvencia által közbezárt 2A exon új helyre kerülhet a kromoszómán; a „B" génbe ékelődik. (1-3A: az „A" gén exonjai, 1-3B: a „B" gén exonjai.)

A folyamat hatékonyságának fontos tényezője, hogy az evolúció során keveredő exonok termékei – harmadlagos szerkezettel bíró polipeptid láncok – külön-külön is rendelkezhetnek valamely biokémiai rész-funkcióval (pl. ATP-t köthetnek meg, fajlagos módon kapcsolódhatnak másik fehérjéhez, nukleinsavhoz, vagy egyéb sejtalkotóhoz).

DUPress

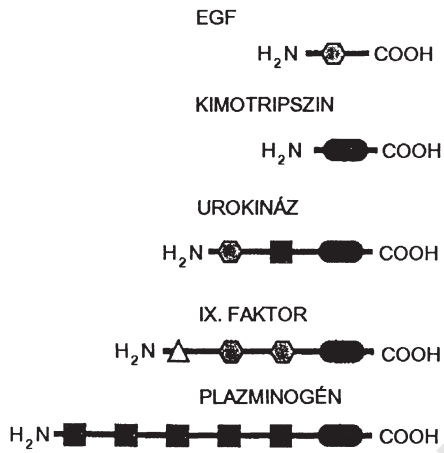


14.29. ábra. *Néhány ismert fehérje modul térszerkezetének vázlata.* A β-lemezeket nyilak szimbolizálják, a polipeptid láncok N- és C- terminális végét pedig sötét gömbök. Figyeljük meg, ezek térbeli elhelyezkedése olyan, amely megkönnyíti a moduloknak egy hosszabb polipeptid láncba való beilleszkedését. Erre látunk példát az ábra alsó felében, ahol a 3. típusú fibronektin modulokból felépülő, az extracelluláris matrixban található fehérje molekula részlete látható.

*A „perec" (*kringle*) modul, mely különböző fehérjékben igen elterjedt (l. a 16.30. ábra szövegét).

DUPress

Azt is igen fontos figyelembe venni, hogy a magasabbrendűekben oly fontos, összetett génszabályozási mechanizmusok gén-távoli szabályozó (serkentő-, lassító-) DNS szekvenciák közbejöttével valósulnak meg. Ezek ugyanúgy, sőt gyakrabban tárgyai lehetnek a szekvencia-keveredéseknek, mint a modulokat kódoló exonok.



14.30. ábra. *Részegységek keveredése különböző fehérjékbe.* Minden vonal egy fehérjét ábrázol. Az azonos geometriai szimbólumok, ha nem is azonos, de egymással szerkezetileg jól felismerhetően rokon fehérje modulokat szimbolizálnak. A fekvő ovális szimbólum proteázok aktív centruma. Az összetett szabályozás alatt álló fehérjékben az aktív centrum mellett megtaláljuk a ⊙-el jelölt modult, ami az epidermális növekedési faktorra jellemző. △: a kalciumkötő fehérjékre jellemző modul. ■: „perec" modul az urokinázban és a plazminogénben (ez a modul igen elterjedt, jelen van pl. a protrombinban és a fibronektinben is).

Az exon keveredés szempontjából egy alapvető jelenség, hogy a vírusok gazdasejt DNS-be beépülni képes fajai a gazda-genomból való kivágódás közben gyakran magukkal viszik annak egy-egy darabját. Így az ilyen DNS szekvenciák átkerülhetnek más egyedbe, időnként más fajba is. Ezzel a mechanizmussal létrejöhet az exonok fajok közötti ***horizontális átvitele***. Ezért nem tekinthetjük – evolúciós szempontból – a vírusokkal való fertőződést egyszer és mindenkorra károsnak.

Összefoglalás

(*1*) A rekombináció során a DNS bázissorendjében bekövetkező – gyakran kedvezőtlen – változások kirostálására, a kedvező változások felhalmozására ad lehetőséget, hogy az egyes DNS molekulák között szakaszok cserélődnek ki, adódnak át, ill. vágódnak ki.

(*2*) A legáltalánosabban elterjedt, és minden DNS féleség esetében megvalósítható az ún. általános, vagy homológ rekombináció. Végbemenetelének előfeltétele 800 bp vagy annál hosszabb homológia a résztvevő molekulákon. Kulcslépése egy egyszálas DNS

szakasz áthelyeződése a vele homológ kétszálas DNS-re az egyik eredeti szál kiszorításával. Ezt a lépést prokariótákban a RecA fehérje, eukariótákban pedig azzal rokon fehérjék katalizálják. A homológ rekombináció közti terméke a Holliday komplex, melyben két duplaszálas DNS molekulát két, közöttük átkereszteződő szál kapcsol össze. A Holliday komplex két, egymásra merőleges tengely mentén hasadhat. Egyik esetben az árkeresztezett rövid szakasztól eltekintve az eredeti állapot áll helyre. A másik esetben bekövetkezik a szakaszok cseréje, a crossing over. A rekombináció végén mindkét DNS molekulában marad egy olyan rövid szakasz, melynek egyik szála az egyik, másik szála pedig a másik molekulából származik. Ezek tartalmazhatnak rosszul illeszkedő bázispárokat (heteroduplex), javításuk eredménye a génkonverzió.

(*3*) A rekombináció enzimei sok esetben azonosak a DNS javítási folyamatait végző enzimekkel (13. fejezet).

(*4*) A specifikus rekombinációk közös jellemzője, hogy a bennük szereplő DNS szakaszok cseréjéhez meghatározott bázissorendű rövid szakaszokra és az ezeket felismerő specifikus rekombinázokra van szükség. Különböznek aszerint, hogy a rekombináz az elvágott DNS szálnak melyik végéhez kötődik, lépcsős, vagy tompa véggel vág, ill. helyez át, valamint, hogy közben történik-e bázissorrend változás. Az átkapcsolás történhet a szekvencia egy meghatározott pontján, vagy egy szakaszon belül többé-kevésbé véletlen. Specifikus rekombinációs mechanizmus szerint történik a temperált bakteriofágok (pl. λ fág) genomjának beépülése/kivágódása a gazdasejt kromoszómájába/(-ból), a transzpozonok beékelődése és kivágódása, a szalmonellák csilló-antigénjeinek fázisváltása (*Hin/hix* rendszer).

(*5*) Orvosi szempontból is alapvető fontosságú az immunglobulin gének kialakulása specifikus rekombinációval a nyiroksejtek érése során.

(*6*) A mobilis genetikai elemek az élőlények genomjának alkotórészei. Ezek olyan szekvenciák, melyek a genomon belül képesek a helyüket változtatni, egyikről áthelyeződhetnek egy másik lokuszra. Az áthelyeződés v. transzpozíció mechanizmusa alapján többféle típust különböztetünk meg. A replikatív transzpozíció során az elemről DNS-másolat készül, és ez épül be a célhelyre. A nem-replikatív transzpozíció esetén a mozgékony elem átlép a donor helyről a célhelyre. A retrotranszpozíció úgy megy végbe, hogy az elemről először RNS-másolat, majd erről reverz transzkrició révén DNS-másolat készül, s ez épül be a célhelyre.

(*7*) A mozgékony genetikai elemeket három csoportra oszthatjuk: inszerciós szekvenciák, transzpozonok és retroelemek. Az inszerciós szekvenciák a legrövidebbek, csak annyi információt hordoznak, amennyi a transzpozíciójukhoz nélkülözhetetlen. A transzpozonok hosszabbak, mint az inszerciós szekvenciák, s antibiotikum-rezisztencia géneket hordozhatnak. Gyakran találunk ilyen transzpozonokat konjugatív bakteriális

plazmidokon (R-faktorokon), melyek révén az antibiotikum-rezisztencia átadódhat egyik baktériumsejtből a másikba.

A mozgékony genetikai elemek két végén általában fordított ismétlődéseket találunk, továbbá megtalálható bennük a transzpozícióért felelős enzim, a transzpozáz génje.

(*8*) A konzervatív és replikatív mechanizmusú transzpozíció közös intermedieren keresztül valósul meg. A transzpozíció mindkét válfaja tulajdonképpen összetett rekombinációs esemény. A replikatív transzpozíció megvalósításában szerepel egy másik, a transzpozon által kódolt enzim, a reszolváz is. Az áthelyeződés mindig a célszekvencia megduplázódásával jár együtt.

(*9*) A mobilis genetikai elemek jelentős csoportját alkotják azok a DNS szakaszok, amelyek transzpozíciója RNS-szintézis közbeiktatásával történik. Általában tartalmaznak reverz transzkriptázt kódoló gént és két végükön viszonylag hosszú ismétlődéseket (LTR-eket). A legbonyolultabb retroelemek a retrovírusok, melyek genetikai anyaga RNS. A retropozonok és retrotranszpozonok olyan mozgékony elemek, melyek nem képeznek virionokat, így nem képesek elhagyni a sejtet. A retroszekvenciák RNS-ek reverz transzkripciójával keletkeztek, a genomban mint működésképtelen pszeudogének fordulnak elő.

(*10*) A retroelemeket két nagy csoportra oszhatjuk. Mindazokat, melyek szerkezetükben és működésükben hasonlítanak a retrovírusokra, reverz transzkriptázt kódolnak és többé-kevésbé önálló transzpozícióra képesek, a *virális szupercsalád*ba soroljuk. Ide tartoznak pl. a *Drosophila copia*-, az élesztő *Ty*-elemei és az ember L1 szekvenciái. Ugyanakkor azok, melyek megállapíthatóan RNS-ről íródtak át, de maguk nem kódolnak a transzpozícióért felelős enzimeket, a *nem-virális szupercsalád*ba sorolhatók. Ide tartoznak pl. az *Alu*, a B1 és a retropszeudogének. Ezek csak passzív résztvevői a transzpozíciónak, amit egy másik elem által kódolt reverz transzkriptáz kivitelez.

(*11*) A magasabbrendűek adaptációs készsége mind az egyedi sajátságok kialakulása, mind a törzsfejlődés vonatkozásában sokkal jobb, gyorsabb, mint pl. a prokariótáké. Ez éppen a genetikai információ kisebb egységekből – az exonokból – való mozaikszerű felépelépítettségében leli magyarázatát. Egy-egy exon által kódolt polipeptid lánc-szakasz szerkezetileg és funkcionálisan megkülönböztethető részegységeket – modulokat, doméneket – képez a fehérjemolekulákban is. Ez lehetővé teszi, hogy evolúciósan az exonoknak új kombinációi, új fehérjeféleségek alakuljanak ki a már korábban működőképes fehérjemodulok kombinációja révén.

(*11*) A genetikai információ tárolásának az intronok közbejöttével megvalósuló formája volt evolúciósan az elsődleges. A jelenkori fehérjék áttekinthetetlennek tűnő sokféleségének kialakulását úgy képzelhetjük el, hogy azok egy viszonylag kisebb számú „ősgén" – melyek a jelenleginél rövidebb polipeptid láncokat határoztak meg – kom-

binációjából keletkeztek különböző nem-reciprok rekombinációs, ill. transzpozíciós események során.

(*12*) A főemlősök evolúciója folyamán nagymértékben felszaporodtak genomukban hasznos géntermeket nem kódoló szekvenciák (*Alu, L1*). A terjedés mechanizmusának ismeretében feltételezhető, hogy a folyamat a jelenben is tart, előnyös, vagy hátrányos jellege nehezen ítélhető meg.

Kérdések

(*1*) Mi a homológ rekombináció feltétele?

(*2*) Mi a homológ rekombináció kulcslépése, Milyen enzimek katalizálják?

(*3*) Mi a Holliday komplex és mi ennek a későbbi sorsa?

(*4*) Mi a génkonverzió és hogyan jön létre?

(*5*) Mi szükséges a specifikus rekombinációhoz?

(*6*) Mi a genetikai magyarázata annak, hogy gyakorlatilag bármilyen antigénre specifikus immunglobulin termelésével tudunk válaszolni?

(*7*) Felvetették, hogy a *hobo* nevű mobilis elem kromoszómán belüli rekombinációt okoz, azaz egyazon kromoszómán levő két elem között történik rekombináció. Mi lesz ennek az eredménye, a) ha a *hobo* elemek azonos irányúak, és b) ha ellentétes irányúak?

(*8*) Melyik DNS szekvencia-pár lehet egy bakteriális IS szekvencia végálló ismétlődése? Miért?

a) 5'GAATCCGCA3' és 5'ACGCCTAAG3'
b) 5'GAATCCGCA3' és 5'CTTAGGCGT3'
c) 5'GAATCCGCA3' és 5'GAATTCGCA3'
d) 5'GAATCCGCA3' és 5'TGCGGATTC3'

(*9*) Kanamycin-rezisztens *E. coli* sejteket lambda fággal fertőztek. A sejtlizátumból tisztított fágrészecskékkel ezután egy kanamycin-érzékeny C107 jelű *E. coli* törzset fertőztek, amelyből lizogén baktériumokat izoláltak. Ezeket kanamycint tartalmazó táptalajra szélesztették, melyen számos kanamycin-rezisztens telep jelent meg. Mi a magyarázata a kanamycin-rezisztencia megjelenésének a C107 törzsben?

(*10*) Melyik DNS szekvencia-pár lehet a célhely szekvencia duplikációja egy bakteriális IS szekvencia beépülésénél? Miért?

a) 5'AATTCGCGT3' és 5'AATTCGCGT3'
b) 5'AATTCGCGT3' és 5'TGCGCTTAA3'
c) 5'AATTCGCGT3' és 5'TTAAGCGCA 3'
d) 5'AATTCGCGT3' és 5'ACGCGAATT 3'

Pulpress

(*11*) Milyen bizonyítékokat nyerhetünk két eukarióta gén rokonságára vonatkozóan, amelyből következtethetünk azok közös evolúciós eredetére?

(*12*) Mik azok a fehérje modulok?

(*13*) Mi az az exon-keveredés? Mit értünk az alatt, hogy a folyamat végbemehet vertikálisan és horizontálisan is?

(*14*) Milyen biokémiai sajátságok alapján tételezzük fel, hogy az Alu szekvenciák száma a jelenben is növekedhet DNS-ünkben? Mennyiben járhat ez evolúciós előnnyel, vagy hátránnyal?

Válaszok

(*1*) A homológ rekombinációhoz a DNS molekulákon legalább 800 bp hosszúságú homológ (1-2 kivételtől eltekintve egyező bázissorendű) szakaszokra van szükség a közreműködő enzimek és ATP mellett.

(*2*) A homológ rekombináció kulcslépése a száláthelyezés, azaz egy egyszálas DNS szakasz hozzá hibridizálása a homológ kétszálú DNS vele komplementer szálához az eredeti szál kiszorítása közben (D-hurok). Ezt a lépést prokariótákban a RecA fehérje, eukariótákban más, hasonló fehérjék végzik, más kisegítő fehérjékkel együtt.

(*3*) A Holliday komplex a homológ rekombináció köztiterméke. A résztvevő két DNS molekula 1-1 szála áthelyeződik a másikra, a szabad végeket ligáz kapcsolja össze (az átkeresztezés helye a két molekulán ATP felhasználásával előre-hátra vándorolhat). Az átkeresztezés helyén specifikus endonukleázok a 4 szálból 2 szemben fekvőt átvágnak, a komplex két külön DNS molekulára válik szét. Az átvágás irányától függően helyreállhat az eredeti állapot, vagy szakaszok cserélődnek át a két molekula között.

(*4*) A génkonverzió a homológ rekombináció során az egyik allél átváltozása a másikra. Oka, hogy a szálak áthelyezése területén heteroduplex jöhet létre. A DNS molekulák javítása (*repair*) során a heteroduplex egyik szála hozzájavítódik a másikhoz, az egyik allél el fog tűnni, így az allél arányok megváltoznak.

(*5*) A specifikus rekombinációhoz rövid, meghatározott bázissorendű DNS szakaszok – ún. célszekvenciák – és ezekre a szakaszokra specifikus rekombináz enzimek (és gyakran egyéb meghatározott segédfehérjék) szükségesek. A rekombináz enzimeknek a különböző rekombinációs rendszerekben különböző nevük van, pl. Int, transzpozáz, reszolváz, Hin, Rag1/Rag2 stb.

(*6*) Az immunglobulinok génjei moduláris felépítésűek. A B-limfociták érése során nagy számú V- és J-, nehéz láncok esetén még ezekhez adódó D-szekvenciából és egy,

vagy néhány konstans (C-) modulból válogatva szerelődnek össze specifikus, nem-konzervatív rekombinációval. Az így kialakuló variációk száma igen nagy ($\sim 10^{18}$) lehet, gyakorlatilag kimeríthetetlen.

(*7*) a) deléció b) inverzió.

(*8*) A d) páros, mert ezek alkotnak fordított ismétlődést.

(*9*) Egy kanamycin-rezisztencia gént hordozó transzpozon a baktérium-kromoszómából átkerült a fág-kromoszómába, majd ez a második fágfertőzés során átvitte a rezisztenciát a lizogénné vált C107 sejtekbe.

(*10*) Az a) páros, mert ezek alkotnak azonos irányú ismétlődést.

(*11*) Két fehérje rokonságát bizonyíthatja:

- génjeik nukleotid-szekvencia rokonsága,
- aminosav-sorrendjük rokonsága,
- átírási egységeikben az intronok pozíciójának azonossága/nagymértékű egybeesése,
- térbeli szerkezetük, alakjuk hasonlósága.

(*12*) Fehérje molekulákban található, a polipeptid láncon belül térszerkezetük alapján jól elkülöníthető szerkezeti elemek, amelyeket a fehérje átírási egységében egy exon kódol (egybeesik a modul határa a polipeptid láncban és az exon határa a DNS-ben).

(*13*) A csírasejtek képződése folyamán bekövetkező nem-reciprok átkereszteződések bármikor eljuttathatnak egy-egy exont egy új környezetbe, ahol az egy másik átírási egység részévé válhat. Mozgékony elemek jelenléte a genomban ezt elősegítheti. Így az új exon-kombinációk egyik nemzedékről a másikra alakulnak ki. Másrészt ismeretes olyan eset, amikor a gazdasejt DNS-be ékelődő vírus visz magával egy exont, mely akár egy másik fajból is származhat.

(*14*) Ismeretes, hogy az *L1* szekvencia hordozza a reverz transzkriptáz génjét, az enzim jelen lehet sejtjeinkben. Másrészt az *Alu* szekvenciák tartalmazzák az RNS polimeráz III belső kontroll régióját, így az *Alu* szekvenciák RNS kópiáit is hordozhatjuk. Az Alu RNS-ből a reverz transzkriptáz szintetizálhat DNS kópiát, ami aztán a kromoszomális DNS-be ékelődhet. Ennek evolúciós jelentősége nem ítélhető meg egyértelműen. Az *Alu* elterjedése a *Homo sapiens* kifejlődése közben általában nyilván nem lehetett negatív hatású. Másrészt viszont *Alu* szekvencia beékelődését kimutatták mind hemofília B, mind neurofibromatózis keletkezésénél, mint oki tényezőt.

DUPress

DUPress

15. FEJEZET

BAKTERIÁLIS GENETIKA

A transzformáció

Konjugáció: Egyirányú génátvitel baktériumok között és a plazmidok
A baktérium-kromoszóma

A bakteriofágok életciklusa és a transzdukció

A génexpresszió szabályozása prokariótákban
Konstitutív enzimszimtézis
Indukálható és represszálható enzimszintézis
Az operonális szabályozás és elemei
Az *Escherichia coli lac* operonja
Az *Escherichia coli trp* operonja
Az operonális szabályozás módosulásai

A baktériumoknak, és a baktériumok vírusainak: a bakteriofágoknak (vagy röviden fágoknak) a genetikai tanulmányozása az 1940-es években kezdődött. Ezen belül is a kutatások főleg egyetlen mikroorganizmus, az *Escherichia coli* és fágjainak a tanulmányozására koncentrálódtak, s végül is ezek a kutatások alapozták meg a molekuláris genetikát. Az *E. coli* ugyanis a genetikai kutatások szempontjából néhány előnyös tulajdonsággal rendelkezik. Az egyik ilyen a viszonylagos egyszerűsége, hiszen mindössze kb. 4400 génnel rendelkezik, szemben például az ember mintegy 35 ezer génjével. Egy má-

sik ilyen tulajdonság, hogy teljes életciklusa során haploid, azaz minden mutáció azonnal expresszióra is kerül, szemben a diploid sejtekkel, ahol a recesszív mutációk akár több generáción keresztül is rejtve maradhatnak. További rendkívüli előnye a gyors szaporodása. Ideális tenyésztési körülmények esetén 20 percenként osztódik. Ez azt jelenti, hogy egyetlen sejt egy éjszaka alatt több millió sejtet tartalmazó látható telepet hoz létre szilárd táptalaj felszínén. A genetikai kísérletek *E. coli*val így egyetlen napot igényelnek, szemben például a kukoricával, amellyel egyetlen kísérlet több hónapig tart.

A baktériumok genomja egyetlen körré zárt DNS molekula, melyet ***baktérium-kromoszómának*** is neveznek[1]. Ezen kívül gyakran találhatók a baktériumokban a kromoszómánál lényegesen kisebb cirkuláris DNS molekulák. Ezeket ***plazmid***oknak nevezzük. A baktériumokban előforduló harmadik genetikai elemként szerepelnek a ***bakteriofágok.***

A baktériumoknál hiányzik az ivaros szaporodásnak az eukarióták megszokott formája. Nincs meiózis és nincs az ivarsejtek teljes összeolvadásához hasonlító megtermékenyítés. Azaz hiányzik a rekombináció meiózissal együtt járó formája is, így baktériumoknál nincs meg az eukarióta szexuális folyamatokra jellemző, a kromoszómák szabad kombinálódásából és a véletlenszerű megtermékenyítésből adódó genetikai variabilitás sem.

A rekombináció más sajátos formákban megy végbe: a sejtek más egyedből származó idegen DNS-t vesznek fel (rendszerint jóval kisebb molekulát, mint a genom), s az kerül kölcsönhatásba genomjuk egy homológ régiójával. Ennek során a genom kisebb-nagyobb szakasza kicserélődik.

Baktériumokban a sejtek közötti génátvitelnek s a genomok közötti génkicserélődésnek három különböző módja lehetséges. Ezek a ***transzformáció***, ***konjugáció*** és ***transzdukció.*** Mindhárom esetben igaz az, hogy a génátadás egyirányú, donor-recipiens viszony van, s a recipiens sejtek teljes genetikai állománya és a donor sejt genomjának egy része között jön létre a rekombináció. Amennyiben a bejutott idegen DNS lineáris (transzformáció, konjugáció), a recipiens kromoszóma és a lineáris DNS között két crossing overnek kell végbemennie. Amennyiben a bejutott idegen DNS cirkuláris (transzformáció, transzdukció), egyetlen rekombinációs esemény is elég az idegen DNS-nek a baktérium cirkuláris kromoszómájába való integrálásához.

A prokarióta genom változásának legkésőbb felfedezett módja egy olyan mechanizmus, amely biztosítja, hogy bizonyos gének, szekvenciák a genom egyik részéből a másikba, vagy egy plazmidról a kromoszómába helyeződjenek át. Ez a ***transzpozíció*** jelensége.

---

[1] A kromoszóma itt nem morfológiai, hanem genetikai fogalom. Azt jelenti, hogy egy DNS molekulán meghatározott gének meghatározott vonalmenti sorban helyezkednek el.

A transzformáció

A transzformáció a genetikai rekombinációnak az a formája, melynek során a sejt környezetéből idegen DNS-t vesz fel és a rajta elhelyezkedő gént v. géneket beépíti saját genetikai anyagába. A sejt az így szerzett új jelleget tovább örökíti.

Tudománytörténeti mérföldkő volt, mikor a *Streptococcus pneumoniae* transzformációjáról Avery és munkatársai tisztázták, hogy az anyag, mely az öröklődő tulajdonságot átviszi – a DNS-sel azonos (l. 12. fejezet).

Transzformáció során a baktériumok aktív, energiaigényes mechanizmussal veszik fel környezetükből a DNS-t. A DNS felvétel molekuláris mechanizmusának részleteiben eltérések vannak az egyes baktériumfajok között. Legrészletesebben a Gram pozitív *S. pneumoniae* és *Bacillus subtilis* és a Gram negatív *Haemophilus influenzae* transzformációs rendszerét tanulmányozták. (*E. coli*-ban nincs ilyen rendszer). Kiderült, hogy nem minden sejt képes DNS-t felvenni, csak az ún. kompetens sejtek. A ***kompetencia-állapot*** a sejtnek azt a fiziológiai állapotát jelöli, melyben képes DNS felvételére.

A Gram-pozitívoknál a transzformációnak a következő lépéseit lehet elkülöníteni (15.1. ábra):

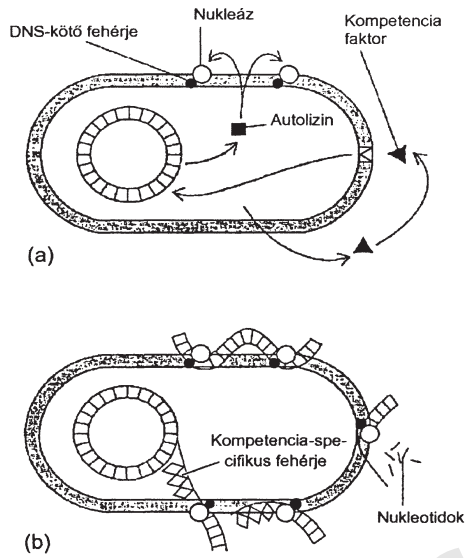
a/ Kompetencia-állapot kialakulásáért egy fehérjetermészetű kompetencia-faktor felelős, melyet a sejtek *S. pneumoniae* esetén kiválasztanak a közegbe, *B. subtilis* esetén membránhoz kötve marad az őt termelő sejten. A közegbe kiválasztott faktor kölcsönhatásba lép egy membránreceptorral és lehetővé teszi, hogy a DNS felvétele megkezdődjön.

b/ A DNS megkötődése a sejtfelszínen. A kötődést követően membránhoz kötött endonukleázok belehasítanak a duplaszálú DNS-be és nagy (10-30 kb) fragmentumokra szabdalják.

c/ A DNS felvétele a sejtbe. Ez a fázis akkor kezdődik, amikor a DNS hozzáadott külső DNáz emésztéssel szemben már rezisztenssé válik. A membránon való áthaladással egyidőben a DNS egyik szála megemésztődik.

d/ A bejutott egyszálú DNS egy specifikus fehérjéhez kötődik.

DUPress



15.1. ábra. *A transzformáció mechanizmusa.* (a) A kompetencia-állapot kialakulása. A kompetencia-faktor (▲) egy sejtfelszíni receptorhoz (M) kapcsolódik és kompetencia-specifikus fehérjék szintézisét idézi elő. Ezek egyike autolizin (■) mely egy membránban elhelyezkedő DNS-kötő fehérjét (●) és egy nukleázt (○) tesz hozzáférhetővé. (b) Transzformáció. Egy hosszú DNS molekula több helyen is kötődik a sejtfelszínhez, majd hosszabb fragmentumokra hasad. Egyik szálát lebontja a nukleáz, melynek eredményeként nukleotidok szabadulnak fel. A másik szál egy kompetencia-specifikus proteinhez (◇) kapcsolódik. Ebben a formában bekerül a sejtbe, és rekombinációba lép a baktérium-kromoszómával.

e/ A DNS integrációja a recipiens sejt kromoszómájába. A rajta levő gének expresszióra kerülése. A transzformáló egyszálú DNS beépül a baktérium-kromoszóma homológ régiójába úgy, hogy a recipiens DNS egyik szálát helyettesíti, heteroduplex képződik. Ezt a folyamatot a RecA-val ekvivalens fehérje katalizálja.

A Gram-negatív *H. influenzae* esetén az előbbitől kissé eltérő a transz–formáció mechanizmusa. A kompetencia a szaporodás számára kedvezőtlen körülmények között jön létre, nem kell hozzá kompetencia-faktor. A sejtek külső membránjának bimbózásával vezikulumok alakulnak ki, melyek a DNS felvételét mediáló fehérjéket tartalmaznak. Ezek a vezikulumok a ***transzformoszómák***. Csak a homológ (*Haemophilus*) DNS transzformál hatásosan, mert ebben gyakran előfordul egy 11 bp-nyi jelszekvencia, amit a fehérjék felismernek. Ezért a rendszer idegen DNS-t nem vesz fel. Egyszálú DNS kerül be a sejtbe a transzformoszómából, s ez vesz részt rekombinációban a kromoszómával.

A vázolt mechanizmusok a természetes körülmények között transzformálható baktériumoknál fejlődtek ki az evolúció során. Minden egyes lépés lebonyolításában specifikus fehérjemolekulák vesznek részt, melyek egy részét már ismerjük. Ezekben az esetekben a transzformáció azonos fajú (homológ) lineáris, kromoszomális eredetű DNS-sel történik.

Ha két gén egymáshoz közel helyezkedik el a kromoszómán, előfordulhat, hogy a transzformáló DNS-ben is egy fragmentumon lesznek. Ha a DNS szakaszt felveszi a sejt és az integrálódik is, kettős transzformánsok v. ***kotranszformánsok*** keletkezhetnek. Ha két gén közel fekszik egymáshoz, a kotranszformánsok gyakorisága megközelítheti az egyetlen genetikai markerrel (génnel) vizsgált transzformáció gyakoriságát. Ezért két gén kotranszformációjának gyakoriságát fel lehet használni a közöttük levő távolság becslésére.

Vannak olyan prokarióták is, melyek természetes körülmények között nem transzformálhatók, mint pl. az *E. coli* és a *Streptomyces*ek. Ahhoz, hogy ezek a prokarióták transzformálhatók legyenek, speciális kémiai és/vagy enzimatikus kezeléssel a sejthatárt permeábilissá kell tenni a DNS számára. Ilyenkor mesterségesen kialakított kompetenciáról beszélünk.

A génsebészeti technikák kifejlesztésében nagy szerepe volt az *E.coli* transzformáció kidolgozásának (részleteit l. Biológiai Gyakorlatok III.). Ca^{++} ionok és a hősokk hatására az *E. coli* sejtfelszín lipopoliszaharid rétege változásokat szenved. E változások csatornák, pórusok kialakulását eredményezik, elsősorban a külső és belső membrán találkozásának megfelelő területeken. Idegen eredetű DNS felvételével szemben a rendszer nem diszkriminál, ami a klónozásban való felhasználhatóság szempontjából előnyt jelent.

Az *E. coli* transzformációja a többi bakteriális transzformációs rendszerrel összehasonlítva tulajdonképpen speciális eset, amennyiben a bevitt plazmidok önálló replikációra képesek, ez biztosítja fennmaradásukat, ill. osztódáskor az utódsejtekbe való átkerülést, és nincs szükség a kromoszómába való integrációra. Néhányszor tíz példányban vannak jelen egy sejtben, de kloramfenikollal gátolva a kromoszomális DNS replikációját a plazmidok felszaporíthatók, példányszámuk elérheti az ezret sejtenként. A transzformánsok szelekciója azon alapszik, hogy a plazmid DNS-t felvett sejtek szelektálható markert, pl. antibiotikum-rezisztencia gént tartalmaznak, ezért képesek növekedni antibiotikum tartalmú táptalajon is, ahol a nem transzformált sejtek elpusztulnak.

Konjugáció: egyirányú génátvitel a baktériumok között és a plazmidok

Lederberg és Tatum 1946-ban fedezték fel, hogy *E. coli* sejtek között is van genetikai rekombináció. Két hiánymutánssal végezték a kísérleteket. Ezek közül az egyik genotípusa $thr^- bio^+$ a másiké $thr^+ bio^-$ volt. (A thr^- nem tud treonint szintetizálni, a

bio$^-$ nem tud biotint szintetizálni és csak akkor nőnek, szaporodnak, ha ezeket a hiányzó anyagokat készen kapják a táptalajjal. A + jel felső indexként azt jelenti, hogy a jelzett anyagot a törzs szintetizálni tudja, azaz erre nézve „vad típusú".) Ha összekeverve próbálták minimál táptalajon (azaz olyan táptalajon, mely C-forrásként cukrot, N-forrásként szervetlen N-vegyületet és ásványi sókat tartalmazott, és sem treonin, sem biotin nem volt benne) tenyészteni, rendszeresen olyan nagy gyakorisággal találtak *thr*$^+$ *bio*$^+$ genotípusú prototrófokat, ami lényegesen felülmúlta a mutációk gyakoriságát. Legegyszerűbb magyarázatként a két mutáns genetikai rekombinációját kellett feltételezni.

Elektronmikroszkóppal vizsgálva az összekevert mutánsokat az volt látható, hogy két baktérium között a baktérium flagellumaihoz („csillói"-hoz) hasonló, de azoknál valamivel vastagabb és hosszabb szálak mintegy hidat képeztek. Feltételezték, hogy a rekombináció ezeken a hidakon keresztül történik. Az összeköttetést biztosító speciális függelékeket ***szexpilus***nak nevezik (*pilus* = szőrszál, szálszerű nyúlvány). Kiderült, hogy ilyen szex-pilusa csak az egyik partnernek van, a másiknak nincs.

A továbbiakban igen sokféle *E. coli* törzs és változat viselkedését tanulmányozták keresztezési kísérletekben. Kiderült, hogy az *E. coli* törzseknek két típusa van: az egyiknek van szex-pilusa és képes genetikai információt átadni. Ezt F$^+$-nak („fertilitás pozitív") nevezték el. A másik típusnak nincs szex-pilusa és nem képes genetikai információt konjugációban átadni. Ezt F$^-$-nak nevezik. Genetikai információt tehát mindig az F$^+$ baktérium ad át F$^-$-nak. Nincs genetikai rekombináció sem F$^+$ x F$^+$, sem F$^-$ x F^c keresztezési próbálkozásokban. A partnerek szerepe ebből a szempontból nagyon emlékeztet a nemek szerepére váltivarú élőlények ivaros szaporodásában. Analógiák alapján az F$^+$ baktériumot hímnek, az F$^-$-t nőnek tekintik. A konjugációt, melynek során a szex-piluson (más elnevezés szerint: F-piluson) keresztül a „hím" baktérium DNS-t ad át a „nő" baktériumnak, szokás szexuális folyamatnak is nevezni. Látnunk kell azonban, hogy a hasonlóságok mellett alapvető különbségek is vannak az *E. coli* konjugációja és a valódi ivaros szaporodás között. A konjugáció nem szaporodás. A rekombináció is a genomnak viszonylag kisebb részét érinti egy-egy eseményben.

Tisztázódott, hogy a F$^+$ jellegért egy sajátos plazmid, az ún. ***F-plazmid*** a felelős. Szabad állapotban ez 100 kilobázispár (kbp) hosszúságú körré zárt DNS-molekula (kb. 40-szer kisebb mint az *E. coli* kromoszómája). Önálló replikon. Replikációja szigorúan szabályozott: a baktérium kromoszómájával szinkronban indul (közös jel indítja mindkettőt) és mivel kisebb a molekula, hamarabb fejeződik be. Minden utódsejtben csak egy F-plazmid kerül egy baktérium-genom mellé.

Az F-plazmid a konjugáció megvalósításához szükséges fehérjéket kódol. Egyik ezek közül az F-pilust építi fel (= F-pilin), mások a membránba beépülve megakadályozzák a konjugációt két F$^+$ partner között. Igen fontos lépés a DNS mobilizálása. Az ehhez szükséges fehérjéket is az F-plazmid kódolja. Van a plazmidon egy kitüntetett DNS-szakasz,

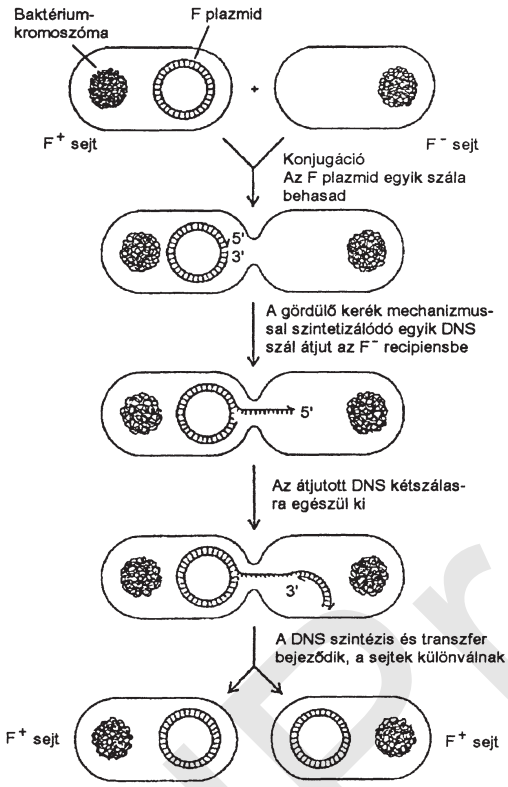
mellyel konjugációkor a molekula egyik szálának átvitele indul. (Ez nem azonos a szemikonzervatív replikáció origójával.) A DNS átvitele a gördülő kerék mechanizmussal történő replikációra emlékeztet (l. 15.2. ábra). Egy specifikus enzim egy meghatározott ponton bemetszi a plazmid DNS egyik szálát. (Működéséből következtetve endonukleáz, mely egy rövid, meghatározott DNS-szakaszt ismer fel.) A bemetszett szál 5'-végével kezdődően letekeredik és egyszálas formában áthalad az F-piluson keresztül a befogadó baktériumba. (Az F-pilus fehérjéi egymáshoz kapcsolódva csőszerű képletet hoznak létre, de a kettős hélix már nem fér bele.) A letekeredéssel szabaddá váló templáton DNS-szintézis folyik a letekeréssel párhuzamosan, amelynek megkezdéséhez itt is RNS primerre van szükség. A letekert szál csak átjutás után egészül ki duplaszálassá és záródik körré. (Mivel az 5'-vég halad elől, a komplementer lánc szintézise diszkontinuusan kell történjen.) Ha a donorban szabadon, önálló replikonként van jelen az F-plazmid, a folyamat végén mindkét partnerben lesz belőle egy-egy példány. Azaz ilyenkor a konjugáció következtében a recipiens baktérium is F-pozitívvá válik.

Az eddig leírtakból nem érthető, hogy a baktérium-kromoszómán lévő gének hogyan kerülhetnek át a donorból a recipiensbe. A vizsgálatok során felfedezték, hogy az F^+ baktériumok is kétféleképpen viselkednek. Egyik típus az F^+ jelleget adja át a konjugáció során, a másik csaknem kizárólag a kromoszómán lévő géneket és csak ritka kivételként az F^+ jelleget. A kromoszomális géneket átadó törzseket, mivel ezek esetében a két partner közötti rekombináció nagyságrendekkel gyakoribb, mint a másik típussal végzett keresztezésekben, ***Hfr*** (*high frequency of recombination* = nagy gyakoriságú rekombináció) törzseknek nevezik.

A Hfr törzsekben az F-plazmid nem önálló replikon formájában, hanem a baktérium kromoszómájába integrálva van jelen. Az integráció ún. IS-szekvenciák[2] közötti rekombinációval jön létre, mely a RecA protein közreműködésével történik (l. a 15.3. ábrán). Az F-plazmidon több ilyen, kapcsolódásra alkalmas szakasz van, az egyik az átvitel kezdőpontja közelében helyezkedik el, s egyike a legkorábban átvitt szakaszoknak. Az F-plazmidon levő gének akkor is kifejeződnek, ha a plazmid kromoszómába integrálódik. Ennek következtében a konjugáció lezajlása hasonló a már leírt folyamathoz. A különbséget az jelenti, hogy a letekeredő és recipiensbe átlépő szál az F-plazmidnak egy igen kis szakasza után az IS-szekvenciát, majd a szomszédos kromoszomális géneket viszi magával. (Az *E. coli* törzsek F-plazmid-hordozás szempontjából lehetséges három különböző állapotát a 15.4. ábra mutatja.)

---

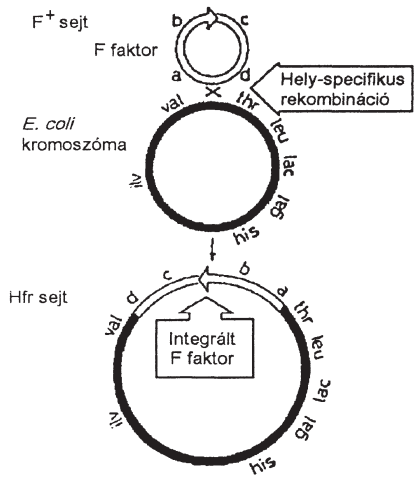
[2] Áthelyeződésre, transzpozícióra képes mobilis genetikai elemeket l. a 14. fejezetben.



15.2. ábra. *A DNS-transzfer mechanizmusa konjugációban.* Az F-plazmid egy kitüntetett szakaszán a DNS-molekula egyik szálát egy enzim (specifikus endonukleáz) bemetszi. A gördülő kerék mechanizmussal történő replikáció során a bemetszett szál a szabad 5'-véggel indulva letekeredik a „kerék" forgása közben. A letekeredő szál a donorban egyszálas marad és az F-pilus csatornáján keresztül a letekeréssel párhuzamosan átmegy a recipiens sejtbe, ahol kétszálassá egészül ki a komplementer lánc szintézisével. A 3'-véghez eleinte közvetlenül nem kapcsolódva, de a letekeredéssel párhuzamosan szintetizálódik a letekertet pótló, azzal teljesen azonos szál. Ha az egész F--plazmid átjutott a befogadó sejtbe és kétszálassá egészült ki, körré záródik.

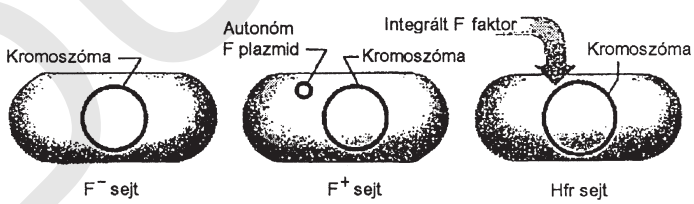
A baktérium-kromoszóma egészének átjutásához viszonylag hosszú idő (100 perc) szükséges. A konjugáció rendszerint előbb félbeszakad. Az átvitel kezdőpontjának sajátos elhelyezkedése miatt az F-plazmid DNS-ének átvitelére csak akkor kerülhet sor, ha a teljes kromoszóma már átjutott. Az elmondottakból érthető, hogy a Hfr törzsek nagyon-nagyon ritkán adják át az F^+ jelleget (rendszerint ki sem mutatható ennek bekövetkezése szokásos kísérleti feltételek között). A donor törzs természetesen Hfr marad, mivel az átvitellel egyidejűleg a visszamaradt lánc kiegészül a komplementerével (vagyis replikálódik).

DJPress



15.3. ábra. *Az F-plazmid integrációja az E. coli kromoszómába.* Az F-plazmid helyspecifikus rekombináció révén kovalensen beépül az *E. coli* kromoszómába. A plazmidon feltüntetett a, b, c és d jelek arra szolgálnak, hogy integráció utáni sorrendjük követhető legyen. A bakté- rium-kromoszómán bejelölt operonok aminosavak bioszintéziséért felelősek, kivéve a *lac* és a *gal*, melyek a laktóz ill. a galaktóz hasznosításáért. Az F-plazmid DNS-ére rajzolt nyíl a DNS-átvitel kezdőpontját mutatja, iránya az átvitel irányát jelzi. A folyamat fordított irányban való lejátszódása a Hfr állapot megszűnését, autonóm F-plazmid kihasadását okozza.

A konjugáció során átadott kromoszomális DNS-szakasz csak akkor változtatja meg a recipiens baktérium genotípusát, ha rekombinálódva annak kromoszómájával beépül az abban eredetileg jelen volt gének helyére. A *crossing over* a már ismertetett általános rekombinációs mechanizmussal történik egymással homológ szakaszok között. Az a felvett DNS, mely nem épül be a recipiens kromoszómájába (ill. nem záródik autonóm F-plazmiddá), viszonylag rövid idő alatt elvész, ill. lebontásra kerül. Konjugációs kísérletekkel nagyon jól lehetett tanulmányozni a gének vonal menti elhelyezkedését *az E. coli* kromoszómáján. (Ezekből a kísérletekből nyerték a legmeggyőzőbb bizonyítékokat erre vonatkozóan.) A gének átvitelének sorrendjét különböző Hfr-törzsekkel tanulmányozva ismerték fel azt is, hogy a baktérium kromoszómája zárt körként viselkedik.



15.4. ábra. *Az E. coli sejtek három lehetséges, egymástól különböző állapota.*

Dubress

A gének kapcsolódási sorrendjének és egymástól való távolságának vizsgálatára több, egymástól eltérő típusú kísérlet is felhasználható. Recipiensként olyan F⁻ törzset célszerű választani, amelyik viszonylag sok aminosavra és más szerves vegyületre auxotróf (ezeket igénylő hiánymutáns), és tartalmaz néhány olyan mutáns gént, mely ellenállóvá teszi egy-egy antibiotikummal, ill. olyan bakteriofággal szemben, melyek a vad típusú baktériumokat elpusztítják. A donor Hfr törzset úgy célszerű választani, hogy legyen vad típusú mindazokra a génekre, amelyekre a recipiens hiánymutáns, és legyen érzékeny azokra az antibiotikumokra, fágokra, melyekre a befogadó rezisztens. Ez a kombináció módot nyújt olyan táptalajok elkészítésére, melyekben csak meghatározott rekombinánsok tudnak szaporodni. (Ha kihagyunk ugyanis egy, az F⁻ törzs számára életfontos tápanyagot, nem nő a recipiens, ha teszünk bele antibiotikumot, nem nő a donor. Annak kombinálásával, hogy milyen komponenst hagyunk ki, és mit teszünk bele, tetszőleges rekombinánsokat lehet szelektálni.)

A konjugáció folyamata a baktérium-szuszpenzió erőteljes összerázásával vagy nagyfordulatszámú késes homogenizátorral keverve bármely pillanatban megszakítható. Mechanikai behatásra ui. a szex-pilusok elszakadnak és a DNS átadása a továbbiakban lehetetlenné válik. A konjugáció kezdete után különböző időpontokban állítva le a konjugációt vizsgálni lehet, hogy egy bizonyos időpontig mely gének adódtak át és melyek nem. Egy adott Hfr törzs esetében az egyes gének átlépésének sorrendje mindig ugyanaz: minden gént jellemezni lehet azzal, hogy hány perccel a konjugáció kezdete után lép át a recipiensbe. (Ezért szokás az *E. coli* géntérképen az egyes gének helyét percekben megadni.)

Megfigyelték azt is, hogy ha az egyik Hfr törzs <*thr leu azi ton pro ....ilv met thi*<[3] sorrendben adja át génjeit és a másikban a *met* gén átadásával indul a folyamat, annak sorrendje nem lehet akármilyen, hanem <*met thr leu azi ton pro .... ilv*< lesz.

A különböző Hfr törzsekkel végzett keresztezési kísérletek eredménye könnyen értelmezhetővé válik, ha az egyes gének átadásának időpontját egy olyan körön ábrázoljuk, melynek kerületét 100 percre osztottuk fel. Bár különböző Hfr törzsek más-más génnel kezdik a kromoszóma átvitelét és az átvitel a körön feltüntetett gének sorrendjét tekintve egyik esetben egyik, másik esetben az ezzel ellenkező irányban halad, nem kell változtatnunk a felrajzolt „géntérképen": bármelyik gént ugyanaz a két szomszédos gén fogja közre és az átadásuk közötti idő is mindig ugyanannyi, bármilyen Hfr donort használunk is. A kísérletek eredményének legegyszerűbb magyarázata annak feltételezésére, hogy az *E. coli* kromoszómája körré zárult. Az egyes Hfr törzsek abban különböznek egymástól, hogy az F-plazmid a kromoszóma melyik pontján és milyen irányban elhelyezkedve integrálódott. Az *E. coli* kromoszómája tehát több olyan IS-szakaszt is tartalmaz, melyek területén a plazmid rekombinálódni képes.

Más típusú kísérletsorozatban többszörösen auxotróf és aziddal, streptomycinnel, T1 és T6 fággal szemben rezisztens *(F⁻ thr⁻ leu⁻ azi^r tonA^r lac⁻ tsx^r gal⁻ str^r)* recipiens és vad típusú Hfr donor törzsek sok millió egyedét egy órán át konjugálni hagyták

---

[3] A betűhármasok egy-egy meghatározott öröklődő bélyeget jelentenek, amely mögött állhat egy gén, de akár egy egész operon is. Pl. a *met* a metionin szintézisének képességét jelenti: a vad típusú *met*⁺ törzs képes ezen aminosav előállítására, azaz prototróf, a *met*⁻ mutáns nem, tehát metionin auxotróf, környezetéből (táptalajából) kell megkapja ezt az aminosavat.

37 °C-on, folyékony táptalajban. Utána streptomycint tartalmazó minimál táptalajra szélesztették (ebben egyetlen szénforrásként glükóz van). Ezen a táptalajon csak azok a rekombinánsok növekednek, melyek a donorból a *thr*$^+$ és *leu*$^+$ gént, a recipiensből a *str*^{r} gént tartalmazzák. A növekedésre képes rekombinánsokat tovább vizsgálták annak kiderítése céljából, hogy a *thr*$^+$ és *leu*$^+$ génekkel együtt milyen más gének kerültek át a donorból a recipiensbe, melyekre nem történt szelekció. 100%-nak tekintve a *thr*$^+$ és *leu*$^+$ gének átadását az *azi*^{s} jelleg 90%-ban, a *tonA*^{s} (T1 fág iránti érzékenység génje) 70%-ban, a *lac*$^+$ (laktóz bontó) jelleg 40%-ban, a *tsx*^{s} (T6 fágra érzékeny) 35%-ban és a *gal*$^+$ (galaktózt hasznosító képesség) gén 25%-ban került be rekombinációval a recipiens genomjába. Az átvitel gyakoriságának a távolsággal való csökkenését egyrészt az magyarázza, hogy hosszabb idő alatt arányosan gyakoribb az átvitel spontán megszakadása, másrészt távolabb levő gének esetén egyre csökken annak valószínűsége, hogy azok egyszerre integrálódjanak egy kettős crossing over révén. Ezek az adatok is felhasználhatók a vizsgált gének távolságának számítására. A számítások eredményeként kapott relatív távolságok lényegében megegyeznek az átviteli sorrend és időpontok alapján elkészített kör alakú kromoszómatérképről leolvasott relatív távolságokkal. (A kromoszóma teljes hosszának és a relatív távolságoknak az ismeretében a távolságok abszolút mértékegységekben – bázispár, μm – is megadhatók.)

Előfordul, hogy az integrált F-plazmid kivágása során „törvénytelen" módon megy végbe a rekombináció. Ilyenkor vagy az történik, hogy a plazmid egyik végdarabja benne marad a kromoszómában és helyette egy kb. ugyanakkora kromoszóma-darab kerül a plazmidba és így ennek a mérete nem változik, csak az összetétele. Az is megesik, hogy a plazmid mindkét végén magával visz egy-két gént a kromoszómából. Ilyenkor mérete megnövekszik, ezeket a képződményeket ***F'-plazmid***oknak nevezzük és a névben feltüntetjük azt is, milyen kromoszómális géneket visz magával. F'-plazmidok segítségével részleges diploid állapot hozható létre *E. coli*ban a plazmid által hordozott génre nézve (= merodiploida). Ez a jelenség ad lehetőséget annak eldöntésére, hogy egy-egy mutáns baktérium-gén domináns vagy recesszív-e a vad típusú alléljével szemben.

Az *E. coli*ban előforduló plazmidokat annak alapján is két típusba lehet sorolni, hogy hordozzák-e (és képesek-e kifejeződésre juttatni) a konjugációval történő génátadáshoz szükséges fehérjéket kódoló géneket, azaz képesek-e konjugációval történő génátadás feltételeit biztosítani, vagy nem. Ennek alapján megkülönböztetünk konjugatív és nem-konjugatív plazmidokat.

A konjugatív plazmidok közül különös jelentősége van az ún. ***R-plazmidok***nak vagy más néven ***rezisztencia-faktorok***nak. Ezek összetett plazmidok (l. 14.17., 14.18., 14.19. ábrák). A konjugációért és a DNS-átvitelért felelős ***RTF***-szakaszhoz (l. 14. fejezet) IS szekvenciák segítségével kapcsolódhat egy vagy több, antibiotikummal szemben ellenállóképességet kölcsönző gént hordozó ún. ***R-determináns*** szakasz (ennek terméke rendszerint olyan enzim, mely a kérdéses antibiotikumot kémiailag átalakítja hatástalan vegyületté). Az RTF-komponens által kódolt egyik fehérje majdnem teljesen azonos az F-pilinnel és ugyanolyan szex-pilust is hoz létre. Más fehérjéi a DNS mobilizálását és átvitelét biztosítják. R-faktor hatására a konjugáció sokkal (legalább két nagyságrenddel)

ritkábban következik be, mint F-plazmiddal. (A konjugációért felelős gének expressziója ui. többnyire represszálva van.) Jelentőssé az teszi az R-faktor hatását, hogy segítségével az egyes antibiotikumokkal szembeni rezisztencia, ha egyszer mutációval létrejött, baktériumról baktériumra viszonylag gyorsan elterjedhet. Az átadás nem korlátozódik azonos fajú baktériumokra: a vastagbélben élő ártalmatlan *E. coli*ból átadódhat a vele többékevésbé rokonságot mutató kórokozó bélbaktériumokba, így pl. a tífusz kórokozójába, a *Salmonella typhi*-be is. Az átvett rezisztencia-gén ellenállóvá teszi a kórokozót a gyógyszerként használt antibiotikummal szemben. Igen gyakran ez az oka a gyógykezelés hatástalanságának. R-plazmid átadás nem rokon baktériumfajok között is viszonylag gyakran bekövetkezik. Pl. szennyvizekben élő szaprofita baktériumok képesek átadni rezisztenciájukat a környezetükbe kerülő kórokozóknak. Így azok antibiotikumok egész sorával szemben ellenállókká válnak, még mielőtt egy embert (vagy állatot) megfertőznek.

Evolúciós szempontból kiemelésre érdemes, hogy a konjugatív plazmidok géneket visznek egyik baktériumtörzsből a másikba, egyik fajból vagy nagyobb rendszertani egységből a másikba, tehát lehetőséget nyújtanak arra, hogy az egyszer már bevált mutáns gének széles körben elterjedjenek a különböző prokarióták között. Szerepük van a génállomány „elkeveredésében" (ebben hasonlíthatók az eukarióták ivaros szaporodásához).

A plazmidok között vannak viszonylag kis méretűek (rendszerint 10 millió daltonnál, vagy ami ezzel egyenértékű, 15 000 bázispárnál ill. 5 μm-nél kisebbek). Legismertebb képviselőik az ún. colicinogén faktorok (ColE1, ColE2, stb.), melyek egy másik, iránt érzékeny *E. coli* sejtet elpusztító fehérjét kódolnak. Ezeknek a kis plazmidoknak szaporodásukhoz nincs szükségük arra az iniciáló rendszerre, mely a kromoszóma és a nagy plazmidok replikációját indítja. Ha gátolt a gazdasejt szaporodása ill. fehérje szintézise, több ezer példányig felszaporodhat sejtenkénti mennyiségük. A génmanipulációs munkákban széles körben használják ezek származékait egy-egy beléjük épített gén elszaporítására.

Bakteriofágok életciklusa és a transzdukció

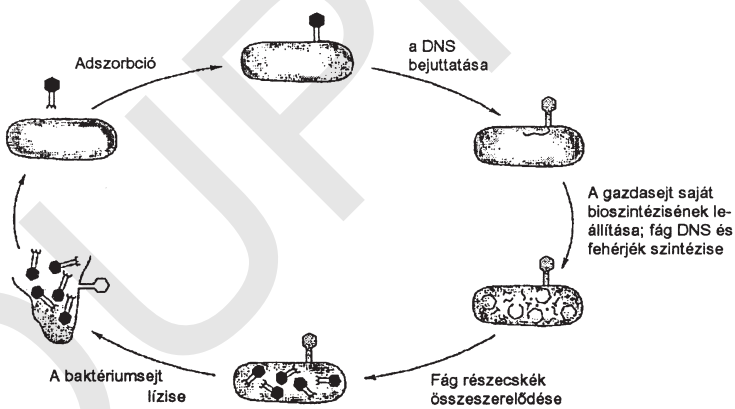
A transzdukció a génátvitelnek az a módja, amelyben az egyik baktériumsejtből a másikba bakteriofágok segítségével jut át genetikai információ. Két típusa, a ***generalizált*** és a ***specializált transzdukció*** a fágok kétféle életciklusához (litikus ciklus és lizogén ciklus) köthető és csak azok ismeretében érthető meg.

DUPLA

A ***litikus ciklus*** során a fág nukleinsava – mely egy olyan lineáris DNS molekula, melynek két végén egyszálú, egymással komplementer DNS szakaszok vannak, amit *cos* (*cohesive*) régiónak neveznek – bejutva a gazdasejtbe leállítja annak nukleinsav- és fehérje szintézisét, s a baktériumsejt a fág DNS (gördülő kerék mechanizmus szerinti) és fágfehérjék szintézisét végzi. Az így nagy mennyiségben megszintetizált fágalkotókból nagyszámú, akár több száz fertőzőképes fág szerelődik össze, melyek a baktériumsejt lízisét követően kiszabadulnak, s újabb fertőzési ciklusban vehetnek részt (15.5. ábra).

Minden fágnak van litikus ciklusa. Azokat a fágokat, amelyeknek csak litikus életciklusa van ***virulens fág***oknak nevezzük.

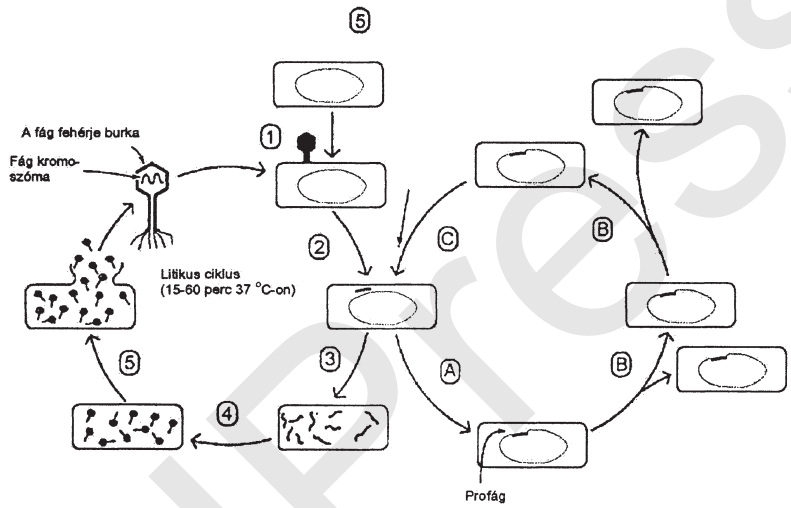
Egy másik lehetséges alternatív életciklus az ún. ***lizogén ciklus***, amikor is a baktériumsejtbe bejutott fággenom ahelyett, hogy sok száz példányban fág részecskék szintézisét irányítaná, helyspecifikus rekombinációval integrálódik a baktérium-kromoszómába, s generációkon keresztül mintegy rejtve marad. Sejtosztódás alkalmával a baktériumgenommal együtt replikálódik s jut át minden egyes utódsejtbe. A kromoszómájában integrálódott fággenomot tartalmazó baktériumot ***lizogén***nek, a baktériumot lizogenizáló fágot pedig ***temperált fág***nak nevezzük. Bizonyos indukciós hatásokra a lizogén állapot megszűnik, a fággenom a kromoszómából kivágódik, s a fág életciklusa átmegy litikus ciklusba (15.6. ábra).



15.5. ábra. *Egy tipikus bakteriofág életciklusa.*

A ***generalizált transzdukció*** a fágok litikus ciklusához kötődik. A litikus ciklusban a fág-DNS-nek a már összeszerelődött fágfejbe való bepakolásával (melynek során a

lineáris *concatamer*[4] fág-DNS-t a *cos* régióknál a bepakolást végző enzim feldarabolja) párhuzamosan zajlik a gazdasejt genomjának fragmentálódása és lízise. Ez véletlenszerűen a genom bármely részéből produkálhat a fággenom méretével megegyező nagyságú kromoszómális DNS fragmentet, amely esetenként bepakolódhat a fágfejbe. Ilyenkor olyan fág részecskét kapunk, mely fág DNS-t egyáltalán nem, csak a gazdasejt DNS-ének egy részét hordozza. Az ezt követő fágfertőzés alkalmával ezt a DNS-t juttatja be a recipiens sejtbe, amely rekombinációval beépülhet az új gazda kromoszómájába (15.7. ábra).



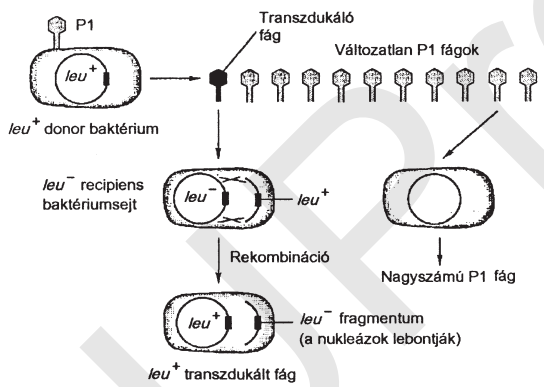
15.6. ábra. *Lizogén bakteriofág életciklusa.* A gazdasejtbe való bejutás után vagy mint egy litikus vírus, azonnal elindítja a fágspecifikus DNS- és fehérjék szintézisét, vagy pedig integrálódik a gazdasejt genomjába, s azzal replikálódva átadódik minden egyes utódsejtbe. Ilyenkor generációkon keresztül rejtve marad. Bizonyos hatásokra, pl. a DNS sérülése, a profág indukálódik, s a genomból kivágódva litikus ciklusba megy át. ① A fág megtapad a gazdasejten. ② A fággenom bejutása a gazdasejtbe. ③ A fág-DNS replikációja. ④ A fággenom fágfejbe pakolódik. ⑤ A gazdasejt lízisekor a fágrészecskék kiszabadulnak. A) Profág képződése. B) A lizogén baktériumok rendszerint ugyanolyan gyorsan szaporodnak, mint a nem lizogének. C) A fág-kromoszóma kivágódása a baktériumkromoszómából (általában ritka).

(Amennyiben ez az integráció nem történik meg, a gének kifejeződhetnek, s a recipiens fenotípusát megváltoztathatják, de mivel az idegen DNS a sejtosztódások során nem rep-

[4] *concatamer* = a fág genom gördülő kerék mechanizmussal történő replikációja során keletkező, a genomot sok példányban tandem egymás után ismétlődve tartalmazó lineáris DNS molekula.

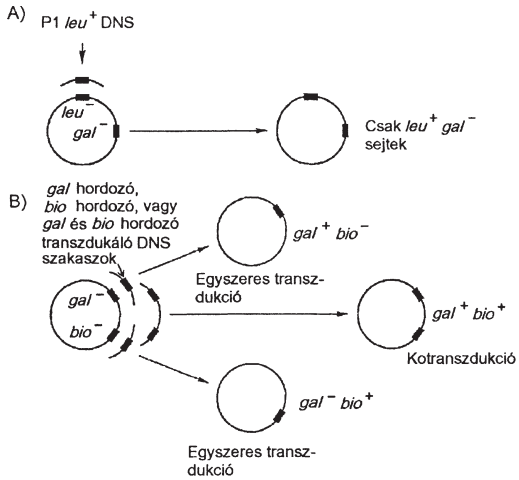
likálódik, végül is elvész. Ezt nevezzük ***abortív transzdukciónak.***) Az ilyen transzdukáló fágok tehát a donor baktérium kromoszómájának egy viszonylag nagy méretű részét viszik át egyik sejtből a másikba, azaz a kromoszómán egymáshoz közeli gének gyakran együtt kerülnek át. Ezt a jelenséget hívják ***kotranszdukció***nak (15.8. ábra). Az egymástól távoli (a fággenom méretét meghaladó távolságra lévő) gének viszont kotranszdukcióra sohasem kerülhetnek. A kotranszdukció gyakoriságának mérése genetikai térképek szerkesztésére használható. Mivel a baktérium lízise során a genom bármely részéből azonos valószínűséggel keletkezhet a fággenom méretével megegyező nagyságú fragment, a generalizált transzdukció során a baktérium bármely génje azonos valószínűséggel kerülhet transzdukcióra.

A ***specializált transzdukció*** a fágok lizogén ciklusához kapcsolódik. Ilyenkor a fág integrációja a fággenomban és a baktérium-kromoszómában egyaránt megtalálható kapcsolódási helyek (*att* régió) közötti helyspecifikus rekombinációval történik.



15.7. ábra. *Generalizált transzdukció E. coliban.* Ha a P1 fág egy *leu*$^+$ *E. coli* törzset megfertőz, a sejt lízisekor kiszabaduló fágok többsége normál P1 fág. Véletlenszerűen azonban transzdukáló fág is keletkezhet. Ha ezek a fágok megfertőznek egy *leu*$^-$ recipiens baktériumsejtet, a normál fágok a sejtek lízisét okozzák. A transzdukáló fág ezzel szemben nem, mivel ez nem hordoz fággenomot. Ahhoz hogy stabil *leu*$^+$ sejt jöjjön létre, kettős *crossing over* szükséges.

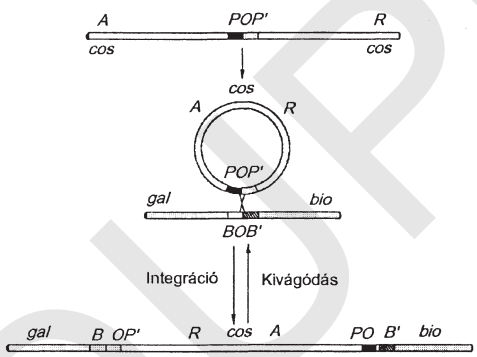
A temperált fágok közül az *E. coli* λ fágját ismerjük legjobban, így a specializált transzdukciót is ezen keresztül mutatjuk be. A kapcsolódási régiók három részből állnak, s jellemző rájuk, hogy középső rövid szakaszuk mind a baktérium-kromoszómán, mind a fággenomban teljesen azonos (O szakasz), s ezek között játszódik le a rekombináció. Ezek két oldalán olyan jelző szakaszok vannak, melyek nem azonosak a kromoszómán és a fág genomban, s a kétoldali szekvenciák nem is szimmetrikusak. A bakteriális att régiót BOB'-vel, a fágét POP'-vel jelölik. Az integrációhoz (BOB' és POP' helyek közötti rekombináció) a fág által kódolt integrázra (topoizomeráz), míg a genomból való kivágódáshoz (a BOP' és POB' hibrid helyek közötti rekombináció) ezen kívül egy másik fág



15.8. ábra. *A **gal** és **bio** gének kapcsoltságának igazolása kotranszdukcióval.*

A. A csak a *leu*$^+$ allélt hordozó transzdukáló fág a *leu*$^-$ *gal*$^-$ sejteket *leu*$^+$ *gal*$^-$-ra változtatja, de nem hoz létre *leu*$^+$ *gal*$^+$ genotípust.

B. Három lehetséges transzdukáló fág, melyek közül egy a kapcsolt *bio* és *gal* géneket egyaránt hordozza. A kotranszdukció eredménye a *gal*$^+$ bio$^+$ sejt.

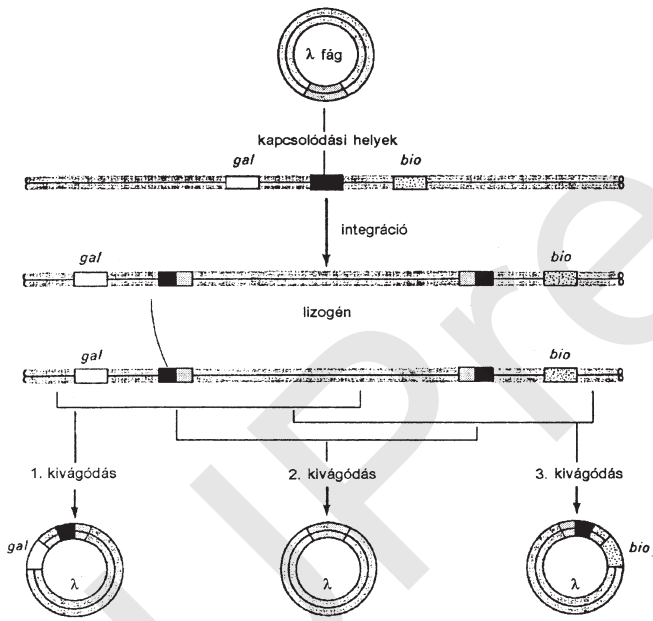


15.9. ábra. *A λ profág integrációjának és kivágódásának vázlata.* A fág kapcsolódási hely POP', a bakteriális pedig BOB'. A profágot két hibrid hely, a BOP' és a POB' határolja (l. a szövegben).

fehérjére (Xis-fehérje) is szükség van (15.9. ábra). Amikor egy lambda fággal lizogenizált baktériumsejtben például a DNS sérülése miatt a profág indukálódik, a kivágódása általában precízen történik, s visszaáll az eredeti állapot. Azonban mintegy 10^{-6}–10^{-7}-en gyakorisággal a kivágás hibás. Ilyenkor nem az *att* régióban történik a vágás és keresztbetoldás, hanem azon kívül eső szakaszok között. Rendszerint a fág DNS egyik végéből egy darab benne marad a kromoszómában (egy POB' vagy BOP' szakasszal), míg a fág DNS másik végéhez a baktérium-kromoszóma egy darabja kapcsolódik és azzal zárul körré. Természetesen a fággenomban is rendellenes kapcsolódási hely (BOP' vagy POB') marad. Ilyenkor a fág genomjához a baktérium-kromoszómának csak az a része

DUPress

kapcsolódhat, amelyik az *att* régió mellett helyezkedik el. Mivel a lambda fág kapcsolódási helye a *bio* (biotin bioszintézis génjei) és a *gal* (galaktóz metabolizmus génjei) régiók között helyezkednek el, ilyenkor elsősorban olyan transzdukáló fágok keletkeznek, melyek vagy a *bio* vagy a *gal* géneket (illetve közvetlen szomszédságukban lévő géneket) viszik át. Ezeket *bio* illetve *gal* transzdukáló fágoknak nevezzük (15.10. ábra). Ezek a transzdukáló fágok rendszerint deficiensek, mivel szaporodásukhoz nélkülözhetetlen fehérjék génjei közül némelyik a törvénytelen kivágódás miatt elveszett. Szaporításuk csak ún. *helper* (kisegítő) fággal keverve oldható meg. Ilyenkor a *helper* fág biztosítja a kiesett funkciókat.



15.10. ábra. *A specializált transzdukáló fág keletkezésének vázlata.* Ha a fág kivágódása pontos (2), helyreáll az eredeti állapot. Ha a kivágódás törvénytelen, *gal* (1) vagy *bio* (3) transzdukáló fágok keletkeznek.

A bakteriofágok azonban nemcsak a génátvitel eszközeiként fontosak. Jelentős szerepük volt a genetikai kutatásokban is (replikáció, rekombináció, mutáció, stb.), mint igen egyszerű, könnyen és gyorsan tanulmányozható tesztobjektumoknak. A fágok ugyanis gyorsan szaporodnak és igen könnyen detektálhatók. Ha szilárd táptalaj felületére baktérium-szuszpenzióval együtt olyan fágszuszpenziót is kiszélesztünk, amely a baktériumot képes megfertőzni, akkor egyetlen fágrészecske az egymást követő fertőzés-lízis, fertőzés-lízis eredményeként a baktérium tenyészet folytonos növekedésű pázsitján ún. tarfoltot (plakk) képez. A fágok genomja bármely más genomhoz hasonlóan megváltozhat, vagy mesterségesen megváltoztatható, azaz mutánsok hozhatók létre. Ezek különbözhetnek egymástól a tarfolt morfológiájában, a szaporodáshoz szükséges optimális hőmérsékletben, a különböző baktérium törzsekhez való adszorbciós képességben, stb.

Mivel egyetlen sejtet egyszerre több fág is fertőzhet, s közöttük a rekombináció mindaddig létrejöhet, amíg a replikálódó DNS szabadon a citoplazmában van, s nem pakolódik fágfejbe, ezért lehetőség van akár többszörös (3 vagy több különböző fágtörzs közötti) rekombinációra is, s a rekombinánsok könnyen detektálhatók.

A fent leírt típusú kísérletekkel igazolták az *E. coli* T4 fágja *rII*[5] génjének analízisével a genetikai kód triplet voltát (l. ott), illetve bizonyította Benzer, hogy (1) génkicserélődés (rekombináció) géneken belül is, bármely szomszédos bázispár között létrejöhet, s (2) hogy a mutáció gyakorisága nem azonos minden egyes bázispárnál. Bizonyos bázisoknál nagy valószínűséggel jön létre, míg másoknál sokkal ritkábban (l. ott).

Az *rII* gén szerkezetének igen részletes analízise ugyancsak segített olyan alapvető fogalom, mint a ***gén*** jelentésének tisztázásában. Kezdetben (Mendel és követői) olyan közelebbről (kémiailag és fizikailag) nem definiált öröklődési faktorokat tételeztek fel, amelyek valamely fenotípusos jelleg létrejöttéért felelősek. Később, amikor a mutációkat kiterjedten kezdték vizsgálni, a gént ilyen szempontból igyekeztek definiálni. Eszerint a génfogalom szerint a gén az öröklődés olyan egysége, melynek megváltozása mutáns fenotípust hoz létre (*muton*). Amikor a kapcsolódás és *crossing over* tanulmányozása került előtérbe, a gént, mint a rekombináció egységét (*recon*) interpretálták. Garrod (l. 6. fejezet) és Beadle vezette be az egy *gén egy enzim* fogalmát, s ennek finomítása a génfogalomként általánosan elfogadott ***cisztron***, mely a gént, mint egyetlen polipeptid szintéziséért felelős DNS szakaszt definiálja. (Ennek megfelelően egyetlen, több különböző alegységből álló fehérjét több cisztron határoz meg. Ezek a cisztronok prokariotákban általában egyetlen szabályozási egységbe [operon] tartoznak.) Benzer kísérletei egyértelműen bizonyították, hogy fizikailag a muton és recon a génen belül egyetlen bázispárnak felelnek meg.

A génexpresszió szabályozása prokariótákban

Nem minden gén fejeződik ki folyamatosan a sejt élete során, sőt van olyan, amelyik egyáltalán nem. Ennek szembetűnő megnyilvánulása magasabbrendű eukariótákban,

---

[5] *rII* gén: az *E. coli* T4 fágjának egy olyan génje, amely nemcsak a fág által létrhozott tarfolt morfológiáját határozza meg, hanem a gazdasejt iránti specificitását is. Az *rII*-re mutáns fág képes az *E. coli* B törzsön tarfoltot (lízist) okozni, míg a K-n nem.

hogy bár a sejtek genetikai állománya kevés kivételtől eltekintve (ivarsejtek, s bizonyos nagyfokban differenciálódott sejtek, mint vörösvértest) azonos, mégis az egyes szövetek, szervek sejtjei mind morfológiailag, mind funkcionálisan nagyon eltérőek lehetnek. A sejtek közötti különbségek oka az, hogy az egyes sejttípusokban nem azonos gének kerülnek expresszióra. Bár a prokarióták életciklusában az egyes sejtek morfológiája és biokémiai működése közötti különbség nem ennyire szembetűnő, de ezekre is igaz, hogy homeosztázisuk fenntartásához, azaz az állandóan változó környezeti hatások és feltételek mellett - ezekhez folyamatosan alkalmazkodva - belső dinamikus egyensúlyuk biztosításához, rendelkezniük kell anyagcseréjük szabályozásának képességével. Ehhez bizonyos enzimek, fehérjék megjelenése, eltűnése, aktivitásának változása szükséges. Az egyes fehérjék szintézisének aktuális szintje az őket meghatározó gének expressziójának szabályozásán keresztül valósul meg.

A génexpresszió szabályozása némileg különbözik a pro- és eukarióta sejtekben. A prokarióták többsége egysejtű, s mindaddig gyorsan szaporodnak, amíg a környezeti feltételek (táplálék, stb.) ezt lehetővé teszik. A környezethez való alkalmazkodásuk elsősorban a transzkripció szabályozásának szintjén valósul meg, mivel az mRNS eukariótákban ismeretes átszabása (l. 16. fejezet) prokariótákban hiányzik. Az mRNS élettartama általában rövid (néhány perc), bár ma már ismeretes, hogy az egyes operonokról szintetizálódott mRNS-ek élettartamában jelentős eltérések lehetnek, s a stabilitást valamilyen módon a nukleotid szekvencia határozza meg (pl. RNS bontó enzimek szubsztrátjaként szolgáló szekvenciák megléte). Ugyancsak kisebb jelentőségű (vagy kevésbé ismerjük) a transzlációs szintű szabályozást. A transzláció szinte automatikusan követi a transzkripciót, s már a transzkripció elongációs szakaszában kapcsolódnak a riboszómák az mRNS 5'-végéhez, s a még félig kész policisztronális mRNS (egyetlen ilyen több, általában közös funkciócsoportba tartozó, fehérje kódját is tartalmazza) molekulán több polipeptidlánc szintézise is befejeződhet. Ugyanakkor az is ismeretes, hogy az egyetlen policisztronális mRNS molekula által kódolt különböző fehérjék nem feltétlenül azonos mennyiségben szintetizálódnak. Erre példa az *E. coli lac* operonja. Itt az egymást követő cisztronok információja alapján szintetizált fehérjék aránya 1 : 1/2 : 1/5. Ennek oka lehet az, hogy a riboszómák csak az első cisztron előtt kötődnek az mRNS-hez, s az egyes cisztronok transzlációja után, a stop kodonokat követően bizonyos gyakorisággal leválnak. Ugyancsak magyarázható ez természetesen azzal is, hogy a riboszómák az egyes cisztronok előtt lévő riboszóma-kötő helyekre kötődnek, s ennek eltérő a gyakorisága. Az is ismeretes, hogy a transzláció hatásfoka úgy is szabályozható, hogy a mRNS bizonyos tripletjeinek megfelelő tRNS fajta nem, vagy csak korlátozott mértékben áll rendelkezésre.

Mindazonáltal tény, hogy a mai tudásunk szerint a legjelentősebb és legjobban ismert magának a transzkripciónak a szabályozása. A továbbiakban elsősorban ezzel kívánunk részletesen foglalkozni.

KONSTITUTÍV ENZIMSZINTÉZIS

A prokarióta sejteknek egyedileg kell alkalmazkodniuk környezetük gyakran igen szélsőséges változásaihoz. Bizonyos alapvető életfunkcióikat, anyagcsere folyamataikat állandóan fenn kell tartaniuk. Ilyenek pl. az energiahasznosítás, a DNS-, RNS- és fehérjeszintézis, valamint a sejtalkotók (pl. sejtfal) képzése. Az ezen funkciókhoz szükséges enzimek folyamatosan termelődnek, ezeket konstitutív enzimeknek nevezzük. Képzésük ***konstitutív enzimszintézis***: a fehérjék elhasználódása, tönkremenetele következtében fellépő, ill. új enzimmolekulák iránt a sejtosztódás miatt jelentkező igényt folyamatos szintézissel elégíti ki a sejt. Ezeket a géneket szokták ***háztartási gén***eknek (*housekeeping gene*) is nevezni. (Ugyanez vonatkozik természetesen a szerkezeti feladatot ellátó fehérjemolekulákra is.)

INDUKÁLHATÓ ÉS REPRESSZÁLHATÓ ENZIMSZINTÉZIS

Más enzimekre a környezetbeli tápanyagkínálat függvényében van, vagy nincs szüksége a sejtnek. Evolúciós előny, ha ezeket nem tartja mindig a lehetséges maximális igénynek megfelelő mennyiségben készenlétben, hanem szintézisük a pillanatnyi szükségletnek megfelelően folyik. Az ***induktív enzim***ek képzése akkor indul meg, ha a környezetben olyan hasznosítható tápanyag jelentkezik, amire a sejt rá van utalva. Értelemszerűen számos katabolikus enzim tartozik ebbe a csoportba, kivételt gyakorlatilag csak a glükóz hasznosításának enzimei képeznek, amelyek konstitutívan termelődnek.

Az anabolikus enzimek, amelyek pl. a makromolekulák építőköveinek (aminosavaknak, purin- és pirimidin bázisoknak) a szintéziséért felelősek, a ***represszálható enzim***ek csoportjába tartoznak. Ezek szintézisére addig van szükség, amíg a sejt külső forrásból meg nem kapja a megfelelő enzimlánc végtermékét. Ha ez kellő mennyiségben áll rendelkezésre, az előállító enzimek szintézise represszálódik, megszűnik.

AZ OPERONÁLIS SZABÁLYOZÁS ÉS ELEMEI

A két utóbbi típusú enzimcsoport szintézisének a transzkripció szintjén történő szabályozását a Jacob és Monod által 1961-ben leírt ***operon modell*** alapján érthetjük meg. ***Operon***on értjük az egy szabályozási egységbe tartozó, a DNS-en közvetlenül egymás után elhelyezkedő struktúrgének és az ezek expresszióját befolyásoló szabályozó gének és DNS szakaszok csoportját. A bakteriális transzkripció jellegzetessége, hogy a közvetlenül egymás után elhelyezkedő struktúrgénekről az RNS-polimeráz enzim ún. ***policisztronális mRNS*** molekulát másol, amely egyvégtében tartalmazza az operon fehérjekódoló információjának átiratát. Így érthető, hogy egy operon struktúrgénjei koordináltan kerülnek expresszióra, az általuk meghatározott enzimek egyszerre képződnek, ill. szintézisük egyszerre szűnik meg. A fentiekből következik, hogy struktúrgénnek nevezzük a DNS azon szakaszát, amely valamilyen fehérje (ill. polipeptid) aminosav-, vagy valamilyen RNS (tRNS, rRNS) bázis-sorrendjét, azaz elsődleges szerkezetét kódolja. Ezen gének kifejeződését az határozza meg, hogy a közvetlenül előttük elhelyezkedő operátor régión áthaladhat-e az RNS-polimeráz enzim. Ha az operátorhoz nem kapcsolódik semmi, az RNS-polimeráz kialakítja az iniciációs komplexet, s megkezdheti a transzkripciót az operátor szekvencia (vagy annak egy része) átírásával. Ha az operátor régióhoz egy hozzá specifikusan kapcsolódni képes fehérje, a represszor kötődik, ez megakadályozza, hogy az RNS-polimeráz az operont jelentő DNS-szakaszt átírja. Így az operonhoz tartozó enzimek szintézise gátolt.

A represszor fehérje aminosav sorrendjének kódját a regulátor gén tartalmazza. Míg a promoternek (amelyhez az RNS-polimeráz először kapcsolódik) és az operátornak működése ellátásához közvetlenül a szabályozott struktúrgének előtt kell elhelyezkednie, a regulátor gén lehet az általa szabályozott operonon kívül is, bárhol a genomban, hiszen funkciója a represszor elsődleges szerkezetének meghatározása (azaz tulajdonképpen ennek a fehérjének a struktúrgénje), s ez a fehérje diffúzióval bárhova eljuthat a sejtben.

A represszor allosztérikus fehérje, amely specifikusan képes kötődni a saját (szabályozott) operonja operátorához. Hogy ez a kapcsolódás valóban létrejön-e, azt egy kis molekula, egy ún. effektor szabja meg. Az indukálható enzimeket meghatározó ***katabolikus operon***ok esetén az effektort ***induktor***nak nevezzük, mert ha hozzákapcsolódik a represszor-fehérjéhez, annak konformációját úgy változtatja meg, hogy az az operátorhoz nem képes kötődni; leválásával szabaddá teszi az utat az RNS-polimeráz számára, megindulhat a transzkripció. Ezt a génszintű történést ***derepresszió***nak nevezzük (= a represszált állapot megszűnése), eredménye az ***enzimindukció*** vagy más néven indukált enzimszintézis.

Az ***anabolikus enzim***ek kódját tartalmazó ***anabolikus operon***ok szabályozásának elve hasonló, csak az effektor szerepe más. Ezen operonok represszor fehérjéje önma-

gában nem képes az operátor régióhoz való kapcsolódásra, ezért ***aporepresszor***nak nevezzük. Az operátort felismerő konformációját csak az effektor molekula, a ***korepresszor*** hozzákötődése nyomán veszi fel, azaz a hatásos ***represszor*** az apo- és korepresszor komplexe. Az ilyen operon alapállapota a derepresszált helyzet, a korepresszor kapcsolódása után következik be a represszió, a transzkripció gátlása.

Az induktor általában az a molekula, amelynek katabolikus hasznosítására az operon enzimjei szolgálnak. Egyes esetekben (l. pl. a *lac* operont) lehet az induktor a hasznosítandó molekula valamilyen közvetlen, egy lépésben kialakuló származéka, ill. mesterségesen előállított struktúr analógja is. A korepresszor az általa szabályozott operonban kódolt enzimlánc végterméke (vagy ennek valamilyen közeli származéka, pl. egyes aminosavak esetén komplexük saját tRNS-ükkel).

A represszor ismertetett funkciójából következően az operátoron keresztül ható reguláció ***negatív szabályozás***: a represszor kapcsolódása gátló jellegű. A katabolikus operonok esetén ismert egy ***pozitív szabályozás***i mechanizmus is, ami a promoteren keresztül hat: a CAP + cAMP komplex kötődése a promoterhez elősegíti az RNS-polimeráz kapcsolódását. A cAMP (ciklikus adenozin-3',5'-monofoszfát) fontos szabályozó molekula az élővilág legkülönbözőbb képviselőiben. A CAP-hoz (= katabolit aktivátor protein) kapcsolódva alakítja ki ez utóbbi fehérje olyan konformációját, amelyben az a katabolikus operonok promotereinek a felismerésére, ill. az ehhez való kapcsolódásra, s ezáltal az RNS-polimeráz kapcsolódás frekvenciájának fokozására képes. (A CAP-ot egyes szerzők CRP-nek, cAMP receptor proteinnek is hívják.)

Az elmondottakat két operon példáján világítjuk meg. Az első a ***katabolikus operon***ok típusa: a *lac* operon, amihez a tejcukor (*lactose*) hasznosításának enzimjei tartoznak. Ezt a rendszert tanulmányozva ismerte fel Jacob és Monod az operonális szabályozás elvét. A második, mely az ***anabolikus operon***ok példája (*trp* operon), egy aminosav, a triptofán bioszintézisében résztvevő enzimek szintézisének szabályozását mutatja be.

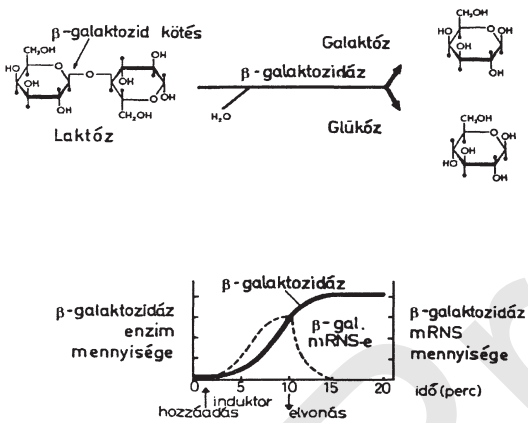
AZ *Escherichia coli lac* OPERONJA

Ha *E. coli* sejteket valamilyen egyéb szénforrásról tejcukrot mint egyedüli szénforrást tartalmazó táptalajra viszünk át, akkor szaporodásuk rövid időre leáll, majd újra indul. Ha az átállási periódus eseményeit vizsgáljuk, a legszembetűnőbb változást abban láthatjuk, hogy míg korábbi tápközegükben a sejtek nem termeltek β-galaktozidáz enzimet, ami a tejcukrot glükózra és galaktózra hasítja, az új táptalajban ennek az enzimnek a szintézise megindul: enzimindukció történik (15.11. ábra).

A β-galaktozidázzal párhuzamosan megjelenik a galaktozid permeáz és a tiogalaktozid transzacetiláz is a sejtekben, azaz a három enzimet meghatározó gének koor-

dinált expresszióját figyelhetjük meg. Megállapították, hogy a laktóz, pontosabban: izomérje, a belőle keletkező allolaktóz szerepel induktorként a rendszerben. Ez azonban helyettesíthető olyan mesterséges galaktozid-származékokkal is, amelyek nem metabolizálódnak, nem használódnak fel, hanem a kísérleti rendszerben a vizsgáló által megszabott módon és ideig tartják fenn a derepresszált állapotot.

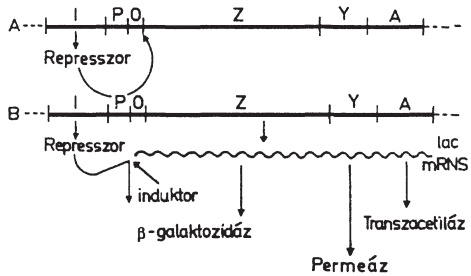
A *lac* operon elvi szerkezetét a 15.12. ábra mutatja. A három struktúrgén (*lacZ, lacY, lacA*) előtt helyezkedik el a három szabályozó elem (*lacI, lacP és lacO*).



15.11. ábra. *A β-galaktozidáz enzim funkciója és indukciója.*
Fent: a laktóz hasítása glükózra és galaktózra.
Lent: az enzimindukció kinetikája. Induktor hatására először az mRNS (----), majd ezt követően a β-galaktozidáz (—) szintjének gyors emelkedését figyelhetjük meg. Ha az induktort elvonjuk az *E. coli* sejtektől, a rövid életidejű mRNS mennyisége gyorsan csökken. Amíg van mRNS, addig folyhat az enzim szintézise. A β-galaktozidáz meglehetősen stabil fehérje, ezért az enzimszint az induktorhatás megszűnése után is hosszú ideig változatlan marad.

Az I a regulátor gén, a *lac*-represszor fehérje struktúrgénje, saját külön promoterrel rendelkezik és folyamatosan, de igen alacsony frekvenciával kerül transzkripcióra. Ez elegendő ahhoz, hogy a sejtben mindig kellő mennyiségű *lac*-represszor legyen. A represszor fehérje tetramer, négy identikus monomerből áll. Az aktív represszor egy olyan szimmetrikus szerkezetet vesz fel, amely a DNS szimmetrikus operátor szekvenciájához (15.13. ábra) specifikusan kötődni képes.

DUPress



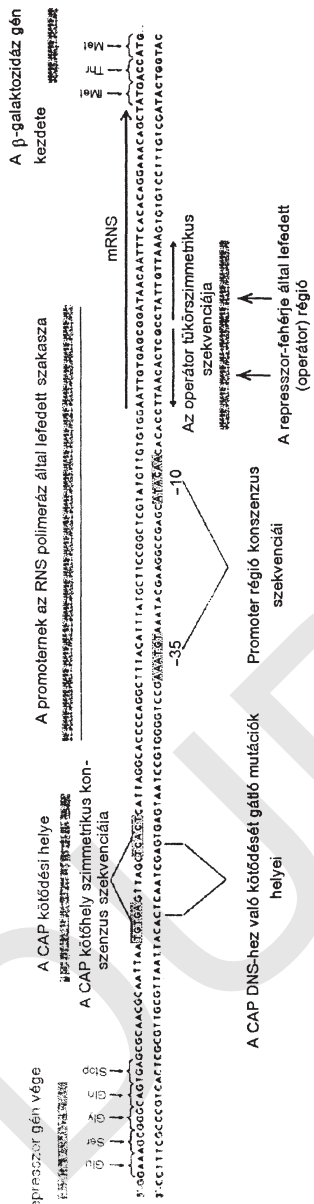
15.12. ábra. *Az E. coli lac operonjának elvi vázlata.*

Fent: represszált állapot. Az I regulátor gén által meghatározott *lac*-represszor fehérje az O operátorhoz kapcsolódva gátolja a mögöttes struktúrgének (Z, Y és A) transzkripcióját.

Lent: derepresszált állapot. Induktor hatására ez a fehérje leválik az O régióról és a promoterhez (P) kapcsolódó RNS-polimeráz megkezdheti az operon transzkripcióját, aminek eredménye a policisztronális *lac* mRNS.

A represszor-operátor komplex disszociációs állandója olyan, hogy a kapcsolatuk időben gyakorlatilag majdnem állandónak tekinthető, s az *E. coli* sejtben található kisszámú (kb. 10-20) aktív represszor ellenére csak véletlenszerűen fordulhat elő, hogy egy-egy RNS-polimeráz molekula átírhatja az operon struktúrgénjeit. Így a represszált állapotban csak néhány (kb. 10) β-galaktozidáz (és még ennél is kevesebb galaktozid permeáz) molekulát tartalmaz egy-egy baktériumsejt. Ha akár laktózt, akár mesterséges induktort, pl. IPTG-t (= izo-propil-β-D-tiogalaktozid) adunk a tenyészethez, bekövetkezik a derepresszió és az enzimindukció. Ahhoz azonban, hogy ez végbemehessen, szükség van a sejt külső membránjában meglévő galaktozid permeáz aktivitásra, ami bejuttatja a galaktozid molekulákat. Tejcukorból az aktív induktor, az allolaktóz kialakulása a β-galaktozidáz enzim működése révén történik. Tehát a természetes körülmények közötti indukálhatósághoz a *lac* operon időnkénti véletlenszerű transzkripciója is szükséges. Az induktor kötődése a represszorhoz olyan konformációban stabilizálja ezt a fehérjét, amelyben megváltozik a kötődési állandója és gyakorlatilag nem képes az operátor szekvenciájának felismerésére és az ehhez való kapcsolódásra. Ezáltal szabaddá válik az út az RNS-polimeráz számára: megindul a *lac* operon struktúrgénjeinek transzkripciója, s a keletkező policisztronális mRNS transzlációja.

Ennek nyomán az operonhoz tartozó három enzim mennyisége igen rövid idő alatt akár az eredeti enzimszint 1000-szeresére is emelkedhet. (A rendszer tanulmányozásának kezdetén igen gondos kísérletekkel igazolták, hogy valóban új enzimmolekulák szintéziséről, s nem már meglévők aktiválásáról van szó. Ezt úgy fejezzük ki, hogy *de novo* mRNS- és enzimszintézis történik.) A prokarióta enzimindukció mértéke sokszorosan felülmúlja az eukariótákét, amely csak kb. 10-szeres.



15.13.ábra. *A lac operon promoter és operátor régiójának szekvenciája és szerkezete.*

Ha az indukált tenyészethez glükózt adunk, az ún. ***katabolit represszió*** jelenségét figyelhetjük meg: az indukált enzimszintézis majdnem teljesen megszűnik. Alapos vizsgálatokkal kiderítették, hogy szőlőcukor hatására nem történik változás az operon derepresszált állapotában, hanem az RNS-polimeráz operonhoz kapcsolódásának, következésképpen a transzkripció iniciálásának frekvenciája csökken. Ahhoz ugyanis, hogy ez az enzim a katabolikus operonok promoteréhez kapcsolódjon, egy pozitív szabályozó elemre, a CAP+cAMP komplexre is szükség van. Glükóz hatására az *E. coli* sejtek cAMP-szintje erősen lecsökken. A szabad CAP egymagában nem tud kötődni a promoterhez, s így nem is tudja elősegíteni az RNS-polimeráz kapcsolódását. Így cAMP hiányában (ill. nagyon alacsony intracelluláris koncentrációja esetén) a transzkripció megkezdése csak nagyon ritkán (a magas cAMP szintre jellemzőnél 50-100-szor ritkábban) következhet be, s az operon transzkripciója akkor sem folyik, ha a represszor nem zárja el az RNS-polimeráz útját.

A *lac* operon elemeiről és működéséről a 15.14. ábra ad áttekintést. Kiválóan alkalmasnak bizonyult az *E. coli lac* operonjának tanulmányozása számos molekuláris biológiai és genetikai probléma felvetésében és megoldásában. Pl. az mRNS létének és funkciójának felismerésében is megalapozó szerepe volt. Sokat köszönhetünk ennek a rendszernek a mutációk jellegének, hatásának megismerésében is. Konstitutívvá válhat például az operon enzimeinek szintézise egymástól igen eltérő jellegű mutációk következtében: elveszhet a represszor-fehérje szintézisének képessége a *lacI* gén

teljes vagy részleges deléciója esetén, de hasonló eredményű lehet egy nonszensz mutáció is. Pontmutáció következtében létrejött aminosavsorrend-változás miatt is funkcióképtelen lehet a *lac* represszor, mert nem képes kötődni az operátorhoz, de elvesztheti az induktorkötő képességét is, aminek eredménye a mutáns sejtek indukálhatatlansága. Az ép represszor sem kötődhet a DNS-hez, ha a *lacO* nukleotidsorrendjében következett be olyan változás, ami a fehérje-DNS kölcsönhatást megzavarja. Ha nincs funkcióképes represszor, egy ép nukleotidszekvenciáju *lacI* gén bevitele a sejtbe (pl. F-plazmidon) korrigálni tudja a hibát, a *lac* operon működése újra szabályozottá válik, míg operátor-mutáció esetén ép *lacO* régió bevitele nem változtat a helyzeten, csak akkor, ha crossing over révén kicserélődik a sejt kromoszómájában lévő hibás szekvenciával. Azaz a regulátor gén transz helyzetben is kifejti hatását (azaz akkor is, ha más DNS molekulán van, mint az általa szabályozott régió), transz-domináns hatású, míg az operátor csak cisz helyzetben (vagyis ha azonos DNS-en van a szabályozott struktúrgénekkel). Ez könnyen érthető: a *lac* represszor fehérje a citoplazmában diffundálva eljuthat a kívánt helyre, bárhol termelődjön is, míg az operátor régióhoz kapcsolódva csak akkor gátolhatja a *Z*, *Y* és *A* gének transzkripcióját, ha az operátor ezeket a struktúrgéneket közvetlenül megelőzi.

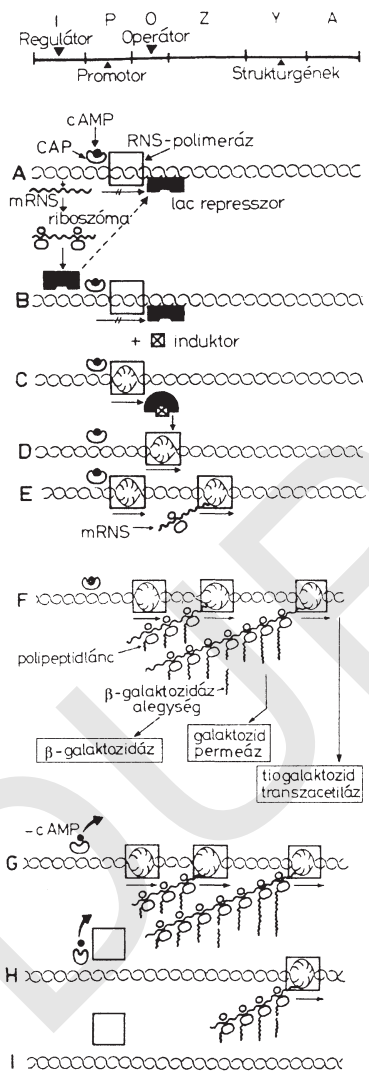
Génsebészeti kísérletekben is szerepet kapott a *lac* operon, legalábbis egy része. Ahhoz ugyanis, hogy egy idegen fajból, ráadásul eukariótából (pl. emberből) az *E. coli*ba ültetett gén kifejeződhessen, olyan promoterre és az mRNS-en olyan vezető szekvenciára van szükség, ami lehetővé teszi a bakteriális RNS-polimeráz, ill. a 70S riboszómák kapcsolódását. Erre a célra kiválóan megfelel a *lac PO* szakasz (l. 18. fejezet).

AZ *Escherichia coli trp* OPERONJA

Az anabolikus operonok példájaként említjük: 5 struktúrgén közös szabályozási egysége (15.15. ábra), amelyek a triptofán szintéziséért felelős enzimek kódját tartalmazzák. Az operon represszorát kódoló regulátor gén (*trpR*) távolabb helyezkedik el az általa szabályozott struktúrgénektől. A fehérje aporepresszor: önmagában nem képes az operátorhoz (*trpO*) kapcsolódni, csak triptofánnal együtt. Ennek következtében a triptofán szintéziséért felelős enzimek folyamatosan szintetizálódnak mindaddig, amíg az intracelluláris triptofán koncentráció egy bizonyos szintet meg nem halad. Ha ez megtörténik, létrejöhet az aktív represszor, s ez a struktúrgének transzkripcióját gátolja. (Az aktív represszor koncentrációja az aporepresszor molekulák számától és a triptofán koncentrációjától függ, az előbbi meglehetősen állandó.) A *trp*-represszor is negatív szabályozó elem. Az anabolikus operonoknak a *lac* operonnál leírt, vagy ahhoz hasonló pozitív szabályozásáról (CAP-cAMP) nem tudunk. Ha az intracelluláris triptofánszint

BUPress

csökken, az aporepresszor és korepresszor komplex disszociál, a *trp* operon derepressziója következik be. Feltétlenül látnunk kell, hogy ez a szabályozás (a *lac* operonéhoz hasonlóan) nem „minden vagy semmi" típusú: az aktív represszor-komplex életideje változik a triptofán koncentráció függvényében.



15.14. ábra. *Az E. coli lac operonja működésének vázlata.* Az operonhoz három szabályozó gén illetve régió: a regulátor gén (*I*), promoter régió (*P*) és az operátor régió (*O*); valamint három struktúrgén: β-galaktozidáz, galaktozid permeáz és tiogalaktozid transzacetiláz génje (*Z*, *Y* és *A*) tartozik.

A: Az *I* gén folyamatosan átírásra kerül és a termelt *lac*-represszor fehérje az *O*-szakaszhoz kapcsolódva gátolja, hogy a *P*-t felismerő RNS-polimeráz megkezdhesse az operon átírását.

B: induktor hatására a represszor fehérje leválik az *O* régióról.

C, D és E: a represszor leválása után az RNS-polimeráz kialakíthatja az iniciációs komplexet és megindulhat az operon transzkripciója. Közben újabb RNS-polimeráz enzim kapcsolódik a promoterhez.

F: a folyamatosan történő átírás alatt a még szintetizálódó mRNS-hez már kapcsolódnak a riboszómák és megkezdődik a transzláció is. Mindezek közben az átírás iniciálását a CAP–cAMP komplexnek a promoterhez kötődése tette lehetővé.

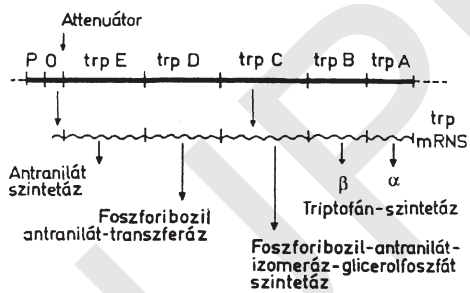
G, H és I: ha elvonjuk a cAMP-t (katabolit represszió), az utóbbi komplex disszociál és kapcsolódásának megszűntével a transzkripció iniciálása is elmarad.

Igen meglepő volt azonban az a felismerés, hogy a derepresszált *trp* operonon a mRNS szintézisének iniciálását követően nem feltétlenül szintetizálódik a struktúrgénekről mRNS. Mielőtt ugyanis a struktúrgének transzkripciója elkezdődne, az mRNS szintézisbe egy újabb szabályozási elem van beépítve. Ez ismét a triptofán koncentráció függvényében teszi le-

DUPLICATE

hetővé, vagy akadályozza meg a struktúrgének átírását. Átírás csak akkor van, ha ismételten megerősítést nyer, hogy a triptofán koncentráció alacsony. Ellenkező esetben az RNS polimeráz az mRNS szintézisét még a struktúrgének előtt befejezi, s leválik a DNS-ről. A jelenség magyarázatát a *trp* operon 5' végének szekvencia-analízise adta meg. Az első struktúrgén a *trpE* előtt egy 161 bázispárnyi szekvencia van, melyben egy AUG triplettel kezdődő, 14 aminosavat kódoló, ún. vezető peptidet meghatározó szekvencia (melyet stop kodon követ), s ezt követően egy tipikus transzkripciós terminátor szekvencia található (15.16. ábra).

A terminációt és az RNS polimeráz leválását elősegítő hajtű szerkezet a 3. és 4. szekvencia-szakaszok között jöhet létre, s ezt követi a poli-U régió. Ennél az ún. ***attenuátor*** régiónál az mRNS szintézis terminálódhat, s egy 139 nt hosszúságú RNS keletkezik. Ha azonban a triptofán intracelluláris koncentrációja valóban alacsony, a vezető szekvencia néhány sajátsága lehetővé teszi a mRNS szintézis folytatását, s a struktúrgének átírását. A terminátor hajtűszerkezet kialakulásán kívül ugyanis lehetőség van további hajtűszerkezetek kialakulására. Az 1. és 2. RNS szakaszok ugyanis szintén komplementerek, s hajtűt hozhatnak létre, sőt a 2. és 3. RNS szakaszok is hozhatnak létre ilyen struktúrát, s ezzel megakadályozva a 3. és 4. RNS szakaszok közötti hajtű



15.15. ábra. *Az E. coli triptofán (trp) operonjának elvi vázlata.* Triptofán hiányában az operon derepresszált állapotban van, folyhat a *trp* mRNS szintézise. A promoterhez kapcsolódó, az átírást az operátor területén kezdő RNS-polimeráz az attenuátor régióról még leválhat (l. a szövegben). Az operonhoz 5 struktúrgén tartozik, ezek 5 polipeptidet határoznak meg, melyek közül kettő egyetlen alegységes enzimhez tartozik.

kialakulását és a transzkripciós terminátor létrejöttét. Ezeken túl, a vezető szekvencia egy olyan 14 aminosavból álló rövid polipeptidet határoz meg, amely előtt egy erős riboszóma kötőhely van, s a 14 aminosavból két egymást követő aminosav is triptofán. Más aminosav bioszintetikus operonok vezető régióiban is, ugyancsak egymást követően, annak az aminosavnak a tripletjei találhatók, amelynek bioszintéziséért végső soron az operon felelős (15.17. ábra). Így pl. a hisztidin operon vezető régiójában kódolt 16 aminosav közül 7 a hisztidin. Ezeknek a funkciója az, hogy ezeknél a tripleteknél a szintetizálódó mRNS transzlációját végző, az RNS polimerázt közvetlenül követő riboszóma várakozni kényszerül, ha nincs a sejtben elegendő aminosavval feltöltött tRNS. Amennyi-

ben a riboszóma ennél a szekvenciánál megáll, hosszú időre lefoglalja az 1. RNS szakaszt, s a hajtűszerkezet a 2. és 3. szakaszok között jön létre (15.18. ábra), s ennek következtében nem alakulhat ki a transzkripciós terminátor a 3. és 4. szakaszok között, s az RNS polimeráz tovább haladhat az attenuátor régión, s elkezdheti a struktúrgének átírását. Ellenkező esetben, amikor a sejtben elegendő töltött *trp* tRNS van, a riboszóma a triptofán kodonoknál továbbhalad, s lefedi a 2. DNS szakaszt, miáltal a 3. és 4. szakaszok közötti hajtű, azaz a transzkripciós terminátor létrejöhet, s az RNS polimeráz leválik. További lehetőség még, hogy a riboszóma még a triptofán tripletek elérése előtt várakozni kényszerül, pl. valamely más aminosav hiánya miatt. Ekkor az 1. és 2. szekvenciák, továbbá a 3. és 4. szekvenciák között is létrejön a hajtűstruktúra, s az operon nem íródik át. Az így szintetizálódó vezető peptidnek a sejtben más szerepe nincs, a celluláris proteázok igen gyorsan lebontják.

Elképzelhető, hogy a *trp* operonnál megismert két szabályozási elem az operon finomabb szabályozási lehetőségét teremti meg azáltal például, hogy a triptofán koncentráció csökkenése először csak a represszor leválását okozza, majd pedig az aminosav további hiánya az attenuáció alól is felszabadítja az operont.

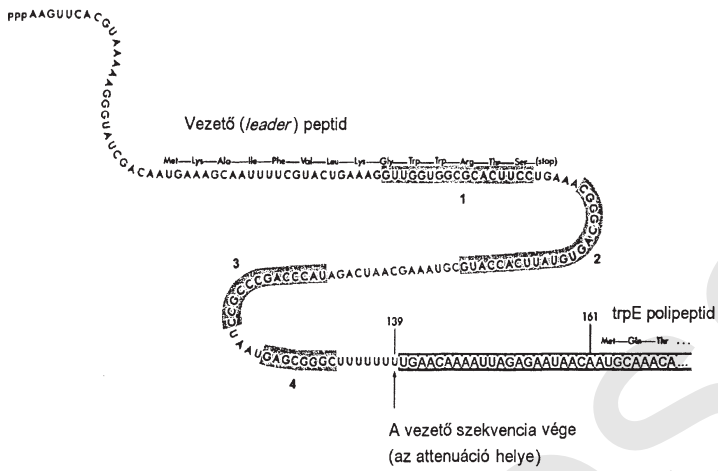
Egyes aminosavak bioszintéziséért felelős operonok (*his, leu*) esetében represszor egyáltalán nincs, a szabályozást egyedül az attenuátor végzi.

AZ OPERONÁLIS SZABÁLYOZÁS MÓDOSULÁSAI

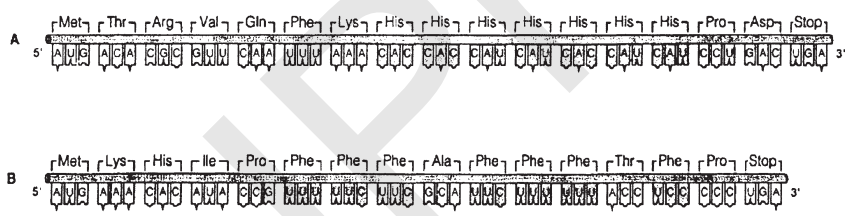
A fentiekben – mint erre külön is felhívtuk a figyelmet – csak az operonális szabályozás legáltalánosabb elveit foglaltuk össze. Hangsúlyoznunk kell, hogy még az *E. coli*-ban is többféle megvalósulását írták már le a génszintű (transzkripcionális) regulációnak. Ezekre itt nem térhetünk ki, de feltétlenül meg kell említenünk a ***regulon*** fogalmát. Ez olyan struktúrgének csoportját jelenti, amelyek nem egymás után, hanem különböző helyeken vannak a baktérium-kromoszómán, de mindenütt azonos operátorral együtt, következésképpen egy regulátor gén hatásának alávetve, tehát egy szabályozási egységet alkotva.

A sejt számára folyamatosan szükséges fehérjék szintézise autoregulációval történik vagy a transzkripció, vagy a transzláció szintjén. Ilyenkor a feleslegben szintetizálódó fehérje közvetlenül kötődik saját génjének promoter régiójához vagy közvetlen környezetéhez, illetve a mRNS 5' végéhez, gátolva ezzel saját génjének transzkripcióját illetve transzlációját.

DUPress



15.16. ábra. *A trp operon vezető régiójának szekvenciája, a hajtűképzésre képes szekvenciák (1-4) bejelölésével.*

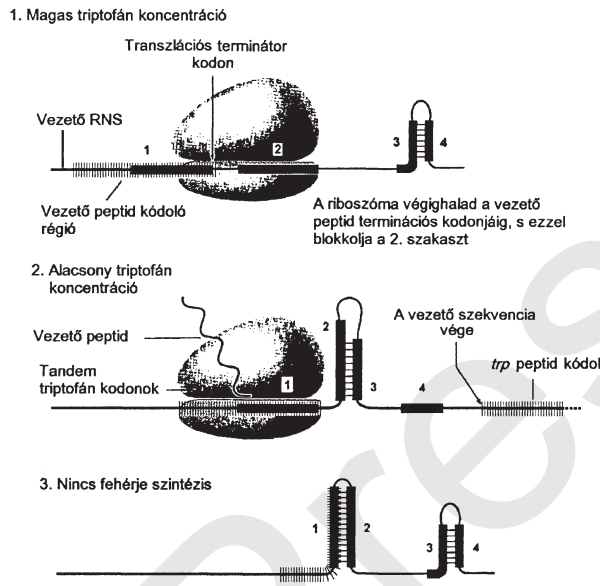


15.17. ábra. *A hisztidin (A) és a fenilalanin (B) operonok vezetőpeptidjének aminosav szekvenciája és a megfelelő mRNS bázissorrendje*

Bár nem tartozik a szorosan vett operonális szabályozás körébe, néhány szóval meg kell emlékezzünk az rRNS és tRNS szintéziséről és szabályozásáról is. Szemben a bakteriális mRNS-sel, az rRNS és a tRNS molekulák hosszabb prekurzor molekulák részeként szintetizálódnak, s ezekből ribonukleázok hasítják ki az érett rRNS ill. tRNS molekulákat, azaz ezek bizonyos érési folyamaton mennek keresztül a prokariótákban is (15.19. ábra és 15.20. ábra). *E. coli*ban 7 rRNS-kódoló DNS szakasz van, mindegyik előtt több promoterrel. Így biztosítható, hogy a sejtben állandóan elegendő mennyiségű riboszóma álljon a fehérjeszintézis rendelkezésére. Az a tény pedig, hogy mindhárom

DUPress

rRNS génje egyetlen transzkripciós egységben van, biztosítja az egyes rRNS molekulák ekvimoláris mennyiségben való szintézisét.



15.18. ábra. *A trp operon transzkripció terminációjának szabályozása az attenuátor régiónál.* A szabályozás végső soron a triptofán koncentráció függvénye.

1. Elégséges triptofán koncentráció esetén a 3. és 4. szakaszok létrehozzák a transzkripciós terminátort.

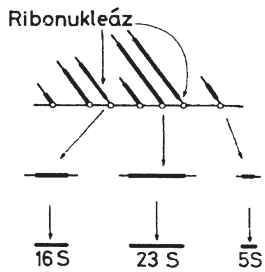
2. A szükségesnél alacsonyabb triptofán koncentráció esetén a riboszóma a triptofán tripleteknél (1. szakasz) várakozik, s a 2. és 3. szakaszok képeznek hajtűt. Ilyenkor nem jöhet létre a transzkripciós terminátor. A struktúrgének átíródnak.

3. Ha a riboszóma nem kezdi el a vezető peptid transzlációját, akkor az 1.-2. és következésképpen a 3.-4. RNS szakaszok hoznak létre hajtűket, a transzkripció terminálódik, s a struktúrgének nem kerülnek transzkripcióra.

A tRNS molekulák génjei sejtenként több példányban fordulnak elő. Néha egyetlen átírási egységben ugyanaz a tRNS gén ismétlődik, néha pedig több különböző tRNS molekula génje alkot egyetlen operont (15.20. ábra). Érdekesség, hogy a prekurzorból az érett tRNS kihasítását végző enzimek közül az egyik, az RNáz P, mely egy fehérje-RNS komplex, egy olyan endonukleáz, mely a tRNS 5-'végénél hasítja a prekurzort, s az enzimaktivitás nem a fehérje, hanem az RNS molekulához rendelhető (ribozim). A 3'-vég kialakítását egy másik nukleáz az RNáz D végzi, mely *E. coliban* a minden tRNS-ben

DePress

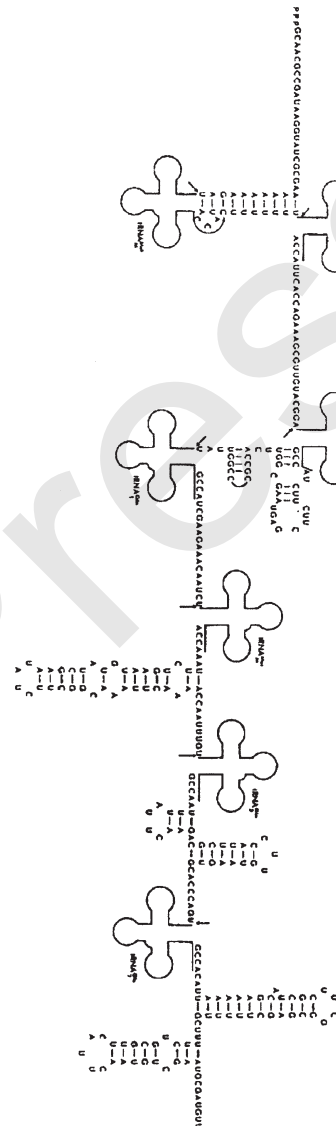
azonos 3'-végi CCA szekvenciánál fejezi be működését. Más baktériumfajokban és eukariótákban ez gyakran poszttranszkripcionálisan, utólag kerül a molekula végére.



15.19. ábra. *A háromféle rRNS szintézisének és módosításának vázlata E. coliban.* Az egy átírási egységen szintetizálódó RNS feldarabolása még a szintézis folyamata során megtörténik, a vékony vonallal jelzett részek levágásra kerülnek, így alakul ki a három „érett" rRNS.

Aminosavéhezésben az ún. stabil RNS-ek (rRNS és tRNS) szintézise leáll. Ezt ***stringens kontroll***nak nevezzük. Mediátora, a ppGpp (guanozin-3'-difoszfát-5'-difoszfát = guanozin tetra-foszfát) és ppGppp (guanozin pentafoszfát), az aminosav éhezés hatására szaporodik fel a sejtekben. Ez a szabályozás biztosítja az rRNS és tRNS túltermelésének megakadályozását, ha a fehérjeszintézis az alapanyagok (vagy csak egy esszenciális aminosav) hiányában nem mehet végbe.

DUPLÁSS



15.20. ábra. *Az E. coli supB-E operonjának szekvenciája és szerkezete.* Az operon 7 tRNS molekulát kódol. A nyilak az RNáz P hasításának helyét jelölik. A köztes (spacer) régiók különböző hosszúságúak, és ezeket az RNáz D bontja le.

DUPress

Összefoglalás:

(*1*) A transzformáció a genetikai rekombinációnak az a formája, melynek során a sejt környezetéből idegen DNS-t vesz fel és a rajta elhelyezkedő gént v. géneket beépíti saját genetikai anyagába. A sejt az így szerzett új jelleget tovább örökíti. A baktériumsejtnek azt a fiziológiai állapotát, melyben képes DNS felvételére, kompetencia-állapotnak nevezzük. Egyes baktériumok rendelkeznek természetes kompetencia-állapottal, másoknál ez csak mesterségesen hozható létre.

(*2*) A plazmidok extrakromoszomális DNS molekulák, v. „minikromoszómák" melyek a baktérium-kromoszómától függetlenül replikálódnak. Az *E. coli* baktériumban található nagyméretű F plazmid a genetikai anyag természetes körülmények között végbemenő átadásáért felelős. A konjugációnak nevezett folyamat során a hím jellegű F^+ baktérium az ún. szex-píluson átjuttatja az F-plazmidot az F^- recipiens sejtbe. A Hfr törzsekben az F-plazmid nem önálló replikon formájában, hanem a baktérium kromoszómájába integrálódva van jelen. A Hfr baktérium kromoszomális géneket ad át az F^- sejtnek, melyek rekombinációba lépnek a recipiens kromoszómájával. A konjugáció felhasználható a gének sorrendjének és távolságának térképezésére a baktérium-kromoszómán.

(*3*) Az *E. coli*ban előforduló plazmidok között megkülönböztetünk konjugatív és nem-konjugatív plazmidokat. A konjugatív plazmidok között különösen jelentősek az R-plazmidok, melyek antibiotikum-rezisztencia géneket hordoznak. Jelentőségük, hogy segítségükkel az egyes antibiotikumokkal szembeni rezisztencia, baktériumról baktériumra viszonylag gyorsan elterjedhet.

(*4*) A bakteriofágok a baktériumok fertőzésére képes vírusok. A baktériumokba bejutva kétféle életciklusuk lehetséges. A lítikus ciklus során a gazdasejt saját szintéziseit leállítva azonnal fág-részecskék szintézise indul meg, amit a gazdasejt lízise és a fágok kiszabadulása követ. A fág-részecskék összeszerelődése során, véletlenszerűen a fágfejbe megfelelő méretű bakteriális DNS is bekerülhet. Ezek a fágok az ún. generalizált transzdukciót okozzák.

(*5*) A temperált fágok képesek a gazdasejt genomjába helyspecifikus rekombinációval beépülni, illetve onnan bizonyos hatásokra és idő után kivágódni. Azt a baktériumot amelynek genomjába fág DNS integrálódott lizogénnek hívjuk. Amikor a profág a genomból kivágódik, litikus fág-ciklus kezdődik. Törvénytelen kivágódáskor jönnek létre a specializált transzdukáló fágok.

(*6*) A sejtek általában csak a számukra szükséges molekulákat szintetizálják. Prokariótákban a génexpresszió szabályozható a transzkripció, és transzláció szintjén, de a képződött mRNS molekulák stabilitásán keresztül is. A fehérjék aktivitása a transzláció után ugyancsak szabályozható.

PUBLIC

(*7*) A sejt számára folyamatosan szükséges fehérjék szintézise autoregulációval történik vagy a transzkripció, vagy a transzláció szintjén. Ilyenkor a feleslegben szintetizálódó fehérje közvetlenül kötődik saját génjének promoter régiójához vagy közvetlen környezetéhez, illetve a mRNS 5' végéhez, gátolva ezzel saját génjének transzkripcióját illetve transzlációját.

(*8*) A csak bizonyos alkalmakkor szükséges katabolikus enzimek szintézise általában transzkripciójuk ki-be kapcsolásával történik, attól függően, hogy a szubsztrátjuk rendelkezésre áll-e a sejtben. Alapállapotuk a represszált állapot, s induktoruk maga a szubsztrát, vagy annak egy közvetlen metabolitja. Ezek a gének egy további szabályozás az ún. katabolit represszió alatt is állnak, ami a cAMP-CAP komplexen keresztül érvényesül.

(*9*) Az anabolikus enzimek szintézise eltér a katabolikus enzimekétől. Transzkripciójukat a bioszintetikus út végterméke szabályozza. Alapállapotukban ezek a gének átíródnak. Amennyiben a végtermék koncentrációja a kívánatos szint fölé emelkedik, először a bioszintézis első enziméhez kötődve annak aktivitását csökkentik allosztérikusan (*feed-back* gátlás), további termékfelhalmozódás pedig a gének transzkripcióját gátolja. Ekkor a végtermék és egy ún. aporepresszor együttesen létrehozza a funkcióképes represszort, ami az operátorhoz kötődik. Ezeknél az operonoknál egy további szabályozási lehetőség az ún. attenuáció.

Kérdések

(*1*) Hogyan lehet a konjugációt géntérképezésre felhasználni?

(*2*) A következő konjugációs kísérletet akarjuk elvégezni: *Hfr leu*$^+$, *str*^{r} x F$^-$ *leu*$^-$, *str*^{r}. Milyen táptalajt használna, ha *leu*$^+$, *str*^{r} rekombinánsokat szeretne izolálni? (*str*^{r}: streptomycin-rezisztens, *str*^{s} : streptomycin-érzékeny)

(*3*) Ha a baktérium-kromoszómán a gének alfabetikus sorrendben helyezkednek el, s egy Hfr törzs *g h i . . . d e f* sorrendben viszi át a kromoszomális géneket, milyen génösszetételű F′ plazmidok keletkezhetnek ebben a Hfr törzsben.

(*4*) Elvégeztük a következő konjugációs kísérletet: Hfr *met*$^-$ *his*$^+$ *leu*$^+$ *trp*$^+$ x F$^-$ *met*$^+$ *his*$^-$ *leu*$^-$ *trp*$^-$. Azt tudjuk, hogy a *met* marker nagyon késői időpontban kerül átvitelre. Egy bizonyos idő után rázással megszakítjuk az átvitelt, s a baktériumszuszpenziót négy különböző összetételű táptalajra szélesztjük. Az egyes táptalajokon a következő telepszámokat kaptuk:

hisztidin + triptofán	250 telep
hisztidin + leucin	50 telep
leucin + triptofán	500 telep
hisztidin	10 telep

Mi a gének átvitelének sorrendje? Hisztidinen miért nőtt ki ilyen kevés telep?

(*5*) Ha a λ fág DNS-e megközelítőleg 48,5 kbp hosszúságú, mennyi a λ fág genom percben megadott hozzávetőleges hossza? (Az *E. coli* baktérium genetikai térképe 100 perc hosszúságú.)

(*6*) λ transzdukáló fágban miért nem várható, hogy a *bio* és *gal* géneket egyaránt megtaláljuk?

(*7*) Különböző transzdukciós kísérletekben, amikor is *A, B, C* és *D* gének transzdukcióval történő átadását vizsgálták azt kapták, hogy az *A* és *B*, a *C* és *D*, valamint az *A* és *D* gének gyakran kerültek kotranszdukcióra. Állapítsa meg a gének sorrendjét a kromoszómán.

(*8*) Vad típusú *E. coli* törzset tenyésztünk a./ laktóz és glükóz mentes, b./ laktóz mentes, de glükózt tartalmazó táptalajon. Mely fehérjék kötődhetnek a *lac* operonhoz az egyes esetekben?

(*9*) Milyen hatása van az alábbi mutációknak a *lac* operon expressziójára?

a./ A mutáció az operátort érinti, aminek következtében a represszor nem tud hozzákötődni.

b./ A mutáció a *lacI* gént érinti, aminek következtében nincs represszor szintézis.

c./ A mutáció a promotert érinti, aminek következtében az RNS polimeráz nem tud felkötődni.

d./ A mutáció a *lacI* gént érinti, miáltal a represszor nem képes a laktóz megkötésére,

e./ Egy ismeretlen eredetű mutáció, aminek következtében a *lac* mRNS degradációja nem következik be.

(*10*) A hisztidin operon attenuátor régiója a vezető szekvenciába hét egymást követő hisztidin beépülését kódolja. Az attenuátor egy olyan részének a szekvenciáját adjuk meg az alábbiakban, amely már átírásra kerül:

5' AAA**A**CACCACCATCATCACCATCATCCTGAC 3'.

Egy mutáció eredményeként a szekvenciában **kövér betűvel nyomtatott A** után egy további (negyedik) A ékelődött.

DUPress

a./ Mi ennek a következménye? b./ Milyen aminosav sorrendű vezető régió szintetizálódik a normál és mutáns régióról? c./ Milyen hatása van a fenotípusra a mutációnak?

Válaszok:

(*1*) A donor és recipiens sejtek összekeverése után különböző időpontokban mechanikus úton (pl. késes aprító alkalmazásával) megszakítjuk a konjugációt, s a sejteket szelektív táptalajra szélesztjük. Így meg lehet határozni azt az időtartamot, amely egy adott genetikai marker a Hfr törzsből az F^- sejtbe való átviteléhez szükséges. Mivel a gének átvitele lineáris sorban történik, a genetikai markerek egymáshoz viszonyított helyzete így meghatározható.

(*2*) A táptalajnak leucin-mentesnek és streptomycin tartalmúnak kell lenni, hogy a *leu*$^+$ *str*^{r} baktériumtelepekre lehessen szelektálni.

(*3*) Mivel az *f* gén kerül át utoljára, a kromoszóma a génsorrend így alakul:

d c f -F-plazmid-*g h i*. F′ plazmid az F-plazmid tökéletlen kivágódásával keletkezik, melynek során magával visz szomszédos kromoszomális géneket. A mérettől függően a lehetséges F′ plazmidok: F′ *g*, F′ *g h*, F′ *g h i*, valamint F′ *f*, F′ *f e*, F′ *f e d*.

(*4*) Az a tény, hogy a *his*$^+$ telepek száma 500, a *leu*$^+$ telepeké 250 *a trp*$^+$-aké pedig 50, azt mutatja, hogy a génsorrend *his leu trp*. (A *met*$^-$ mutáció megakadályozza, hogy a donor Hfr törzs telepei kinőjenek.) A csak hisztidint tartalmazó táptalaj a *leu*$^+$ *trp*$^+$ genotípusúakra szelektál. Számuk azért kicsi, mert ilyenkor mindkét génnek be kell épülnie rekombinációval.

(*5*) Az *E. coli* genomjának mérete 4700 kbp. Ez azt jelenti, hogy 47 kbp esik egy percre, tehát a λ fág genom hozzávetőlegesen 1 perc hosszúságú.

(*6*) A λ fág-fej csak kb. 10 % extra DNS befogadására képes. Így a genomból történő törvénytelen kivágódás esetén extra DNS-ként csak az egyik, vagy másik oldalán elhelyezkedő gént vagy géneket (vagy *gal*, vagy *bio*) képes a fágfejbe bepakolni.

(*7*) *C-D-A-B*

(*8*)

a./ represszor, cAMP+CAP, RNS polimeráz.

b./ represszor

(*9*)

a./ az operon folyamatosan átírásra kerül.

b./ az operon folyamatosan átírásra kerül.

Proof

c./ az operon semmiképpen sem kerülhet átírásra.
d./ az operon átírása folyamatosan gátolt.
e./ az esetlegesen szintetizálódó *lac* mRNS felhalmozódik a sejtben, s annak transzlációs termékei is állandóan jelen lesznek, azaz az operon elveszítette szabályozhatóságát.

(*10*)

a./ Mutáns vezető peptid.
b./ Lys-His-His-His-His-His-His-His-Pro-Asp a normál régióról, és
Lys-Thr-Pro-Pro-Ser-Ser-Pro-Ser-Ser a mutáns régióról. Itt a peptid az UGA kodon miatt (ami STOP kodon) terminálódik.

c./ A mutáns várhatóan hisztidin igényes lesz, mivel a vezető peptid transzlációja még alacsony hisztidin koncentráció mellett is folyamatos, ami nem teszi lehetővé az operon transzkripcióját. Amennyiben azonban a prolin vagy szerin szintje alacsony a sejtben, akkor a hisztidin operon is transzkripcióra kerül!

DUPress

16. FEJEZET

GÉNEK MŰKÖDÉSÉNEK SZABÁLYOZÁSA MAGASABBRENDŰEKBEN

Az eukarióta genom jellegzetességei

Szekvenciafeléleségek az eukarióta genomban
Néhány fontosabb ismétlődő DNS szekvencia
Evolúciós szempontból rokon fajok DNS szekvenciáiban megkülönböztetünk konzervált és nem-konzervált régiókat
Mit nevezhetünk az eukariótákban génnek?
Pszeudogének és immunglobulin gének

Az RNS szintézise és érési folyamatai az eukariótákban

Eukariótákban háromféle RNS polimeráz enzim működik
Az RNS szintézis iniciációjának lépései
Az mRNS-ek prekurzorai mindkét végükön kovalens módosulást szenvednek

Az mRNS kialakulása; a hnRNS átszabása (RNS processing és splicing)

Hogyan megy végbe a nem kívánt részek törlése a hnRNS-ből?
A hírvivő RNS-ek nem juthatnak ki a citoplazmába, amíg az átszabás folyamata be nem fejeződik
A riboszomális RNS molekulák egymás után ismétlődő azonos génekről íródnak át

A hnRNS alternatív átszabásával ugyanazon génről különböző fehérjetermékek keletkezhetnek

DUPress

A gének aktivitását szabályozó fehérjék

Az intracelluláris receptorhoz kötődő hormonok – génszabályozó fehérjék ligandjai

Génaktivitás és kromatin szerkezet

Az RNS átírása a kromatin struktúrában
A kromatin szerkezetváltozásainak összetevői
A kromatin fehérjéinek változásai
A kromatin magasabbrendű szerkezeti szintjeinek változásai
A DNS szerkezetének változása, metiláció
A CpG szigetek

Imprinting – genomi rögzítés

Egyes gének, géncsoportok életre szóló inaktiválása a petesejtek és spermiumok képzése során
A rögzítés folyamata
A gének kifejeződésének mértékét befolyásoló egyéb mechanizmusok

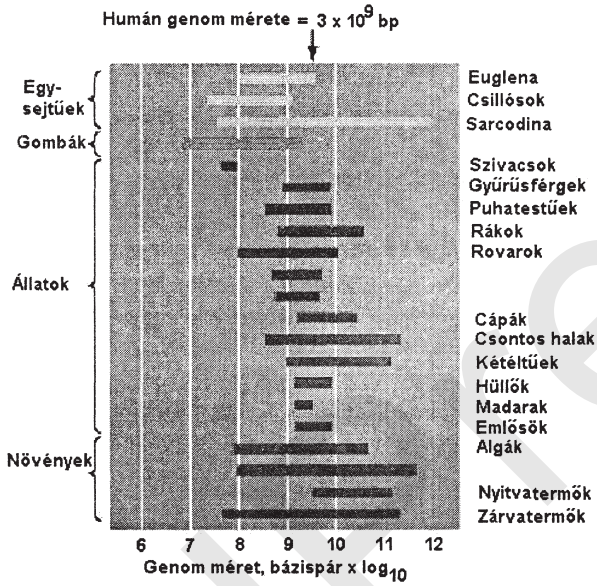
Az eukarióta genom jellegzetességei

Úgy tűnik, hogy a magasabbrendűek genomjában a DNS igen nagy fölöslegben található (16.1. ábra) és mennyisége igen nagy szórást mutat.[1] A humán sejtek például kb. 700-szor több DNS-t tartalmaznak, mint az *E. coli* baktérium, de a szalamandrában még

[1] A szakirodalom ezt külön névvel (*C-value paradox* = C-érték paradoxon) illeti. A különbségek rendkívül nagyok. Az állati egysejtű eukarióták és az algák törzsén belül egyaránt 5000x különbséget is megfigyeltek egy-egy (haploid) sejt DNS állományában. Érdekes viszont, hogy a létért folyó küzdelemben két „legeredményesebb" törzs esetén az ízeltlábúaknál a különbség „csak" kb. 250x, az emlősöknél pedig 10x-nél is kevesebb.

DUPress

a humán sejteknél is 30-szor több DNS-t találunk. Az eukarióta DNS szekvenciáinak csak mintegy 10%-ról tudjuk, hogy a fehérje kódok tárolásával, ill. a gének aktivitásának szabályozásával kapcsolatban milyen szerepet töltenek be. Ugyanakkor, a magasabbrendűeken belül már nem találunk szoros összefüggést egy-egy faj haploid genomjában a DNS mennyisége és a faj bonyolultsága között (16.1. ábra).



16.1. ábra. *A fajok genomjának mérete és az illető szervezet fejlettsége között laza összefüggés van.* A haploid genom nagysága a mikoplazmák és néhány növény, ill. kétéltű faj között 100 000x is különbözik egymástól. Ugyanakkor vegyük észre, hogy a humán genom számos primitívebb faj genomjánál kisebb.

A nagy genomot úgy kell felfogjuk mint – esetenként pazarló módon túladagolt – evolúciós nyersanyagot (l. 21. fejezet). Valószínűsíthető, hogy az alacsonyabbrendű eukarióták szintjén a genom nagyfokú átrendeződése, átalakulása ment végbe és még egy faj génjeinek száma sincs szoros összefüggésben annak fejlettségével. Pl. a *C. elegans*nak kb. 19 000 génje van, a *Drosophilá*nak csak 14 000, holott szervezetének összetettebb volta nyilvánvaló (sokkal fejlettebb idegrendszer, érzékszervek, harántcsikolt izom, trachea rendszer, hogy csak egy párat említsünk). A *C. elegans* génjeinek kb. 25%-a (még) policisztronális.

SZEKVENCIAFÉLESÉGEK AZ EUKARIÓTA GENOMBAN

Az eukarióta genomban – mint láttuk – nagy kópia-számban találunk fehérjét nem kódoló DNS szekvenciákat, melyeknek funkcióját csak részben ismerjük. Ezeket nevez-

zük ***ismétlődő szekvenciák***nak (*repetitive sequences*). Ezek teszik ki a genomnak kb. 30%-át, míg kb. 70%-ot adnak a ***nem-ismétlődő szekvenciák***[2] (*non-repetitive sequences*). Az ismétlődő szekvenciákon belül elkülönítjük az ún. ***nagy gyakorisággal ismétlődő szekvenciák***at (*highly repetitive-, high copy number sequences;* ezekből néhány ezertől több százezer példányt találunk haploid genomonként). Két típusukat különböztetjük meg:

1) a közvetlenül egymás után, ***tandem ismétlődő szekvenciák***

2) a genomban szabálytalanul ***szétszórt ismétlődő szekvenciák*** (*interspersed repetitive sequences*). Amint azt majd látni fogjuk, ezek a szekvenciák néhány mozgékony DNS elem származékai, amelyek igen nagy kópia-számig sokszorozódtak a humán genomban.[3]

NÉHÁNY FONTOSABB ISMÉTLŐDŐ DNS SZEKVENCIA

Apród DNS.[4] A leggyorsabban renaturálódó (l. 12. Fejezet) DNS frakciók tartoznak ide, rendszerint tandem ismétlődő sorozatokból állnak (16.2. ábra). Az ismétlődő elem 1-2 nukleotidtól néhány száz kb-ig terjedhet. Az ***apród DNS*** szekvenciák RNS-be nem íródnak át. Leggyakrabban a kromoszómák centromer régióinak közelében elhelyezkedő heterokromatinban találhatók. Ilyen pl. az emberi α-szatellita, amely kb. 170 bp-nyi hosszúságú ismétlődő elemekből áll, 5000-15 000 példány van belőle.

Bizonyos emlős fajokban egy-egy apród DNS-féleség az össz-DNS 10%-át is kiteheti, egész kromoszóma-karokat foglalhat el, az illető sejtekben több millió példány is jelen lehet. Evolúciós skálán mérve az apród DNS szekvenciák rendkívül gyorsan változnak. Meglepő mértékben különböző elrendeződést mutathatnak még ugyanazon humán sejt két homológ kromoszómáját összehasonlítva is.

---

[2] A DNS szekvencia meghatározások azt mutatják, hogy a ténylegesen egyedi szekvenciák száma kevés, de ha két rokon szekvencia között túl sok nukleotid párban van eltérés, akkor az alkalmazott kísérleti módszerek ezeket nem-rokon szekvenciaként mérik.

[3] Az ismert fehérjék génjei többnyire a nem-ismétlődő DNS szekvenciákhoz tartoznak, egy, vagy néhány példányban vannak jelen egy haploid genomban. Nagyobb példányszámban találjuk az rRNS-ek (emberi genomban kb. 200) és a hisztonok (kb. 10-20) funkcionáló génjeit. Ez utóbbiakat a ***közepes gyakorisággal ismétlődő szekvenciák***hoz soroljuk.

[4] Az apród (*satellite*) DNS kifejezés onnan származik, hogy ezeknek a frakcióknak a (G+C)/(A+T) aránya annyira eltérhet a DNS fő tömegének bázisösszetételétől, hogy az apród DNS egyensúlyi sűrűségi gradiens centrifugálás folyamán a DNS fő tömegétől különböző sűrűségű kisebb frakció(k) formájában jelenik meg. Az apród DNS csak névrokonságban van a kromoszómákon morfológiailag megkülönböztetett apródokkal.

SINE és LINE*[5] *szekvenciák. Ahogy az angol elnevezésükből kiolvasható, rövidebb és hosszabb nukleotid szekvenciák által alkotott csoportok gyüjtő nevei. A genomban elszórtan (nem tandem) találhatók (l. 10. és 13. fejezet). Jelentőségük csak az utolsó években vált nyilvánvalóvá.

16.2. ábra. *Apród DNS.* Az ábra egy egyszerű apród DNS szekvenciát mutat *Drosophila*ból, amely egy 7 bp hosszú szekvencia sorozatos egymás után következő (tandem) ismétlődéséből áll. A haploid genomban több millió példányban található.

A SINE legfontosabb képviselői az ún. *Alu* szekvenciák.[6] Az ép, nem deléciós *Alu* szekvencia hossza 281 bp, ami két hasonló szekvencia ismétlődését jelenti, ezt követi egy 20-30 bp adenozin farok. Jelentőségüket magyarázza egyrészt nagy kópia-számuk ([haploid] genomonként kb. 300 000), másrészt, hogy csak az emberben és a többi főemlősben fordulnak elő. A genom 9%-át teszik. Ha eloszlása teljesen egyenletes volna, párszor 1000 bp-ra jutna egy-egy példány (összehasonlításként: a hemoglobin β-láncának génje intronokkal és TATA boxszal együtt sincs 3000 bp!). CpG párokban gazdagok. Eloszlásuk a kromoszómák mentén jellegzetes, gyakoribbak a telomerikus R sávokban. Eredetük figyelmet érdemel. A 7SL RNS[7] génjéből származtak úgy, hogy a molekula középső része delécióra került (l. 13. fejezet). LTR-jük nincs, két végükön rövid, azonos irányú ismétlődés található. Bázissorendjükben lehetnek eltérések, deléciós alakjaik is vannak, hiányozhat a szekvencia 5', vagy 3' fele. Gyakoriságához képest az *Alu*-t ritkán találjuk kódoló szekvenciákban, több esetben fordulnak viszont elő gyorsító (*enhancer*) szekvenciák részeként, ahol DNS kötő fehérjék kapcsolódnak hozzájuk, az *Alu* szekvencia részt vesz az illető gének aktivitásának szabályozásában. Ahol kódoló szekvenciákban jelennek meg, rendszerint káros mutációkat eredményeznek (l. 13. fejezet).

Az *Alu*nak szerepet tulajdonítanak a szinaptonemális komplex (l. BiolJegyz. 12. fejezet) képződésekor (beleértve annak rendellenességeit), a komplementáris szekvenciák részeiként. Másrészt, ugyancsak a szekvenciák komplementaritása jóvoltából az *Alu*

---

[5] *Short Interspersed Element*, ill. *Long Interspersed Element*.

[6] Nevük onnan származik, hogy hasítási helyet tartalmaznak az *Alu*I restrikciós endonukleáz számára.

[7] Az endoplazmatikus retikulumon folyó fehérjeszintézisben a szignál-peptid felismeréséhez szükséges SRP [*Signal Recognition Particle*] részecske belső RNS-e (l.BiolJegyz 7.fejezet).

tartalmú hnRNS-eknek más a lehet térszerkezete és más lesz az intronok kivágódásának a folyamata, az átszabás is.

A LINE legjellegzetesebb képviselői az *L1* szekvenciák. Tipikus esetben 6500 bp hosszúak, 20 – 50 000 példányban vannak jelen, a genomnak szintén tekintélyes hányadát (7%) adják. A kromoszómák mentén gyakrabban találhatók a centromer közeli G sávokban.

Az *L1* szekvenciák retrotranszpozonok (l. 14. fejezet), melyekben két nyitott leolvasási keretet (ORF) is találunk. Ezek az RNS polimeráz II.-vel íródnak át, az RNS termék elég gyakran megfigyelhető emberi sejtekben a jelenben is. Ezek transzlációja révén reverz transzkriptáz és endonukleáz keletkezhetnek, melyek lehetővé teszik az újabb helyekre való beépülést a DNS mentén.

EVOLÚCIÓS SZEMPONTBÓL ROKON FAJOK DNS SZEKVENCIÁIBAN MEGKÜLÖNBÖZTETÜNK KONZERVÁLT ÉS NEM-KONZERVÁLT RÉGIÓKAT

Fontos felismerés volt, hogy míg a funkció nélküli DNS szekvenciák nukleotid sorrendje véletlenszerűen, gyakran (észlelhető fenotípus változások nélkül!) változik, mutál, ugyanakkor egy-egy sejt, ill. faj életképessége szempontjából nélkülözhetetlen szekvenciák az evolúció során konzerválódtak. A jelenség úgy vizsgálható, hogy az összehasonlítandó fajok analóg DNS szekvenciáit hasonlítják össze. Például, az egér és az ember fejlődése kb. 80 millió évvel ezelőtt kezdett szétválni egy emlős közös ősből kiindulva. Az azóta eltelt idő hozzávetőleg elegendő lett volna arra, hogy véletlenszerű mutációk eredményeként minden 3 nukleotidból 2 megváltozzék. Ezzel szemben sokszorosan igazolt tény, hogy a két emlős faj bizonyos szekvenciái alig térnek el egymástól. Ezt úgy magyarázhatjuk, hogy ezek a szekvenciák életfontos információt hordoznak az illető fajok számára (a gerincesek genomjának kb. 10%-a). Amikor ezek a szekvenciák szenvedtek mutációt, a keletkezett egyedek a természetes kiválogatódás folyamán kiküszöbölődtek a populációból. A közeli szekvencia-homológiát mutató régiókat nevezzük ***konzervált régiók***nak (*conserved regions*). A ***nem-konzervált régiók*** (*non-conserved regions*) szekvenciája kevésbé kritikus a sejt, ill. szervezet működései szempontjából. A konzervált régiók vagy exonok (l. alább), vagy szabályozó szekvenciák.

MIT NEVEZHETÜNK AZ EUKARIÓTÁKBAN GÉNNEK?

A gén fogalmával kapcsolatban 12. fejezetben részletesen tárgyalt szempontokon túlmenően az eukariótákban több olyan szabályszerűségre derült fény, amelyeket a gén fogalmának értelmezésénél figyelembe kell vegyünk.

Dupress

(*1*) A bakteriális gének tanulmányozása alapján a kutatók azt tartották természetesnek, hogy a génekben a fehérjék aminosavsorrendjét meghatározó nukleotidok folytonos sort képeznek. Bizonyítást nyert azonban, hogy az eukarióta gének DNS-e tartalmaz olyan szekvenciákat, amelyek másolata a fehérjeszintézist irányító mRNS molekulákban már nincs jelen, a polipeptid kód tehát nem folytonos, abban megszakítások vannak. A nem-kódoló szekvencia szakaszokat nevezték el ***intron***oknak, kódolókat pedig ***exon***oknak (l. alább). A genetikai információ kifejeződése ilyen körülmények között úgy válik lehetségessé, hogy a DNS-ről szintetizálódott elsődleges RNS kópiából (***hnRNS*** = *heterogeneous nuclear RNA*) az intronok kivágásra kerülnek. Ezt nevezzük az ***RNS átszabásá***nak (*RNA processing* and *splicing*).

(*2*) Az intron kivágás és az exon összekapcsolódás több mint egyféleképpen mehet végbe, ezáltal egy ugyanazon génről több, egymástól eltérő aminosav sorrendű fehérje fejeződhet ki. Ez a folyamat az ***alternatív átszabás*** (l. alább). A paradoxonért, miszerint a humán genom kb. 35 000 gént tartalmaz, szervezetünkben viszont kb. 100 000 fehérjét találunk, nagyrészt az alternatív átszabás tehető felelőssé.[8]

(*3*) Génjeink aktivitásának szabályozása – a szoros értelemben vett promotereken túlmenően – olyan szekvencia elemek segítségével valósul meg, melyek a kódoló szekvenciától akár 10 000 bp távolságra is lehetnek. Ezeket nevezzük ***serkentő-*** (***enhancer***), ill. ***gátló-*** (***silencer***) ***szekvenciák***nak (l. alább).

Az eukarióták vonatkozásában gyakran tekintjük a gént a DNS egy olyan szakaszának, amelyikről egy elsődleges RNS másolat (hnRNS) keletkezik. Ebben vannak a) exon-, b) intron szekvenciák, valamint c) 5′ vezető és 3′ uszály szekvenciák. Ilyen értelemben a géneket gyakran illetik az ***átírási egység*** (*transcription unit*) névvel is. Természetszerűen hozzá tartozik egy szekvencia-készlet, amely az átírás iniciációjához (*promoter*) és egy, amelyik a terminációhoz, a megfelelő 3′ vég kialakításához szükséges. Egy RNS polimeráz II által átírt tipikus gén szerkezeti elemeit láthatjuk a 16.3. ábrán.

Az eukariótákban nem számítanak ritkaságnak olyan nagy gének, melyek 100 kbp hosszúak (16.1. táblázat), de előfordulnak 2 millió nukleotid-párból álló gének is. Az átlag méretű fehérjék kódolásához hozzávetőleg 1 kbp-re van szükség (300-400 aminosav). Rendszerint az intronok teszik ki az átírási egységek nagyobb részét.

---

[8] Egy érdekesség: az U20 RNS (snRNS féleség, l. 12. fejezet) kódja (= struktúrgénje) a *nucleolin* (egy magvacskában működő fehérje) génjének egyik intron szekvenciájában foglal helyet. A *nucleolin* hnRNS átszabása folyamán válik szabaddá a 80 nukleotid hosszú U20 RNS. Ez utóbbi tehát olyan géntermék, aminek nincs önálló átírási egysége!

PSZEUDOGÉNEK ÉS IMMUNGLOBULIN GÉNEK

A magasabbrendű fajokban a DNS szekvenciáit megváltoztatni képes különböző enzimrendszerek működése eredményeként a genom kiterjedt változékonysága figyelhető meg.

A pszeudogének olyan DNS szekvenciák, amelyek hasonlítanak valamely működő génhez, de annak nem alléljei és nincsenek működőképes termékeik. Származhatnak valamely rekombinációs folyamatból, vagy a citoplazmatikus mRNS-ek reverz transzkripciójával. Inaktivitásuk oka lehet a promoter, vagy egyéb szabályozó szekvenciák hiánya, de tartalmazhatnak korai stop kodont, vagy rövidebb-hosszabb szakaszok delécióját. A rekombinációs eredetű pszeudogének tartalmazhatnak intront, a reverz transzkripcióval keletkezők intronmentesek, ezek a ***retropszeudogének, vagy átszabott pszeudogének*** (*processed pseudogenes*, l. 13. Fejezet).

16.1. táblázat. *Néhány humán fehérje génjének mérete* (kbp)

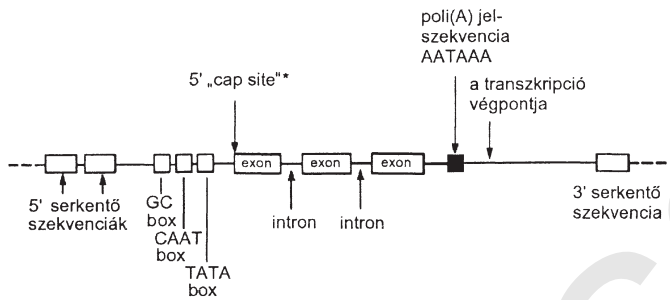
Fehérje	Gén méret*	mRNS méret	Intronok száma
β-Globin	1,5	0,6	2
Inzulin	1,7	0,4	2
Protein kináz C	11	1,4	7
Albumin	25	2,1	14
Kataláz	34	1,6	12
LDL receptor	45	5,5	17
VIII. faktor	186	9	25
Thyroglobulin	300	8,7	36
Disztrofin**	2500	17	75 (?)

* A feltüntetett méretek magukban foglalják mind az RNS-be átíródó, mind a strukturgén közelében található szabályozó DNS szekvenciákat is.

** Ennek a fehérjének a megváltozása okozza a Duchenne szindrómát (l. 5. fejezet)

Az immunglobulinok génjeinek kialakulásakor az egyed limfoid őssejteiben a DNS szekvenciák irányított, fajlagos rekombinációja megy végbe. Az ilyen folyamatokat nevezzük ***szomatikus rekombináció***nak (l. 14. fejezet).

DUPress



16.3. ábra. *Eukarióta átírási egység jellegzetes komponensei.* A polipeptid kódot hordozó szekvenciákat (exonok) peptid kódot nem hordozó intronok szakítják meg. A kódoló részek 5' végén találjuk a promoter régiót az átírás iniciációjához szükséges szekvenciákkal. Ilyen a TATA szekvencia, valamint a CAAT és GC szekvenciák. Az átírási egység szabályozott működéséhez az ún. serkentő (*enhancer*) szekvenciákra is szükség van. Ezek a promoterhez képest akár 5', akár 3' irányban helyet foglalhatnak, esetenként az átírási egységtől sok kbp távolságra is. Az egység 3' vége felé található AATAAA szekvencia irányítja, hogy hol legyen a poli(A) farok szintézisének kezdőpontja a képződő RNS-en.

* *Cape site* = az 5' „sapka" képződésének, vagyis a hnRNS szintézisének kezdőpontja (l. alább).

Az RNS szintézise és érési folyamata az eukariótákban

Az eukarióta sejtben zajló szabályozási folyamatok megértéséhez nélkülözhetetlen annak a szupramolekuláris struktúrának, a kromatinnak az ismerete, amiben a DNS található. Ennek részleteit a 10. fejezetben találjuk.

A DNS egyik alapvető funkciója, hogy templátként szolgáljon az RNS szintéziséhez, mert csak ezen az úton válik a sejt számára hasznosíthatóvá a benne tárolt genetikai információ. Az RNS szintézise igen intenzív folyamat, az össz-RNS szintézis sebessége kb. 20x nagyobb az interfázisban, mint a DNS szintézise az S fázisban. Az RNS szintézisét ***átírás***nak (*transcription*) nevezzük. A transzkripció igen szelektív folyamat, a legtöbb emlős sejtféleségben a citoplazmában funkcionáló mRNS-ek a DNS kb. 1%-áról származnak. A szelektivitás két szinten érvényesül: (*1*) A DNS szekvenciáknak csak egy része íródik át RNS-be, és (*2*) a sejtmagban szintetizálódó RNS-nek csak egy kis része éli túl az RNS érési folyamatait, amelyek megelőzik az RNS exportját a citoplazmába.

DUPLÁSS

EUKARIÓTÁKBAN HÁROMFÉLE RNS POLIMERÁZ ENZIM MŰKÖDIK

A háromféle enzimet RNS polimeráz I, II és III-mal jelölik. Ezek szerkezetileg hasonlítanak egymáshoz, vannak közös fehérje alegységeik, míg az egyéb alegységek az egyes alakokra fajlagosak. Egy RNS polimeráz fajtában kb. 10 féle alegység van. Az ***RNS polimeráz II*** írja át a struktúrgéneket, amelyek a fehérjék kódjait tartalmazzák, valamint az snRNS-eket (l. alább). Az ***RNS polimeráz I*** szintetizálja az rRNS-eket, az ***RNS polimeráz III*** pedig a kis molekula-tömegű stabil RNS-ek egyes fajtáit, mint amilyenek az 5S rRNS, a tRNS, 7SL RNS és az emberi genomban fontos *Alu* szekvenciákat (utóbbit l. 13. fejezet). Az alábbiakban az RNS polimeráz II működését tárgyaljuk bővebben.

AZ RNS SZINTÉZIS INICIÁCIÓJÁNAK LÉPÉSEI

Ahogy azt a 16.6. ábra mutatja, az RNS szintézis szempontjából az átírási egységet három féle szerkezeti elem alkotja: 1) a peptid kódot tartalmazó ***exonok***, 2) a promoter és az annak lényegi részét képező ún. ***TATA szekvencia*** (*TATA box*), és 3) a különböző (gyakran távoli) ***serkentő***, ill. ***gátló szekvenciák*** (*enhancer*ek, ill. *silencer*ek)[9]. A szintézisben résztvevő fehérjék ugyancsak 3 csoportba sorolhatók: a) a sok alegységes RNS polimeráz holoenzim, b) ún. ***általános transzkripciós faktorok*** (rövidítésük: TF, ill. az RNS polimeráz II esetén TFII), valamint c) a különböző génszabályozó ***DNS kötő fehérjék***[10] (l. alább).

Időben a génaktivitás megváltozásának folyamata[11] a szabályozó fehérjék megjelenésével kezdődik, amelyek a TATA szekvenciától rendszerint távolabb elhelyezkedő serkentő, vagy gátló jellegű DNS szekvenciákhoz kötődnek. Ezek irányítják az általános transzkripciós faktorok lekötődését a TATA szekvenciához. A harmadik lépésben megy végbe az RNS polimeráz holoenzim kötődése a megfelelő DNS szekvenciákhoz és az RNS szintézis megindulása.

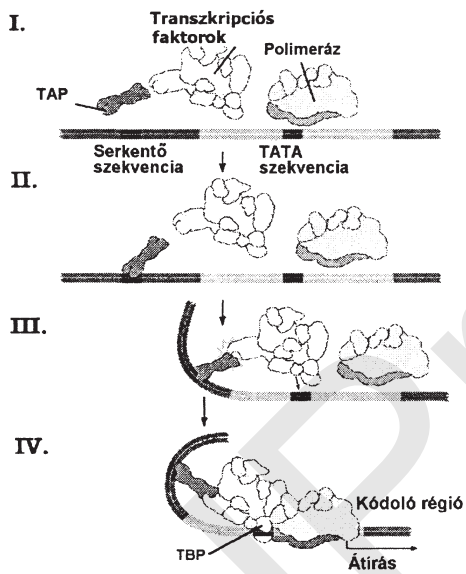
---

[9] A szabályozó szekvenciák elhelyezkedése az átírási egységekhez képest nem kritikus. Helyet foglalhatnak a géntől 5' (*upstream*) és 3' (*downstream*) irányban. Orientációjuk nem kritikus, ha kísérletileg a szekvenciákat a DNS-ből kivágják, majd az 5'-3' irány szerint fordítva visszaillesztik, aktivitásuk megmarad.

[10] Angol rövidítése TAP (*Transcription Activator Protein*).

[11] A bonyolultnak tűnő fogalmazás nem véletlen. Egy eukarióta sejtmagban lezajló folyamatok rendkívül összetettek. Eredményük lehet aktiválás és gátlás egyaránt. Ugyanazon szabályozó fehérje más génen, vagy más szabályozó fehérjékkel kombinálódva egy korábbi állapothoz képest pont ellentétes hatást is létrehozhat.

Ez a szabályozó rendszer igen elasztikus, a génaktivitás szabályozásának igen nagy változatosságát biztosítja. A 16.7. ábra olyan esetet mutat, melyben egy struktúrgén kétféle aktivátor fehérje szabályozó hatása alatt áll, amit két serkentő DNS szekvencia jelenléte biztosít. A 16.8. ábrán viszont olyan esetet látunk, ahol két gén egy ugyanazon serkentő szekvencián keresztül szabályozódik két, egymással versengő aktivátor fehérje jóvoltából.



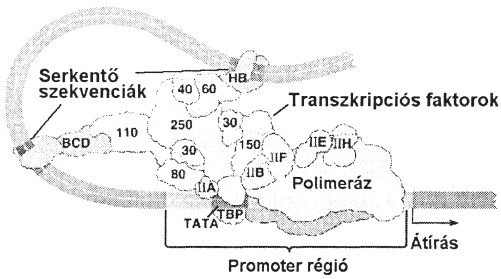
16.6. ábra. *Az RNS szintézis iniciációja RNS polimeráz II-vel.* Először a DNS-kötő szabályozó (TAP) fehérje kötődik egy, az átírási egységtől távolabb elhelyezkedő serkentő (*enhancer*) szekvenciához. Ez szervezi a sok alegységből álló transzkripciós faktorok (TF), közöttük a TBP[12] lekötődését a TATA szekvenciához. Ezek jelenlétében kötődik be az ugyancsak sok alegységes RNS polimeráz II és indulhat meg az RNS átírása. Figyeljük meg, hogy a DNS molekula térbelileg is hajlik, hurkot képez az iniciációs komplex kialakulása közben.

Az RNS szintézis indításához a polimeráz I és III is igényel általános transzkripciós faktorokat, ezek azonban különböznek a polimeráz II faktoraitól. Itt a promoterben nem TATA szekvencia szerepel. A polimeráz I a magvacskában működik, igen nagy sebességgel. Az emberi rRNS gén 200 példányban van jelen a sejtben. Az elsődlegesen átíródott termék (pre-rRNS, vagy 45S rRNS prekurzor) itt is bonyolult átszabási folyamaton megy keresztül, mielőtt az rRNS végtermékek a riboszómákba beépülnek.

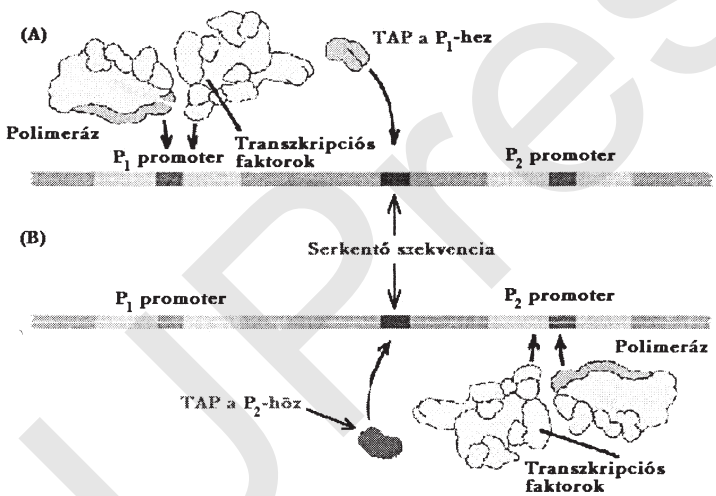
Az RNS polimeráz III által átírt gének promotere érdekes módon a génen belül, az átírás kezdőpontjától 3′ irányban található. Ezeket a DNS szekvenciákat hívják ***belső szabályozó régiók***nak (*internal control regions*, ***ICR***). Az RNS polimeráz III is 10-15 alegységből áll. Két nagyobb alegységének aminosav-sorrendje hasonlít a polimeráz II és I alegységeinek aminosav sorrendjére. Említést érdemel az RNS polimeráz III egyik transzkripciós faktora, amely 9 cink-ujjat tartalmaz (l. alább).

[12] TBP = *TATA binding protein.*

DUPLIS



16.7. ábra. *Kétféle szabályozó fehérje együttes kontrollja alatt álló átírási egység*, melyhez két serkentő szekvencia is tartozik. Láthatjuk, hogy a promoter régió hosszabb DNS szakasz, melynek egy részét képezi a TATA szekvencia. A gén a *Drosophila melanogaster* egyedfejlődésében meghatározó. A *bicoid* (BCD) és *hunchback* (HB) gének termékei azok a szabályozó fehérjék, amelyek a pete feji, ill. farki végének kialakulását meghatározzák. (A transzkripciós faktorok szimbólumaiba írt számok azok molekulatömegét jelentik kilodaltonban.)

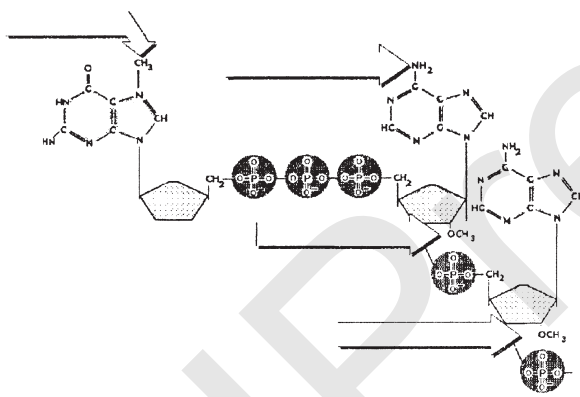


16.8. ábra. *Ugyanazon serkentő szekvencia kontrollja alatt álló két különböző átírási egység.* Az az RNS-féleség fog átíródni, amelynek szabályozó (TAP) fehérjéje jelen van. A két átírási egység a csirke embrionális, ill. kikelés utáni hemoglobin β-láncának szintézisét szabályozza.

DUPress

AZ mRNS-EK PREKURZORAI MINDKÉT VÉGÜKÖN KOVALENS MÓDOSULÁST SZENVEDNEK.

Az eukariótákban az mRNS-ek többlépcsős érési folyamat eredményei. Az RNS polimeráz II által készült elsődleges kópiákat nevezzük ***hnRNS***-nek (*heterogeneous nuclear RNA*). Ahogy ezek a molekulák megszintetizálódnak, mind 5′, mind 3′ végük kovalensen módosul. A citoplazma fehérjeszintetizáló rendszere ezek révén ismeri fel a fehérje kódokat hordozó mRNS-eket. Az 5′ végen ***5′ sapka*** (*cap*) képződik (16.9. ábra, ennek a struktúrának az alapján nevezik az RNS szintézis kezdő pontját *cap site*-nak). Az 5′-sapka szerepet játszik a fehérjeszintézis iniciációjában, valamint védi az mRNS-t a nukleázokkal szemben.



16.9. ábra. *5′ sapka az RNS polemráz II által szintetizált RNS-eken.* A sapka az 5′ vég első nukleotidjának többszörös kémiai modifikációja útján keletkezik. Szerkezete esetenként a nyilakkal jelzett helyeken kisebb eltéréseket mutathat. A másik két polimeráz féleség (I és III) által szintetizált RNS-eken nem képződik ez a struktúra.

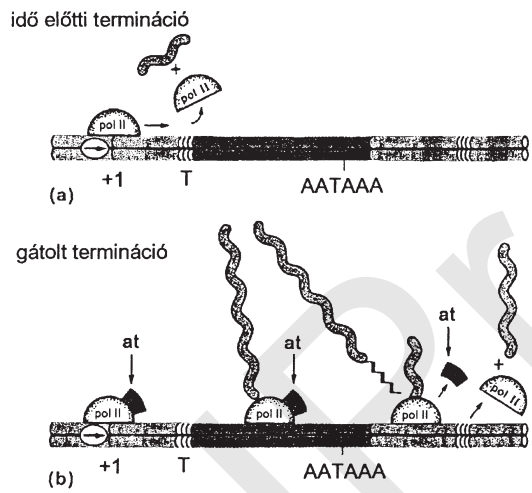
A hnRNS-ek 3′ végét nem az átírás terminációja definiálja, hanem egy utólagos modifikáció. Ennek során a növekvő hnRNS egy fajlagos helyen hasítódik, majd a hasított véghez egy ***poli-A farok*** (*poly-A tail*) szintetizálódik (16.10. ábra).

A poli-A faroknak több feladata van: (*1*) szükség van rá a mRNS magból történő exportjához (l. alább), (*2*) legalábbis bizonyos mRNS féleségek esetén növeli azok élettidejét a citpolazmában, (*3*) segít abban, hogy a riboszómák felismerjék az mRNS-t; a riboszóma számára a poli-A farok képezi a szignált (az 5′-sapkával együtt), hogy az mRNS ép, lehet róla intakt fehérjét szintetizálni.

DUPress

Az mRNS kialakulása; a hnRNS átszabása (RNA processing and splicing)

Az RNS polimeráz II által szintetizált hnRNS a sejt össz-RNS *szintézisének* több, mint felét adja, de a molekulák legnagyobb része a sejtmagon belül nagyon hamar lebomlik, így a sejt össz-RNS *tartalmának* csak nagyon kis hányadát képviseli, csak igen kis részéből válik a citoplazmában funkcionáló mRNS.



16.10. ábra. *Az RNS polimeráz II által szintetizált hnRNS terminációjának modellje.* (a) Az RNS polimeráz II az átírási egység mentén T-ben gazdag szekvenciáknál bárhol hajlamos leválni, és a lánc szintézisét befejezni. (b) Az enzimhez egy ***at***-vel jelölt antiterminációs faktor kapcsolódik, ami a leválást akadályozza. Az ***at*** az AATAAA szekvenciánál ledisszociál a polimerázról, így az a következő T-ben gazdag szekvenciánál le fog válni a DNS templátról. Ez az AATAAA szekvenciától több kbp távolságra is lehet. A képződő 3' végen a poli-A polimeráz megkezdi a kb. 100-200 bp hosszú poli-A farok szintésiét.

HOGYAN MEGY VÉGBE A NEM KÍVÁNT RÉSZEK TÖRLÉSE A hnRNS-BŐL?

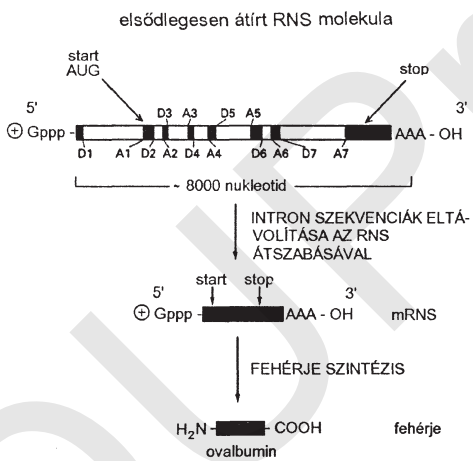
Eukariótákban az újonnan szintetizálódó hnRNS rögtön fehérjetartalmú részecskékké kondenzálódik, melyek némileg a nukleoszómákra emlékeztetnek. A hnRNP részecskék kb. 20 nm átmérőjűek, fehérje-részük összetett, legalább 8 féle fehérjéből áll. A hisztonok mellett ezek a leggyakoribb magfehérjék. Van bennük egy 80 aminosavnyi konzervált szekvencia, amely többször ismétlődhet, és más RNS kötő fehérjékben is megtalálható. A hnRNS mentén egy másféle részecskét is észrevehetünk. Az ilyen részecskék stabilabbak, mint a fent leírtak, és az exon-intron átmeneteknél képződnek. Ahogy az új

RNS lánc növekszik, ezek a részecskék kettesével kapcsolódnak össze, ezeket nevezik intron kimetsző (RNS átszabó) komplexeknek (*spliceosome*).

A sejtmagok több olyan ribonukloproteid testecskét tartalmaznak, melyek snRNS[13] és fehérjék összekapcsolódásából keletkeznek. A részecskék rövidített neve ***snRNP*** (*small nulcear ribonucleoprotein*). Leginkább a riboszómákra emlékeztető struktúrák, de azoknál sokkal kisebbek. Az egyes snRNP féleségek egy-egy fajlagos RNS szekvenciát képesek felismerni RNS-RNS bázispárosodás útján. Ezek irányítják az ***RNS átszabás***át (*splicing*).

Az átszabást végző részecskék egyes sejtféleségekben nagyobb, már fénymikroszkóposan is látható képletekké állnak össze. Ezeket hívják RNS érlelő szigeteknek (*splicing island*-oknak). Leginkább a magvacskákhoz lehet őket hasonlítani. Kialakulásuk pontos oka nem ismert.

Az RNS átszabás eredményeként a hnRNS-ből kivágásra kerülnek az intronok és kialakulnak az 5'-sapkával, valamint poli-A farokkal bíró, fehérjeszintézisre kész mRNS molekulák (16.11. és 16.12. ábra).



16.11. ábra. *A házityúk ovalbumin génjéről átírt hnRNS átszabási folyamatának vázlata.* A séma mutatja a gén hét intronjának megfelelő RNS szekvenciák nagy pontosságú kivágását és eltávolítását, ami működőképes mRNS kialakulásának előfeltétele. Az 5' átszabási helyek („*donor*" helyek) D1-D7-tel, a 3' átszabási helyek („*acceptor*" helyek, l. 16.12. ábra) pedig A1-A7-tel vannak jelölve. A „start" és „stop" jelek a (később végbemenő) ovalbumin szintézis kezdő és végpontjainak helyére mutatnak.

Az intronok kivágódásának tanulmányozása szolgált a modern molekuláris biológia másik nagy meglepetésével. Bár a magasabbrendű eukariótákban az RNS átszabása a fentebb leírt, összetett, és sokféle fehérjét tartalmazó struktúrákban megy végbe, 1980-ban

[13] Az snRNS olyan kis molekulatömegű RNS-ek neve (*small nuclear RNA*), melyek néhány száz nukleotid hosszúságúak, a sejtmagban végbemenő különböző biokémiai folyamatokban vesznek részt, életidejük hosszú, több sejtosztódási cikluson keresztül stabilak. Az egyes szekvencia-féleségeket U1, U2, ... U20 jellel illetik. A citoplazmában is funkcionálnak kis molekula-tömegű RNS-ek (pl. a 7SL RNS), melyeknek biokémiai sajátságai az snRNS-ekéhez hasonlítanak.

DUPress

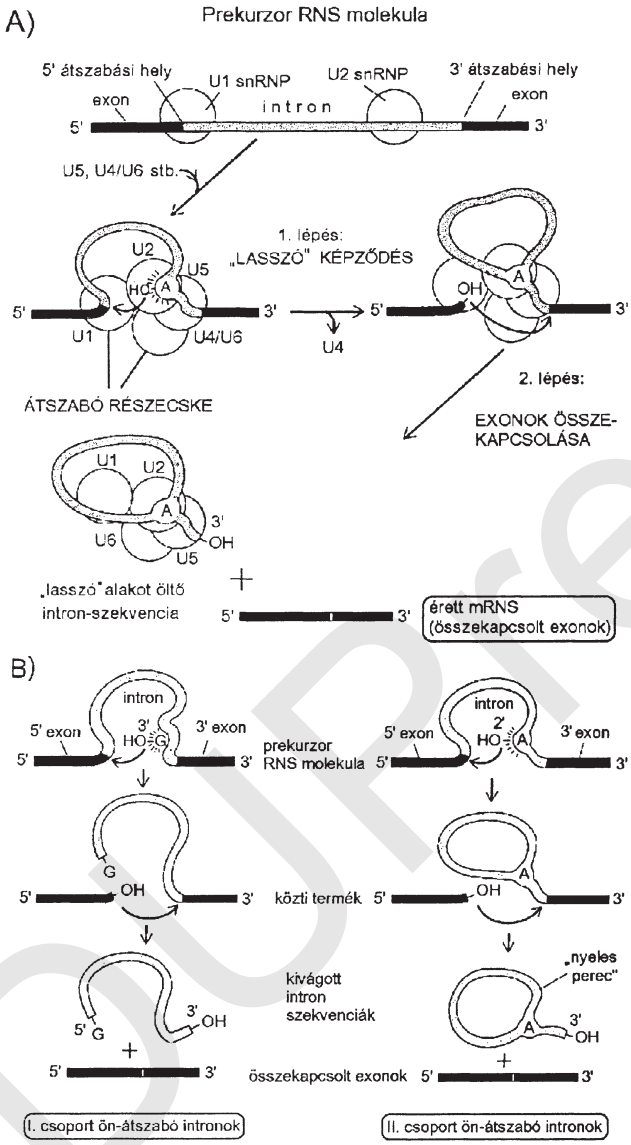
megfigyelték, hogy egyes intronok kivágásához nincs szükség fehérjére, az intron RNS katalizálja saját kivágódását, enzimként viselkedik, ezért azt megkülönböztetésül *ribozyme*-nak nevezik (l. 12. fejezet).

Minden alapunk megvan feltételezni, hogy a magasabbrendűek átszabási mechanizmusa [16.12. ábra, A)] az ősibb önkivágódási folyamatból fejlődött. Bizonyára szelekciós előnyt jelentett az snRNP-k részvételével végbemenő RNS átszabás. Míg az önkivágó intronok szekvenciája kritikus, és azok mutációja zavarokat okoz az átszabási folyamatban, a magasabbrendűek intron-szekvenciái kevésbé konzerváltak, mint az alacsonyabbrendűeké.

Az intronok 80-10 000 (néha még több) nukleotid hosszúak is lehetnek. Az exonoktól eltérően, az intronok pontos szekvenciája a sejt funkciói szempontjából nem meghatározó. Maga az intronok közbejöttével történő információ tárolás viszont megkönnyíti a változatképzést, így szelekciós előnyt jelent (l. 14. fejezet). Nagymértékben konzerváltak viszont az exon-intron határok szekvenciái. Az RNS törése és újraegyesítése nagy pontossággal kell hogy történjen, mert egyetlen nukleotid elcsúszás is keretteltolódást eredményez a fehérjeszintézisben.

Bár, ahogy azt majd látni fogjuk, meghatározott körülmények között ugyanazon hnRNS molekulából az átszabási folyamatok különbözősége miatt több mint egyféle mRNS is keletkezhet, mégis, általában az átszabás nagy pontossággal történik. Az exonok nem vesznek el, és nem cserélődnek össze, még egy több mint 70 intront tartalmazó hnRNS molekula mentén is pontosan találják meg egymást a szomszédos donor és acceptor helyek (16.13. ábra, ill. l. disztrofin, 5. fejezet).

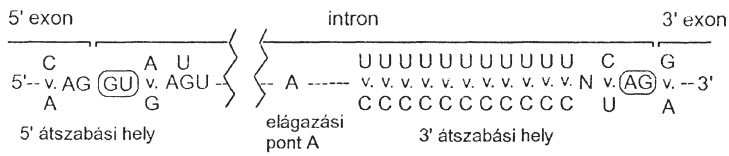
DUFTES



16.12. ábra. *A hnRNS átszabásának mechanizmusa.* A) Magasabbrendűekben az RNS átszabását RNS kimetsző komplexek (*spliceosomes*) végzik. (Az intron-kimetsző komplex ülepedési állandója 60S, olyan nagy, mint a nagyobb riboszomális alegység.) A komplexek snRNP-kből szerelődnek össze. Az intron-kimetsző komplexekben az U1, U2, U5, valamint az U4/U6 snRNS-féleségek találhatók. A reakció két lépésben megy végbe: 1) az intron-szekvenciában, annak 3' végéhez közel található, később elágazási pontot képező adenin nukleotid katalitikusan támadja az intron 5' átszabási végpontját (*splice site*, ill. *donor site*), és azt hasítja. A folyamat eredményeként az 5' vég kovalensen hozzákapcsolódik az adenin nukleotidhoz. 2) az első exon szabaddá váló 3'-OH vége hozzákapcsolódik a második exonhoz, miközben az intron 3' vége is hasad (*acceptor site*). A két exon tehát egyesül, az intron pedig „lasszó" alakjában kiszabadul.

B) Az ön-átszabásra képes intron szekvenciák két osztálya: az I. csoportba tartozó intronok meghatározott pozícióban egy szabad guanin nukleotidot kötnek meg, és ez fogja – mintegy prosztetikus csoportként – az átszabási folyamatot megindítani. A II. csoportba tartozó intronokban a folyamat hasonlóan zajlik, mint ahogy azt az A) pontban láttuk. Itt az intron 3' vége közelében az RNS lánc részét képező adenin a „prosztetikus csoport".

PURPOSE

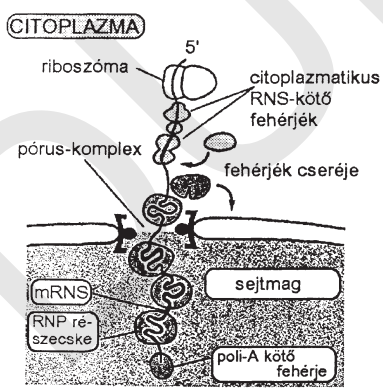


16.13. ábra. *Magasabbrendű eukarióták RNS átszabásának konszenzus szekvenciái.* A majdnem mindig változatlan 5' GU és 3' AG dinukleotidok be vannak keretezve. (v.= vagy.)

A HÍRVIVŐ RNS-EK NEM JUTHATNAK KI A CITOPLAZMÁBA, AMÍG AZ ÁTSZABÁS FOLYAMATA BE NEM FEJEZŐDIK.

Jelen tudásunk szerint az elkészült mRNS molekulákat fajlagos receptor fehérjék ismerik fel a magpórusokban (l.BiolJegyz. 9. fejezet), és azok aktív transzport mechanizmus révén kerülnek ki a citoplazmába. Ugyanakkor a hnRNS átszabásában résztvevő fehérjéket mindig a magban találjuk. Ezeknek egyes képviselői kijutnak a citoplazmába a mRNS molekulákkal együtt, de ott hamarosan leválnak azokról, és visszakerülnek a sejtmagba (16.14. ábra).

Élesztő sejteken kimutatták, hogyha egy hnRNS féleség átszabási folyamata mutáció következtében zavart, akkor az az RNS nem hagyja el a sejtmagot. Ez a megfigyelés azt sugallja, hogy az intron kimetsző komplexek, ill. az ezek összeszerelődéséből kialakuló *splicing island*-ok „tartják fogva" a nem helyesen/teljesen átszabott hnRNS-eket.



16.14. ábra. *mRNS transzportja a sejtmag pórusain keresztül.* Az ábra azt mutatja be, hogyan cserélődnek le az mRNS-hez kapcsolódó fehérjék, amíg az kivándorol a sejtmagból.

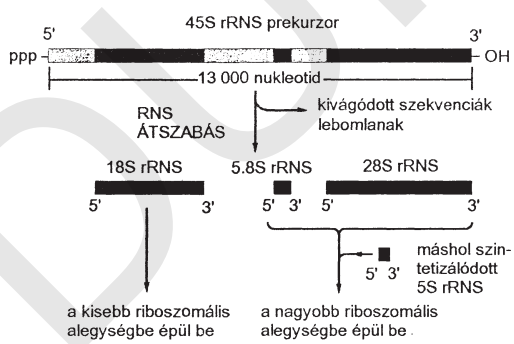
DUPRESS

A RIBOSZOMÁLIS RNS MOLEKULÁK EGYMÁS UTÁN ISMÉTLŐDŐ AZONOS GÉNEKRŐL ÍRÓDNAK ÁT

A differenciálódott sejtekben még a viszonylag nagy mennyiségben jelen lévő fehérjék is olyan génekről származnak, amelyek a haploid genomban egy példányban fordulnak elő. Ezt az teszi lehetővé, hogy egy-egy mRNS molekuláról percenként kb. 10 molekula fehérje szintetizálódik, és ha az mRNS molekula stabil, 10 000 fehérje molekula is képződhet róla. Az rRNS esetén, ahol az RNS átírás eredménye maga a végtermék, a fenti sokszorozó lépés hiányzik, ugyanakkor egy eukarióta sejtben az egyes rRNS féleségből 10 millió példányra van szükség.

Ezzel magyarázhatjuk, hogy az rRNS gének ismétlődő szekvenciák, melyekből pl. a haploid humán genomban összesen kb. 200 példány található az akrocentrikus (13, 14, 15, 21 és 22) kromoszómák ***nukleolusz organizátor régió***iban (***NOR***). Az egymás után ismétlődő (13 kbp hosszú) gének között átírásra nem kerülő, helykitöltő (*spacer*) DNS szekvenciák is találhatók. Az rRNS géneket az RNS polimeráz I enzim írja át nagy intenzitással, egy rRNS génen általában egyszerre 100 polimeráz molekula működik. A pre-rRNS molekula is átszabásra kerül (16.15. ábra). A 120 nukleotidnyi hosszú 5S rRNS génjei (emberben 2000 példány) a nukleolusz organizátor régióktól távol, egymás végében ismétlődnek, az 1. kromoszómán. Ezeket az RNS polimeráz III írja át.

A 45S rRNS-hez fehérjék kötődnek már annak szintézise közben. Ezek részben maguk a riboszomális fehérjék, másrészt az U3 snRNP és a *nucleolin* nevű fehérje, melyek valószínűleg a riboszómák összeszerelését segítik. A riboszómák érési folyamata csak a citoplazmába történő export után fejeződik be, a magban nem kezdődhet el a fehérjeszintézis.



16.15. ábra. *A 3 féle rRNS végtermék kialakulása a 45S rRNS prekurzorból.* Az elsődlegesen átíródott RNS szekvenciának közel fele degradálódik. Figyeljük meg, hogy az 5S rRNS szekvencia nem ebből a prekurzorból származik, génje – emberben – az 1-es kromoszómán van. (Tájékoztatásul: a 28S rRNS 5000, a 18S rRNS 2000, az 5.8S rRNS pedig 160 nukleotid hosszúságú.)

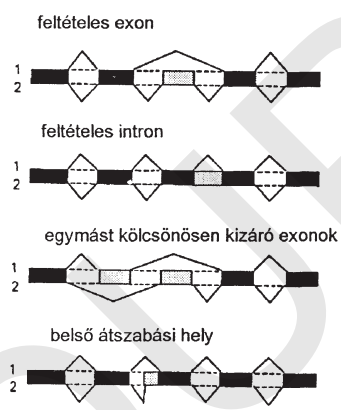
DuPress

A hnRNS alternatív átszabásával ugyanazon génről különböző fehérje-termékek keletkezhetnek

Bár a fentiekben azt láttuk, hogy a hnRNS átszabása nagy pontossággal végbemenő folyamat, gyakran tapasztalhatjuk, hogy egy adott hnRNS molekula több mint egyféle érési folyamaton is áteshet (16.16. ábra), melynek eredményeként végül különböző polipeptid termékeket kaphatunk. Ezt a jelenséget nevezzük ***alternatív RNS átszabásnak*** (*alternative RNA splicing*).

A folyamat eredményeként esetenként nagyszámú, különböző fehérje is keletkezhet ugyanarról a hnRNS-ről (16.17. ábra), bár az a gyakoribb, ha csak néhány egymástól eltérő fehérjetermék van.

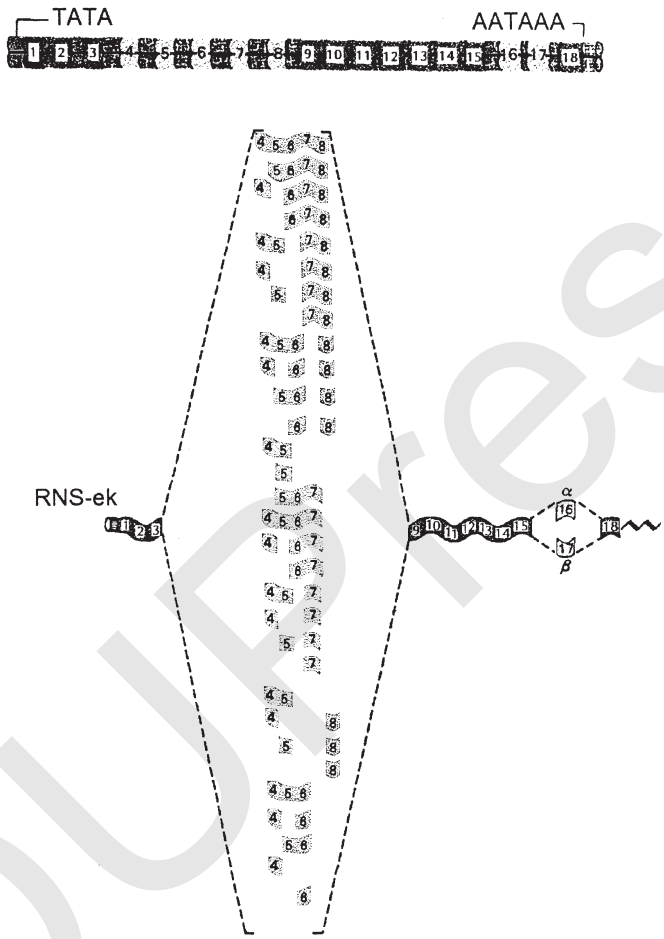
Az alternatív átszabás oka lehet a donor, ill. akceptor szekvenciák olyan többszörözött volta, melyek között az intron kimetsző komplexek nem tudnak differenciálni. Ilyen esetben minden sejtféleségben a fehérje termékek keverékét kapjuk, ahol csak a gén egyáltalán kifejeződik.



16.16. ábra. *Az alternatív RNS átszabás négyféle lehetősége.* Mind a négy esetben 2 különböző mRNS képződhet ugyanabból a hnRNS-ből. A fekete téglalapok olyan exon szekvenciákat jelölnek, amelyek mindkét féle mRNS-ben azonosak lesznek, míg a szürkével jelzett szekvencia-részek csak az egyik mRNS végterméknek válnak részeivé. A fehér téglalapok felelnek meg a kivágásra kerülő intronoknak.

Más esetekben az alternatív átszabás szabályozott mechanizmus szerint megy végbe a donor, vagy akceptor helyekre ható fajlagos fehérjék révén, és annak eredménye sejt- (szövet-) specifikus lesz. Jó példája ennek az *src* gén (l. 17. fejezet). Ennek terméke egy fehérje kináz féleség, amely – az alternatív átszabás jóvoltából – az idegszövetben különbözik az egyéb szövetféleségekben megjelenő kináztól. Az idegszövetben keletkező mRNS eggyel több exont, a fehérje végtermék pedig eggyel több foszforilálható aminosav maradékot tartalmaz és az enzim fajlagos aktivitása is magasabb lesz.

DUPress



16.17. ábra. *Különböző troponin T mRNS-ek képződése alternatív átszabás útján.* Az 5'- és 3' végek egyformák lesznek. A 16. és 17. exonok variációit is figyelembevéve $2 \cdot 32$ mRNS-féleség keletkezik attól függően, hogy a 4-8 exonok milyen kombinációban maradnak benne a kész mRNS molekulákban.

DUPress

Ugyancsak nagy eltérések észlelhetők olyan értelemben, hogy neha az egy hnRNS-ből képződő fehérjék jelentősen különböznek egymástól. Gyakoribb, hogy a keletkezett fehérjéknek a szerkezete és a funkciója is hasonló lesz egymáshoz. Ezeket ***fehérje izoformák***nak (*protein isoforms*) nevezzük. Az emberi génkészlet feltérképezése nagy mértékben alátámasztotta az alternatív átszabás jelentőségét. A paradoxont, hogy genomunkban „csak" kb. 35 000 gént találtak, testünkben viszont kb. 100 000 féle fehérje, nagyrészt ezzel tudjuk magyarázni.

Az *src*, ill. a troponin gének alternatív átszabása olyan példákat képvisel, ahol az átszabás eredménye előnyös, vagy éppen életfontos a sejt számára. Ugyanakkor, a talaszszémiák különböző formái esetén a β-globin hnRNS alternatív átszabással létrejövő formái súlyos, örökletes vérszegénység betegséget okoznak (l. 13. fejezet).

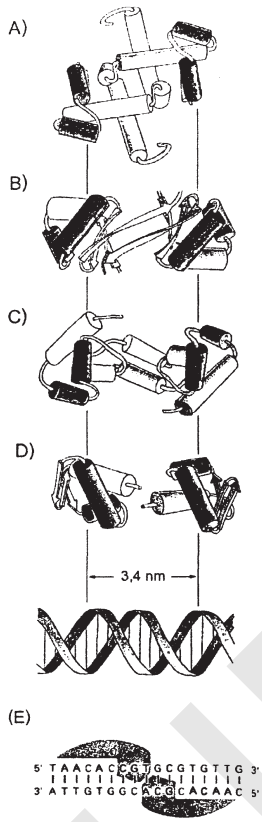
A gének aktivitását szabályozó fehérjék

Amint fentebb láttuk, az eukarióta gének aktiválódásában kulcsszerepet játszanak azok a szabályozó fehérjék, amelyek az átírási egységektől kisebb-nagyobb távolságra elhelyezkedő szabályozó DNS szekvenciákhoz kötődve megindítják az RNS szintézis iniciációját. A ***gén-aktiváló fehérjék***nek DNS szekvencia felismerő motívumaik szerint többféle típusuk ismert:

♠ A ***helix-turn-helix fehérjék***et először baktériumokban ismerték fel, azóta több száz prokarióta és eukarióta DNS-kötő fehérjéről mutatták ki, hogy ebbe a csoportba tartozik. Jellemző rájuk két α-helikális polipeptid láncszakasz, amelyeket egy rövid, szerkezetbe nem rendeződött aminosav-szekvencia köt össze, ezt jelöli az angol itt a „*turn*" szóval. A két, egymáshoz képest határozott szögben álló helikális szakasz közül a C-terminális hélixet nevezik „felismerő hélix"-nek, amely a DNS nagy barázdájába illeszkedik. Az idetartozó fehérjék dimerként funkcionálnak, és a kialakuló negyedleges struktúrában a két felismerő hélix 3,4 nm-re van egymástól. Ez megfelel két szomszédos nagy barázda távolságának a kétszálú DNS-ben (16.18. ábra). A fehérjék által felismert DNS szekvenciák többnyire szintén szimmetrikusak (16.18.E ábra).

♠ A hélix-turn-hélix fehérjékhez nagyon hasonló szerkezetet mutatnak az egyedfejlődés szabályozásában oly fontos szerepet játszó ***homeobox fehérjék*** (16.19. ábra).

DuPress



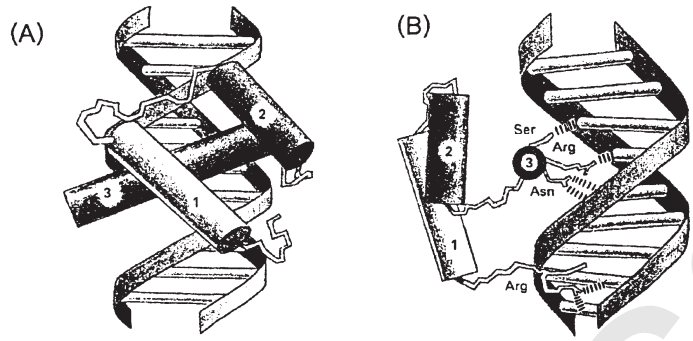
16.18. ábra. *Néhány helix-turn-helix DNS-kötő fehérje.* Az itt feltüntetett szabályozó fehérjék prokarióta eredetűek. A) Triptofán represszor. B) λ cro[14] fehérje. C) λ represszor fragment. D) CAP fragment. A fehérjék sötét színnel feltüntetett α-hélix szakaszai vesznek részt a DNS-hez való kapcsolódásban, melyeket a rendezetlen aminosav lánc („turn") köt össze. E) A kötődés fajlagosságát a DNS részéről annak szimmetrikusan szemben haladó (palindróma) szekvenciája biztosítja (a feltüntetett szekvenciához a B-vel jelölt λ cro fehérje képes fajlagosan kötődni).

♠ A ***cink-ujj*** (*zinc-finger*) ***fehérjék*** nevüket onnan kapták, hogy a szerkezetüket jellemző korai vázlatok ujjainkhoz hasonló formákat véltek bennük felfedezni. Az egyik típusukban a cink egy α-hélixet és egy β-lemezt köt össze. Az α-helikális rész illeszkedik a DNS nagy barázdájába. Ebből a cink-ujjból több modul is kapcsolódhat egymás után (pl. az RNS polimeráz III átírási faktorának 9 „ujja" van). Ezáltal a duplaszálas DNS nagy barázdájának tekintélyes hosszúságú szakasza lehet a cink-ujjak α-hélixeivel kölcsönhatásban. Ez mind a kötéserősséget, mind a fajlagosságot nagymértékben fokozhatja (16.20. ábra).

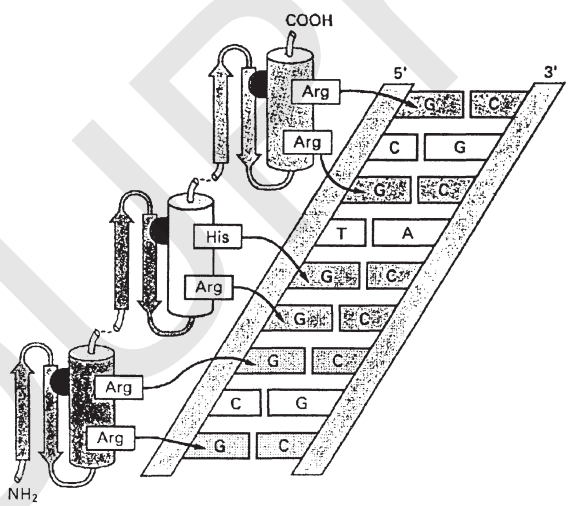
A cink-ujj fehérjék egy másik családja dimerként kötődik a DNS-hez, térszerkezetük inkább a hélix-turn-hélix fehérjékre emlékeztet. Ide tartoznak a különböző szteránvázas hormonok receptorai. A receptor-család tagjainak teljes aminosav-szekvenciája egymástól eltér, de az a 66-68 aminosavnyi, két cink-ujjat tartalmazó doménjük, amellyel a receptorok a DNS-hez kötődnek, nagymértékben hasonló a család minden tagjánál.

[14] A λ fág DNS replikációját, a fág szaporodását, majd a gazdasejt lízisét indukáló szabályozó fehérje.

DUPRESS



16.19. ábra. *Fajlagos DNS szekvenciához kötődő homeobox fehérje.* A fehérje 3 α-hélix motívumot tartalmaz, melyek egymáshoz hidrofób kötésekkel szorosan kapcsolódnak. A) A 2. és 3. hélix hasonlít a hélix-turn-hélix fehérjékből ismert szerkezethez és a 3-mal jelölt felel meg a „felismerő" hélixnek. B) A 3. hélixben található Ser, Arg és Asn lép kölcsönhatásba a nukleotidokkal a DNS nagy barázdájában. Az Asn egy adeninhez kötődik. Az 1. hélixből egy rugalmas szekvencia nyúlik ki, ami argininen keresztül a kis barázdában lévő bázispárokkal lép kölcsönhatásba.



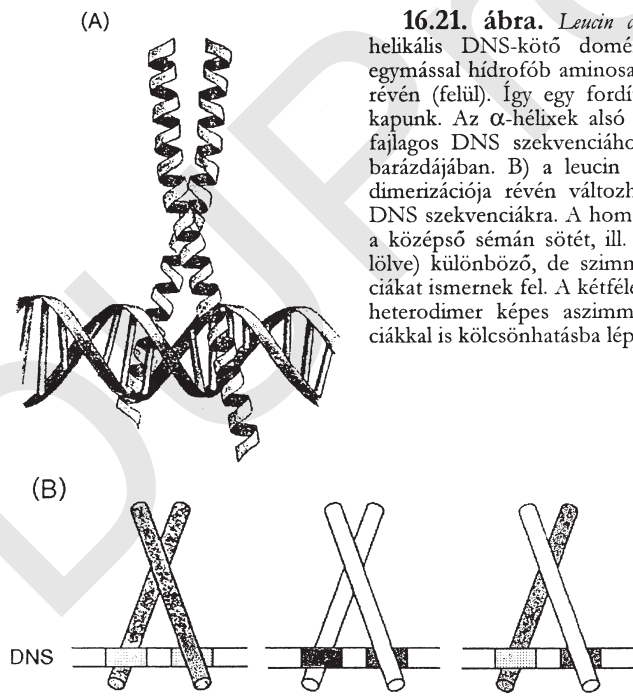
16.20. ábra. *Cink-ujj fehérje.* 3, a polipeptidláncban egymás után következő cink-ujj bázikus aminosavmaradékai a DNS nagy barázdájában található nukleotidokkal lépnek fajlagos kölcsönhatásba (a Zn atomokat kis sötét körök szimbolizálják).

DuPress

♠ A ***leucin cipzár*** (*leucine zipper*) ***fehérjék*** is rendszerint dimerként kötődnek a DNS-hez (16.21. ábra). Két α-helikális monomerjük egymás felé néző hidrofób aminosavaival (ezek rendszerint leucinek) kapcsolódik egymáshoz, melyek aztán csipeszszerűen fogják közre a megfelelő DNS szekvenciát. DNS-hez való kapcsolódásuk változatos lehet, mert pl. kétféle monomer 3 féle dimert tud létrehozni, melyeknek DNS-szekvencia-fajlagossága is 3 féle lehet (16.21B. ábra). Ez ugyanazon monomerek egymástól eltérő regulációs aktivitását eredményezheti, amelyet *kombinatorikus szabályozás*nak nevezünk.

♠ A ***helix-loop-helix fehérjék*** a helix-turn-helix fehérjéktől funkcionálisan elkülönülnek. A molekulájukban található két α-hélix eltérő hosszúságú. Rövidebb α-hélixeik kölcsönhatása révén homo- és heterodimereket egyaránt képezhetnek. A DNS-sel való kölcsönhatásuk a leucin cipzár fehérjékre emlékeztet (16.22. ábra).

Több olyan helix-loop-helix fehérje ismert, amelyeknek hosszabb, DNS-kötő α-hélixe károsodott, így azzal kölcsönhatásba lépni nem tudnak. Megtartották viszont egy másik (funkcionálisan ép) helix-loop-helix fehérjéhez való kötődési képességüket. Az ilyen heterodimerek inaktívak lesznek (l. negatív domináns karakter, 17. fejezet).



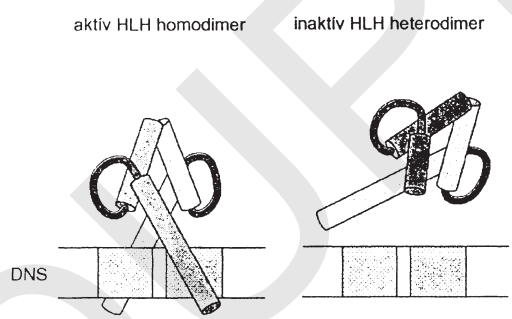
16.21. ábra. *Leucin cipzár fehérjék.* A) 2 α-helikális DNS-kötő domén (alul) dimerizálódik egymással hidrofób aminosavaik összekapcsolódása révén (felül). Így egy fordított Y alakú molekulát kapunk. Az α-hélixek alsó szakasza a rájuk nézve fajlagos DNS szekvenciához kötődik annak nagy barázdájában. B) a leucin cipzár fehérjék heterodimerizációja révén változhat azok fajlagossága a DNS szekvenciákra. A homodimerek (a baloldali és a középső sémán sötét, ill. világos hengerekkel jelölve) különböző, de szimmetrikus DNS szekvenciákat ismernek fel. A kétféle monomerből képződő heterodimer képes aszimmetrikus DNS szekvenciákkal is kölcsönhatásba lépni (jobb oldali séma).

DUPress

Az aktivátor fehérjék hatásukat akkor tudják kifejteni, ha szabályozó DNS szekvenciájukhoz direkt, vagy indirekt módon előzetesen le tudnak kötődni. Utána képesek hatni az RNS polimeráz iniciációs komplexére. Ennek az a valószínű magyarázata, hogy oldatban a fehérje-fehérje kölcsönhatások túl gyengék, a DNS felszínén való összeszerelődés erősíti fel a kölcsönhatásokat. A génszabályozó fehérjék rendszerint messzemenőkig fajlagosak egy-egy sejt- ill. szövetféleségre. Koncentrációjuk a sejtben többnyire igen alacsony.

Az is ismert, hogy ugyanazon génszabályozó fehérje iniciációt aktiváló és gátló komplexek képzésében egyaránt részt vehet, többnyire szerencsésebb rájuk a „szabályozó" jelző, mint az „aktiváló", vagy „gátló". A szabályozó fehérjék koncentrációja időben meghatározott módon változik, pl. az egyedfejlődés folyamán (l. 8. fejezet).

Többféle mechanizmust ismerünk, amelyek maguknak a szabályozó fehérjéknek a működését szabályozzák. Ilyen elsősorban a szabályozó fehérjék fajlagos foszforilációja, amely a citoplazmában inaktív formában található fehérjét aktiválja. Más esetben azt találták, hogy a fehérjék a citoplazmában más fehérjékhez erősen kötve vannak, amely akadályozza a szabályozó fehérje sejtmagba jutását. Ilyen esetben egy kívülről érkező szabályozó szignál úgy is kifejtheti hatását, hogy a citoplazmában lévő fehérje-fehérje komplexet bontja meg, és ezzel lehetővé teszi a szabályozó fehérje magba jutását.



16.22. ábra. *Helix-loop-helix DNS-kötő fehérjék.* Ha szerkezetileg mindkét helix-loop-helix fehérje alegység ép, a keletkező homodimer képes fajlagosan felismerni egy szimmetrikus DNS szekvenciát (a leucin cipzárhoz szerkezetileg hasonló módon). Ha az egyik alegység károsodott, olyan heterodimer keletkezhet, amely a DNS-hez képtelen lesz kötődni.

DUPress

AZ INTRACELLULÁRIS RECEPTORHOZ KÖTŐDŐ HORMONOK – GÉNSZABÁLYOZÓ FEHÉRJÉK LIGANDJAI

A szteránvázas hormonok, a pajzsmirigy hormonok, a retinoidok[15], az E és a D vitaminok kis hidrofób molekulák[16], melyek a citoplazma membránon át, diffúzió útján könnyen bejutnak a célsejtekbe, melyekben a megfelelő fajlagos receptor fehérjék jelen vannak. A fehérjék jól felismerhető szerkezeti rokonságot mutatnak egymással, mintegy receptor családot alkotnak (*intracellular receptor superfamily*). A célsejtekben a receptorok jelen lehetnek a citoplazmában (szexuál-hormonok, kortikoszteroidok), vagy a sejtmagban (retinoidok). Támadáspontjuk a DNS szabályozó szekvenciáin található. A receptor-fehérjék szerkezete, a hormonok kötődése és hatásmódja sok hasonlóságot mutat (16.23. ábra). Sok esetben a hormonválasz legalább kétfázisos, megkülönböztetünk ún. korai elsődleges és késői másodlagos választ (16.24. ábra). Az elsődleges válasz viszonylag hamar (kb. 30 perc) jelentkezik, a másodlagos válasz viszont órák, vagy még sokkal hosszabb idő alatt.

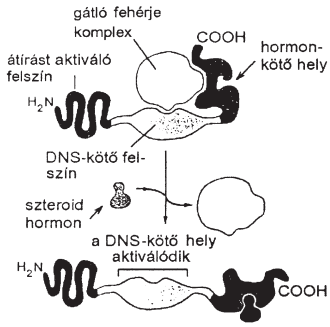
A hormonválaszt elsődlegesen meghatározza a receptor jelenléte a célsejtben. Ehhez azonban további tényezők társulnak. Amint láttuk, a génszabályozó fehérjék hatásukat egymással kombinálódva fejtik ki, és az egyéb, a hatás kifejlődésében résztvevő génszabályozó fehérjék szövetféleségenként rendszerint eltérők. Így ugyanaz a hormon különböző célsejtekben más-más gén-együttest aktivál, más választ eredményez.

---

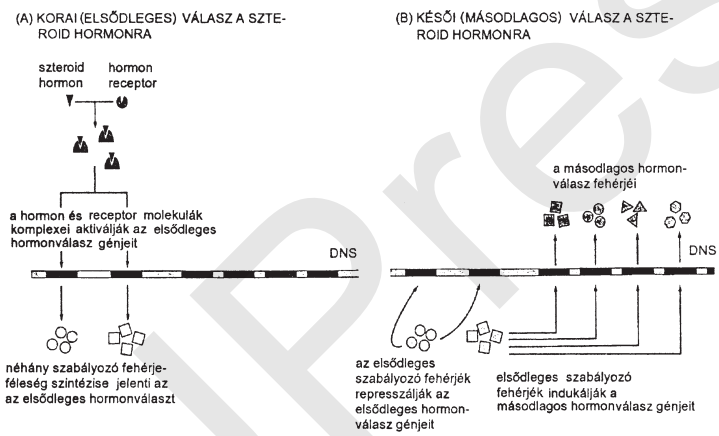
[15] Ilyen pl. a retinálsav, amely A vitaminból képződik és a gerincesek fejlődésének egyik fontos szabályozó anyaga.

[16] Ezen hormonokról általában megjegyzendő, hogy kémiailag stabilabbak, mint a vízoldható hormonok, és rendszerint lassúbb, hosszan tartó folyamatok szabályozásában vesznek részt.

DUPress



16.23. ábra. *Intracelluláris hormon receptor fehérje működésének vázlata* (a kortizol[17] receptor alapján). A receptor inaktív állapotban egy gátló fehérjekomplexhez van kötve. A hormon kötődésének hatására a gátló komplex ledisszociál a receptorról, és aktív állapotba hozza annak DNS-kötő doménjét. Az intracelluláris hormonkötő receptorok is a cink-ujj fehérjékhez tartoznak. A receptorfehérjéket kötő serkentő (*enhancer)* jellegű DNS szekvenciák palindróma elrendeződést mutatnak, amihez az aktivált receptor fehérjék dimer formájában kötődnek. A gátló komplex valószínűleg akadályozza a dimerizációt és a komplex sejtmagba jutását is.[18]



16.24. ábra. *Intracelluláris receptorral rendelkező hormonok jelenlétében kifejlődő elsődleges és másodlagos hormonválasz* (szteroid hormonhatás). Az elsődleges hormonválasz termékei szabályozó fehérjék. Ezek indítják el a másodlagos hormonválaszt, másrészt gátolják az elsődleges válasz folyamán aktiválódó géneket. A résztvevő gének száma igen nagy is lehet.

---

[17] Szteránvázas mellékvese kéreg hormon.

[18] A citoplazmatikus hormonreceptor gének mutációjára vezethetők vissza jól ismert klinikai kórképek, így pl. a *testicularis feminisatio* (l. 8.fejezet).

DUPress

Génaktivitás és kromatin szerkezet

Ahogy azt már fentebb említettük (rRNS génjei), néhány kivételtől eltekintve az eukarióta DNS soha nem szabad állapotban, hanem a kromatin szerkezetébe beágyazva található (l. 10. fejezet). Mint láttuk, a DNS a nukleoszóma fehérjékhez erős poláris kötésekkel kapcsolódik, önként adódik a következtetés, szükségszerű, hogy a kromatin szerkezet befolyásolja a gének aktivitását. Ez a szabályozó hatás azonban a résztvevő komponensek igen nagy mérete miatt még a mai módszertani lehetőségek mellett is részben ismeretlen, csak a jelenségek leírására szorítkozódhatk.

AZ RNS ÁTÍRÁSA A KROMATIN STRUKTÚRÁBAN

A kromatinon belül a gének nagyobb része az átírás számára hozzáférhetetlen, ill. az illető gént magába fogadó kromatin szerkezet átrendeződésére van szükség az átíráshoz. A 16.25. ábra ilyen esetet mutat. A génnek mind a serkentő szekvenciája, mind a TATA szekvenciát tartalmazó promotere hozzáférhetetlen. A kromatin átalakító komplex (*chromatin remodeling complex* = CRC) hatására – ATP igényes folyamat eredményeként – végbemegy a nukleoszómák tovacsúszása a DNS mentén, ezáltal válnak szabaddá a gén aktiválódásához szükséges DNS szakaszok. A kromatin átalakító komplexek szerkezete és működése többféle lehet, más géneknél a nukleoszómák szétszerelődését is megfigyelték az illető szekvenciák mentén. A 16.25E. ábrán látható, hogy a nukleoszóma időlegesen „feleződik" az átírás folyamán és a fél-nukleoszóma fehérjéit transzkripciós faktorok cserélik le.

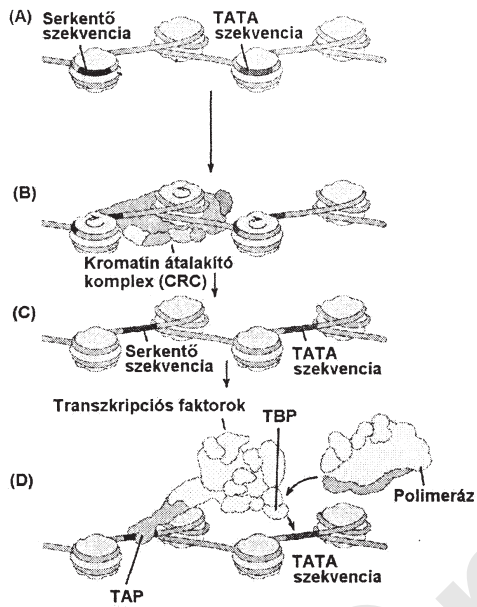
A KROMATIN SZERKEZETVÁLTOZÁSAINAK ÖSSZETEVŐI

A kromatin fehérjéinek változásai (l. 10. fejezet). Az RNS szintézis szempontjából aktiválható kromatinban acetilálódhatnak a H3 és H4 hisztonok, fajlagos változásokat mutat a H1 és H2B hiszton foszforilációja.

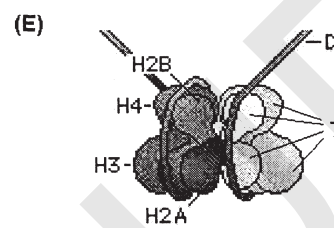
Az aktív kromatin nukleoszómáihoz HMG14[19] és HMG17 nem-hiszton fehérjefélék kötődnek.

---

[19] *High Mobility Group*, ami az illető fehérjék eletroforetikus sajátságaira utal.



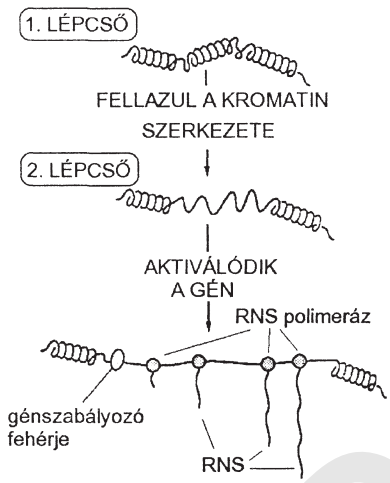
16.25. ábra. *A kromatin szerkezeti átrendeződése az RNS átírása folyamán.* A kromatinhoz a kromatin átalakító komplexnek (CRC) nevezett sok alegységes részecske kapcsolódik. Ennek hatására a nukleoszómák tovacsúsznak a DNS mentén. Ezáltal a serkentő és TATA szekvenciák szabaddá válnak. (vö. 16.6. és 16.7. ábrák).



A kromatin magasabbrendű szerkezeti szintjeinek változásai. A 16.26. ábrán bemutatott folyamatok csak a lazább szerkezetű eukromatinban (l. 10. fejezet) mennek végbe, a heterokromatinban nem. Funkcionális szempontból a heterokromatinnak van olyan része, amelynek DNS szekvenciái nem hordoznak sem polipeptid kódot, sem szabályozó szekvenciákat, ezek RNS-be soha nem íródnak át (***konstitutív heterokromatin***, uo.). A ***fakultatív heterokromatin***ban viszont találunk géneket. Ezek szabályozása szükségképpen többlépcsős, összetett folyamat. A kromatin több szerveződési lépésben (10.4. ábra) összetömörült struktúrájának fel kell lazulnia, ezután válik lehetővé, hogy a génszabályozó fehérjék hozzá tudjanak férni a DNS-hez. A fakultatív heterokromatinban található gének egyes esetekben átíródnak RNS-be máskor nem. Az ilyen gének aktivitás-mintázatának kialakulása szabja meg a magasabbrendűekben a szövetek fajlagosságát, vagyis hosszú távú, az illető sejt vagy szervezet egész életére szóló szabályozást képviselnek. A gén inaktív, ha az átírási egység heterokromatinban kondenzálódva található. Ilyen gének közelében többnyire megtalálható az ún. ***lokusz szabályozó régió*** (*locus control region*), rövidítve ***LCR***), amely a kromatin hosszabb szakaszain képes a heterokromatin → eukromatin szerkezeti átrendeződést

PDPress

irányítani. Jól ismert pl. a hemoglobin β-lánc génje közelében található LCR. Ismeretes a talasszémiáknak (l. 13. fejezet) olyan formája, ahol maga a β-globin gén és a hozzá tartozó szabályozó DNS szekvenciák is teljesen épek, a gén mégsem fejeződik ki. Az elváltozásnak itt az az oka, hogy az LCR deléciót szenvedett.

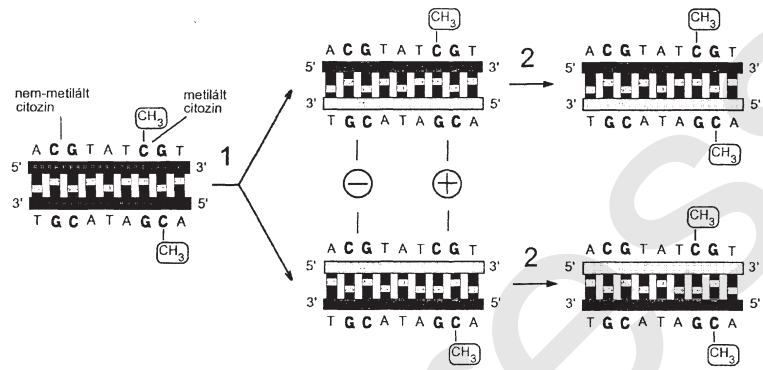


16.26. ábra. *A heterokromatinban helyet foglaló gének aktiválódásának feltételezett lépései.* Az első lépésben a kromatin egy nagyobb régiójának a szerkezete lazul fel. Ezután (második lépés) képesek a szabályozó fehérjék a DNS szabályozó szekvenciáihoz kötődni és elindítani az RNS átírását.

Ismeretes, hogy az eukarióta kromoszómákban a DNS hurkokba rendeződve a ***scaffold***hoz, ill. a ***nukleáris matrix***hoz kapcsolódva található (10.5. és 10.6. ábrák). A szakirodalom nem egységes annak megítélésében, milyen szerepe van ennek a hurkos szerkezetnek a benne található átírási egységek működésének szabályozásában (egy-egy hurok hossza több átírási egységhez is elegendő). Azt, hogy a hurok a génaktivitás szabályozása szempontjából egységként viselkedik, alátámasztja a topoizomeráz II jelenléte a scaffoldban a hurkok letapadási pontjai közelében (l. BiolJegyz. 9. fejezet). Az biztosra vehető, hogy az enzim a replikáció alatt, ill. után nélkülözhetetlen az egymásba fonódó DNS szálak szétválasztásához. Másrészről viszont az enzim képes negatív szuperhelikális feszülést létrehozni a hurkokban, amire az RNS szintéziséhez szükség van (l. 12. fejezet).

A DNS szerkezetének változása, metiláció. A metiláció a gerincesek DNS-ének kovalens modifikációs lehetősége, a génműködés szabályozásának egyik alapvető fontosságú mechanizmusa. Majdnem mindig a citozin gyűrű 5. szénatomján következik be, ezen belül is leginkább a CpG szekvenciákon. Maga a metiláció a citozin bázispárosodási képességét nem befolyásolja, az 5′-5meCpG-3′ (5meC = 5-metil-citozin) dinukleotidnak is a 3′-GpC-5′ szekvencia a komplementer párja. A ***DNS metiláció***t

katalizáló egyik enzim a ***fenntartó metiláz*** (*maintenance methylase*). Az enzimnek azok a CpG szekvenciák az elsődleges szubsztrátjai, amelyeknek komplementer párja már metilálva van. Ez lehetővé teszi, hogy a replikáció során a szülői DNS szál templátként szolgáljon az újonnan szintetizált szál metilációjához, a szülő sejt metilációs mintázata átörökítődik a leánysejtek DNS-ébe (16.27. ábra).

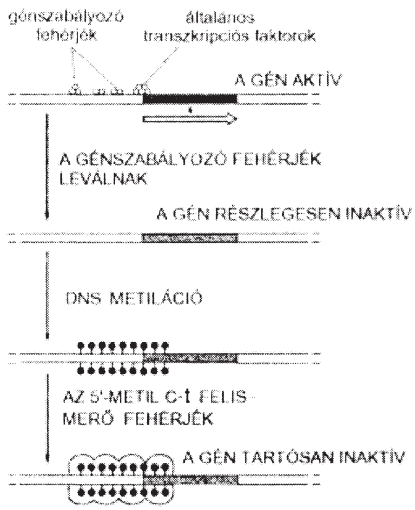


16.27. ábra. *Hogyan megy végbe a DNS metilációs mintázatának átörökítése?* A gerinces DNS CpG szekvenciáinak (vastagon szedve) nagy része metilálva van. Ezt a fenntartó metiláz biztosítja. Így a metilációs mintázat, ill. annak változásai átörökítődnek az utódsejtekbe. 1: a DNS replikációja, 2: a fenntartó metiláz által végzett metiláció, – : a fenntartó metiláz által fel nem ismert CpG szekvenciák, + : a fenntartó metiláz által felismert CpG szekvenciák.

A gerincesek sejtjei egy másik enzimet is tartalmaznak, a ***kijelölő metiláz***t, amely képes olyan CpG szekvenciákat is *de novo* metilálni, ahol a kétszálú DNS egyik lánca sem volt metilálva. Kísérletes adatok azt mutatták, hogy a sejtek szöveti differenciálódása során végbemegy ilyen folyamat.

A gerincesekben azonosítottak egy olyan fehérjét, amely szorosan kötődik a metilálódott CpG szekvenciákhoz. Ez a fehérje a metilálódott DNS-t olyan módon kondenzálja, hogy az hozzáférhetetlenné válik az RNS átírás számára. A legvalószínűbb azonban, hogy a fehérjének a metilált DNS-hez való kötődése a gének inaktiválódásának nem oka, hanem az inaktív állapot stabilizálódásának szükséges feltétele (16.28. ábra). Az inaktiválódott gének néma állapotát a metiláció, ill. a metilált szekvenciákhoz kötődő fehérje teszi tartóssá.

Dubress



16.28. ábra. *Hogyan segíti a DNS metilációja a gének inaktiválódását?* A génszabályozó fehérjéknek és az általános transzkripciós faktoroknak a kötődése egy gén promoterének közelében akadályozza a DNS metilációját (ennek közelebbi mechanizmusa nem ismert). Ha ezek a szabályozó fehérjék ledisszociálnak a gén környezetéből, a gén inaktívvá válik. Ez az állapot nem stabil, viszont lehetőséget teremt a gén-közeli CpG szekvenciák metilálódására. Amennyiben ez bekövetkezik, végbemegy a metilált C-re affinis fehérje lekötődése és az inaktív állapot fixálódása.

A CpG szigetek. A metilált citozin bázisok előfordulási gyakorisága a genomban az evolúció során csökkenő tendenciát mutat. Ennek oka, hogy az 5-metilcitozin dezaminálódásával timin keletkezik. Bár van olyan javító mechanizmus (l. 13. fejezet), amely a hibásan párosodott nukleotidokat felismeri, ez nem működik tökéletesen, így a C → T tranzíciók véglegessé válhatnak. Ily módon az evolúció során a CpG párok mintegy 3/4 része eltűnt a genomból. A megmaradt CpG párok egyenetlen megoszlást mutatnak, a sejtek életképességéhez, anyagcseréjéhez általában nélkülözhetetlen – tehát rendszerint aktív – ún. háztartási gének (*housekeeping genes*) közelében fordulnak sokkal gyakrabban elő.

Ahogy fentebb láttuk, az egyenlőtlen eloszlás kapcsolatos azzal, hogy a gerincesek a DNS metilációját használják a gének, ill. nagyobb genomrészletek inaktív állapotban tartására. A csíravonal ősejtjeiben – amelyekből majd a petesejtek, ill. a hímivarsejtek keletkeznek – a genom legnagyobb része metilált és inaktív. Evolúciós időskálán szemlélve, az inaktív régiókban található CpG szekvenciák többsége – a fenti mechanizmus jóvoltából – eltűnt, elveszett. Az ún. háztartási gének azonban még a csíravonalak sejtjeiben is aktívak. Mivel ezek promoterei állandóan működnek, a környezetükben elhelyezkedő CpG szekvenciák nem metiláltak (ill. „hipometiláltak"), és ezért védettek az ilyen mutációval szemben. Ezek a régiók maradtak fent ***CpG szigetek***ként (*CpG islands*).

A fentiek alapján egyértelmű, hogy a metilációnak is a sejt hosszú távú génszabályozási folyamataiban van meghatározó szerepe.

Imprinting – genomi rögzítés

EGYES GÉNEK, GÉNCSOPORTOK ÉLETRE SZÓLÓ INAKTIVÁLÁSA A PETESEJTEK ÉS SPERMIUMOK KÉPZÉSE SORÁN

Az emlősök és néhány növénycsalád kivételével az egész élővilágban mindegy, hogy az utód melyik alléljét melyik szülőtől örökölte. A legtöbb élőlényből ezért úgy is lehet életképes utódokat nyerni, hogy a magjától megfosztott zigótában két petesejt vagy két spermium haploid magjából hozzuk létre a diploid állapotot. („Két anyás", ill. „kétapás" hibridek.) Az ilyen élőlények petesejtjeit megfelelő manipulációval megtermékenyítés nélkül is önnön génkészletük felhasználásával diploiddá lehet tenni, és fejlődésre lehet bírni. Ez az ún. szűznemzés, mely szintén életképes utód létrejöttét eredményezi. (A szűznemzés bizonyos fajoknál – pl. hangyák, méhek stb. – természetes körülmények között is rendszeresen előfordul.) Az ilyen manipulációval nyert utódok külön nevet is kaptak: a két petesejt magjából származó (azaz csupa anyai): *gynogenota*[20], a „kétapás" – azaz csupa spermiumból származó gént tartalmazó: *androgenota*[21], a szűznemzésből származó: *partenogenota*[22].

Az 1970-es években fejlődött odáig a mikroszkópos manipulációk technikája, hogy hasonló próbálkozások kezdődhettek a más állatokhoz képest kis méretű emlős petesejtekkel, ill. zigótákkal is. A nagy számú próbálkozás ellenére sem gyno-, sem partenogenota, sem pedig androgenota utódokat nem sikerült előállítani. Beültetés után méhen belüli fejlődésük annyira kiegyensúlyozatlannak bizonyult, hogy a terhesség korábbi vagy későbbi szakaszában elpusztultak.

Az androgenotákban viszonylag jól fejlődnek a magzatburok képletei és nagyon gyatra az embrió szöveteinek fejlődése. A gynogenoták és partenogenoták esetében fordított a helyzet: az embrionális szövetek fejlődése jó, de alig fejlődnek a magzatburok képletei, s így a placenta nem képes a szükséges táplálást biztosítani. Gynogenota és androgenota sejtek összekeverésével előállított kimérák fejlődése zavartalannak bizonyult.

Az orvosi gyakorlatban is találkozunk olyan kóresetekkel, melyek oka, hogy a fejlődésnek induló zigóta csak anyai, vagy csak apai kromoszómákat tartalmaz. Egyik ilyen rendellenesség a *mola hydatidosa* (magyarul üszökterhesség), melyben csak magzatfügge-

---

[20] *gyne* = (görög) nő.

[21] *aner/andros* = (görög) férfi.

[22] *parthenos* = (görög) szűz; *genota* = mesterségesen képzett kifejezés a keletkezett utód eredetére.

lékek növekednek kisebb hólyagok halmazaként. Ennek sejtjeiben csak apai kromoszómák vannak, kariotipusuk mindig 46,XX, és a homológok ugyanannak a kromoszóma példányanak a duplázódását jelentik. Másik eset a petefészekben időnként előforduló ***teratoma*** („csodadaganat"), melyben különböző magzati szövetek, szervek (pl. hajszálak, fogak, stb.) találhatók. Ezek esetében egy-egy petesejt partenogenetikus fejlődése áll a háttérben.

A jelenség magyarázata, hogy vannak géncsoportok, melyek a petesejt érése során inaktiválódnak, de a spermiogenezisben aktívak maradnak. Más gének, géncsoportok esetében ez épp fordítva történik: ezek a spermiogenesis során inaktiválódnak, de a petesejtben aktívak.

A RÖGZÍTÉS FOLYAMATA

A jelenség a DNS metilációjával kapcsolatos. A csírasejtek érése és a korai egyedfejlődés során a DNS metilációja jelentősen és meghatározott módon változik. Maguknak a csírasejteknek a DNS-e nagymértékben metilált, viszont kiterjedt demetiláció megy végbe a megtermékenyítés után. Később – méhlepényes emlősöknél a beágyazódástól kezdve – újra kezdődik a metiláció, amíg fokozatosan eléri a kidifferenciálódott szövetekre jellemző, erősen metilált állapotot. Ezen progresszív metiláció során a férfiakban és nőkben a nemre jellemző mintázat szerint következetesen, egymástól eltérő gének metilálódnak, inaktiválódnak.[23] Jelen tudásunk szerint az imprinting folyamata pár száz gént érint. Az imprintingben érintett legtöbb gén területén vagy közvetlen szomszédságában CpG-szigetek találhatók a DNS-ben (l. fentebb).[24] Az inaktiválódó géncsoportok az utód egész élete során inaktívak lesznek. Ezt az életre szóló inaktiválást nevezzük az angol nyelvű irodalomban használt kifejezéssel ***imprinting***nek, magyarul ***genomi***[25] ***rögzítés***nek mondhatnánk. Megkülönböztetésül a viselkedést alakító idegrendszeri eseményektől szokás **genomi imprinting**ként (*genomic imprinting*) is emlegetni.

Ezekből a génekből az új egyedben csak egy működőképes példány lesz jelen, mint ahogy pl. az a férfiakban az X kromoszóma génjeire nézve tapasztalható (16.29. ábra). A gének tartós elnémításának az a következménye, hogy ha egyik szülőtől elnémított allélt,

---

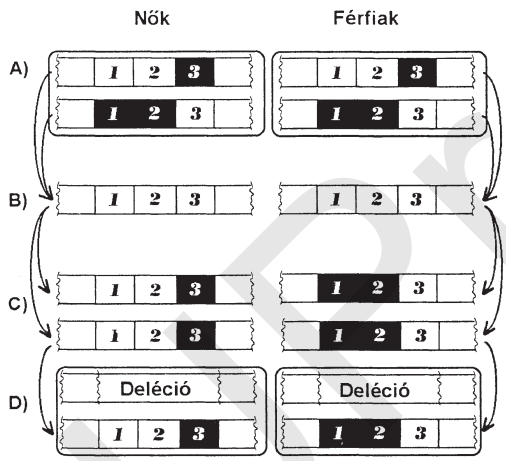
[23] Az ilyen folyamatokat, amelyek másodlagosan, nem közvetlenül a gének kifejeződéseként jelentkeznek, eredményük azonos genotípus mellett is eltérhet, ***epigenetikus folyamat***oknak nevezzük.

[24] Vannak olyan elnémított gének, melyek területén vagy szomszédságában nincs CpG sziget, és az anyai, ill. apai eredetű kromoszómákon eltérő metilációjuk sem mutatható ki. Ez esetben más, szintén a kromatin szerkezetet módosító tényezők állhatnak az imprinting hátterében.

[25] Ne feledjük el, hogy a genom a haploid sejt génállományát jelenti! Tehát a petesejt is, a spermium is egy-egy genomot hoz a zigótába, mely diploidként két genomot tartalmaz.

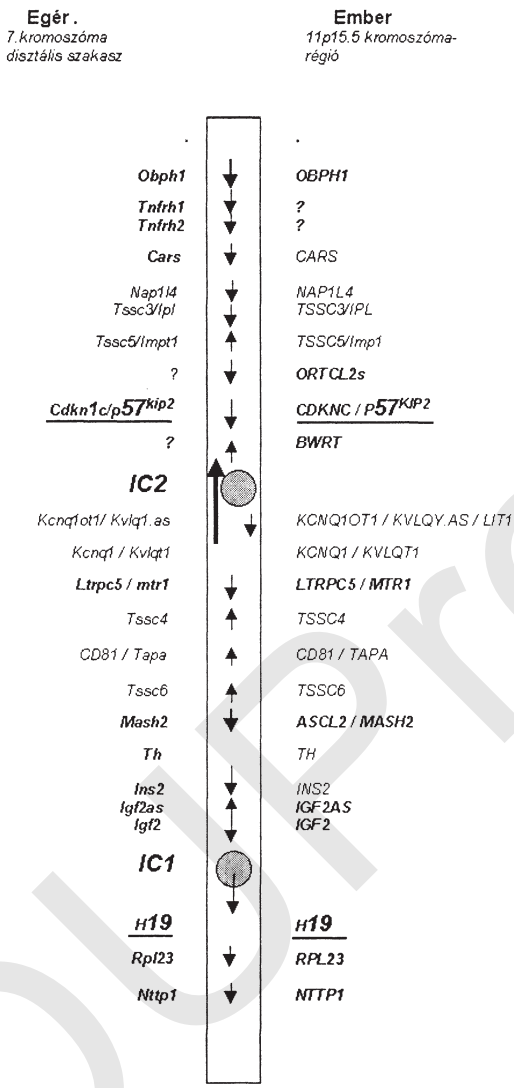
a másiktól nem működő mutáns allélt örököl az utód, ugyanolyan lesz a fenotípusa, mintha homozigóta recesszív lenne. Ebben az esetben tehát nem mindegy, melyik szülőtől örökli az utód a hibás (recesszív) allélt és melyiktől az épet.

Felvetődik a kérdés, milyen múltbeli, vagy aktuális szelekciós előny vezethetett a bevéső dés ezen formájának kialakulásához az evolúció során. Érdekes elképzeléshez vezetett az a megfigyelés, hogy a bevéső dés tárgyát képező gének nagyobb része az anya és a magzat közötti folyamatokban résztvevő fehérjéket kódolja. Ha egy faj poliandrikus módon szaporodik (egy nősténynek több hímmel való párosodását követi a vemhesség, ilyen periódus előfordult elődeink élete során), akkor a férfi számára az jelenti a szelekciós előnyt, ha mindazon gének aktivitása gátlódik, amelyek az anyai szervezet tartalékait visszatartanák a magzat fejlődése során. Az anya számára viszont az az optimális, ha a következő – másik apától származó – magzat számára is maradnak tartalékok.



16.29. ábra. *Az imprinting folyamatának vázlata.* A) A két szülő genotípusa egyforma. Homológ kromoszómáikban (felül az anyai, alul az apai) bizonyos gének (fekete alapon fehér számmal jelölve) inaktívak (metiláltak). B) A csírasejtek képződése folyamán demetilálódnak. C) Később azonban a nemre jellemző mintázat szerint bevéső dés megy végbe (a gének újra metilálódnak, inaktiválódnak). Megtermékenyítéskor, ha a partner csírasejt megfelelő allélje ép, tünetmentes heterozigóták keletkeznek. D) Ha viszont a partner allél károsodott (az ábrán deléció), akkor az utódban teljes funkció-kiesés jön létre. A séma az emberi 15. kromoszóma 15q11-q13 régiójának (***PWS régió***, l. lentebb) viselkedését mutatja. Az imprinting folyamatában itt mintegy 15 gén vesz részt, melyekből az *SNRPN*, a *necdin* és az *UBE3A* géneket jelölik az 1., 2. és 3. számok. A kialakuló kórképekre vonatkozóan l. a szöveget.

Fontos megfigyelés, hogy az imprintingbe bevont gének csoportokban, egymás közelében helyezkednek el. Ezek elnémítása ún. ***imprinting centrumok*** közreműködésével történik. Több ilyen géncsoportot ismerünk a hozzájuk tartozó imprinting centrummal (16.30. ábra). Az esetek egy részében kimutatták, hogy a gén kifejeződését antiszensz RNS átirat nyomja el az apai géneken – pl. az anyai kifejeződésű *IgF2R* (inzulinszerű 2. növekedési faktor receptora) gén esetében.



16.30. ábra. *Imprinting centrumok egérben és emberben.* Az ember 11. és az egér 7. kromoszómáján található imprinting centrumokat és a hozzájuk tartozó ill. környezetükben lévő ismertebb géneket mutatja a vázlat. A nyilak az átírás irányát és az elnémítás terjedési irányát jelzik. Az apai kifejeződésű gének vastagabb betűkkel vannak írva, az anyai kifejeződésűeket aláhúzás jelzi. A többi gének nem vesznek részt az imprintingben, ill. viselkedésük még nem tisztázott. Kérdőjel mutatja, ha az egyik fajban található gén megfelelőjét a másikban még nem mutatták ki.

Úgy tűnik a legkülönbözőbb fajokban is ugyanazok a géncsoportok kerülnek elnémításra a petesejtekben, ill. spermiumokban. (Egy-két gén esetében találták, hogy ebben eltérés van.) Érdekes összehasonlítani az egér 7. kromoszómájának disztális szakaszán és az ember 11. kromoszómájának rövid karján (11p15.5) található két imprintig centrum környezetében lévő géneket. Ugyanazok a gének találhatók itt, ugyanabban a sorrendben és ezek anyai ill. apai kifejeződése is egyezik (ugyanilyen jellegű hasonlóságot látunk a PWS régióban és az egér 7. kromoszómájának centromérhez közeli szakaszán elhelyezkedő géneket illetően).

Az emberi genom kb. 35 000 génjéből – becslések szerint – néhány százra vonatkozik az imprinting. Ezek többsége a magzat fejlődésének szabályozásában működik köz-

DuPress

re. (Érdekes, hogy azoknál a növényeknél, melyekben az imprinting előfordul, az főleg a csíra fejlődésében közreműködő géneket érinti.) Másrészről, az imprinting által is szabályozott gének szerepe többnyire nem korlátozódik az élet magzati szakaszára.

AZ IMPRINTING KÖVETKEZMÉNYEI

Vannak génhibák által okozott emberi betegségek, melyekről tudjuk, hogy keletkezésükben nagyon gyakran szerepet játszik az imprinting. A legegyszerűbb esetben a beteg hibás allélt örökölt attól a szülőtől, amelyik a kifejeződő gént adja az utódjának. Ilyenkor a családfán úgy tűnik, mintha a jellegért felelős allél az egyik szülőtől örökölve domináns lenne, a másik szülőtől örökölve pedig recesszív.

Ezeknek a géneknek a vizsgálatával tisztázható, hogy egy-egy rendszertani egységen belül megtalálható-e vagy hiányzik a petesejtre, ill. spermiumra jellemző gén, vagy az enzim aktivitása. Ha az egyik szülő gamétájában elnémított egy gén, csak a másik szülőből származó allélje fejeződhet ki az utódban. A mai kifinomult nukleinsav-vizsgálati technikák (reverz transzkripció + PCR + célzott szekvenálás) a megfelelő sejtekből kivont mRNS-ből kiindulva lehetővé válik már egyetlen bázispár eltérés esetén is eldönteni, hogy csak egyik vagy mindkét allélről történt-e átírás. Így állapíthatták meg, hogy tojásrakó emlősöknél még hiányzik, de erszényeseknél és méhlepényeseknél már van imprinting.

Hasonló kifinomult technikával az is kimutatható – ha a két szülő génjének, vagy a mellette lévő DNS-nek egy, esetleg több bázispárja különbözik –, hogy a vizsgált egyedben az adott gén két allélje a két különböző szülőtől származik (ahogy azt genetikai ismereteink alapján elvárjuk), vagy csak egyik szülőtől kapott allél van jelen két példányban (ami ellentmond minden várakozásunknak!). Meglepően gyakori (ahhoz képest, hogy egyáltalán nem volna szabad előfordulnia), hogy egy egyed sejtjeiben, szöveteiben egyes homológ kromoszómapárok kisebb-nagyobb darabjai – ritkábban egész kromoszómák – ugyanattól a szülőtől származnak. Ha az egyik szülőtől származó kromoszómaszakaszok két példányban fordulnak elő, a másik szülőtől származó szakasz pedig hiányzik, annak az egyedfejlődés koraibb szakaszában végbement szomatikus rekombináció lehet az oka. Más esetekben a homológ kromoszómapár mindkét tagja azonos szülőtől származik. Az ilyen rendellenes állapotokat ***egyszülős diszomiá***nak (*uniparental disomy* = ***UPD***), ill. ***izodiszómiá***nak szokás nevezni (l. 11. fejezet). Az UDP-nek a kromoszómák eredete szerint megkülönböztetjük apai (paternális → UPDpat) és anyai (maternális → UPDmat) formáját. Mindkét formában elvész az eredeti heterozigóta állapot. Jelentősége akkor van, ha egyik vagy másik szülőben elnémított gének találhatók az érintett kromoszóma szakaszon. A következmények súlyossága attól is függ, hogy az adott

szakaszon hány fontos gén van és milyen sejteket milyen arányban érint a változás (l. 11. fejezet).

Az is megtörténhet, hogy az imprinting mintázata valami módon megváltozik: törlődik vagy kiterjed egyes génesoportokon. Következmény: minkét allél kifejeződése. Bialléles expresszió (BAE) a normális egy alléles helyett, ill. monoalléles experesszió (MAE) a normális két alléles helyett.

Az egyszülős diszómiák (rendszerint) az imprintingbe bevont génesoport minden tagját érintik. Ennek megfelelően az okozott rendellenesség nem korlátozódik egyetlen bélyegre, több elváltozással járó összetett tünetegyüttes jelentkezik (ezt nevezzük „szindrómá"-nak). Ezeket a szindrómákat nemcsak uniparentális diszómia hozhatja létre, hanem más génhibák is (pl. a működni hagyott allélek deléciója vagy más mutációja, vagy valamilyen rendellenesség miatt az elnémítás törlése).

Vannak gyakrabban előforduló és ezért alaposabban tanulmányozott, imprintinggel kapcsolatos szindrómák. Az emberi 15. kromoszóma hosszú karján a 15q11-q13 régióban (***PWS régió***) más gének inaktiválódnak a petesejt érése, mások a spermiogenezis során. Ebből kétféle szindróma is létrejöhet: az apai kromoszóma elvesztése ill. hibája a ***Prader-Willi szindrómá***t (***PWS***), az anyai kromoszóma elvesztése ill. hibája az ***Angelman szindrómá***t (***AS***) okozza. Ha nem csupán működő allélek elvesztése, hanem az egyik szülőtől örökölt kromoszóma ill. kromoszómaszakasz megduplázódása okozza a bajt, a tünetek súlyosabbak (ui. a megfelelő működő allél[ek] hiánya mellett egy másik gén termékének fokozott termelődése is zavart okozhat).

A PWS régió kb. 2 Mbp nagyságú DNS-szakaszra terjed ki. Az itt található apai kifejeződésű gének között vannak, amelyek cinkujj fehérje természetű (l. fentebb) transzkripciós faktort (*ZNF127, PEG3)*, SnRNP alkotásában szereplő polipetidet (*SNRNP-SNURF*) snRNS-t (*IPW*), hidroláz enzimet (*PEG1*), két, az idegrendszer fejlődésében közreműködő faktort (necdin [*NDN*], necdin-szerű [*NDNL1*], régi nevén *MAGELK2*) kódolnak. Az egyetlen jelentős anyai kifejeződésű gén ebben a régióban egy fehérjékhez ubiquitint kötő ligázt (*UBE3*) kódol. Ennek a sérült vagy feleslegessé vált fehérjék lebontásában van szerepe.

A Prader-Willi szindrómát anyai UDP, vagy az apai kifejeződésű gének deléciója okozza (ez esetben a génhibát az apa örökíti át – ez az esetek 50-60%-ában fordul elő) és a teljes PWS régió delécióját jelenti. A fő hiba a hipotalamusz fejlődésében van (ebben játszhat szerepet a normális körülmények között a fejlődő hipotalamuszban fokozottan kifejeződő *NDNL1*). Az újszülött izomzata petyhüdt, a későbbiekben fejlődési visszamaradás, hipogonadizmus, enyhe torzulások jelentkeznek. Egyéves kor körül kezdődik a falánkság és a súlyos elhízás, a hipogonadizmus is egyre feltűnőbb. Enyhébb szellemi visszamaradottság társul mindezen rendellenességekhez.

Az egyes apai gének mutációja nem vezet sem a teljes szindróma létrejöttéhez, sem rá jellemző tünetek kialakulásához. Ebből a szempontból kivétel a fehérjét kódoló, imprintinget vezérlő DNS-szakasz, az ún. ***imprinting centrum*** (***IC***). Ennek mutációja – rendszerint mikrodeléció – lehetetlenné teszi spermiogenezisben az anyai eredetű imprinting törlését. Így elmarad az apára jellemző mintázat kialakítása, az apa az anyjától

örökölt, elnémított géncsoportot változatlanul adja tovább, mintegy a spermiumok felében. Ilyenkor az utód olyan rögzített működési mintázatot kap, mintha anyai egyszülős diszómiája lenne – azaz Prader–Willi szindrómás lesz.

A PWS régióban egy anyai kifejeződésű gén található, az *UBE3*, mely a sérült, ill. feleslegessé vált fehérjék bontásában közreműködő ubiquitin ligázt[26] kódol. A testi sejtek többségében az apai allél kifejeződik. A központi idegrendszer sejtjeiben ezzel szemben csak az anyai eredetű allél fejeződhet ki. (Úgy látszik, az imprinting mintázata bizonyos sejtekben, sejtcsoportokban mégis átrendeződhet, bár az átrendezés lehetősége típusosan az ivarsejtképzésre korlátozódik.) Az anyai allél hiányának vagy működésképtelenségének jellegzetes és súlyos idegrendszeri következménye az ún. Angelman szindróma. Tünetei: ataxia (súlyos mozgászavar), nagyfokú szellemi visszamaradottság, görcsök, sajátos torz mosolygás (*happy baby* állapot). Az esetek több mint 70%-ában az anyai eredetű 15. kromoszóma PWS régiójának deléciója áll a héttérben és kb. 10% vezethető vissza apai UPD-ra.[27]

Viszonylag gyakran okoz zavart a 11. kromoszóma rövid karján lévő géncsoport imprintingje. A 11p15.5 régióban található imprinting centrumban az apai kromoszómán a magzat növekedését serkentő, az anyai kromoszómán az azt fékező gének aktívak. Az apai kromoszóma egyszülős diszómiája okozza a **Beckwith-Wiedemann** szindrómát.

Ez túlzott növekedéssel jár, óriás magzat, óriásnövés (gigantizmus). Születéskor feltűnik az aránytalanul nagy nyelv (*macroglossia*), aránytalanul nagyra nőtt zsigerek (*visceromegalia*) és egyéb fejlődési rendellenességek, embrionális daganatok (Wilms tumor a vesékben, simaizomból kiinduló *rhabdomyosarcoma*, *hepatoblastoma* stb.). Jellegzetes növekedést serkentő apai kifejeződésű fehérje az egyik inzulin-szerű növekedési faktor (*Igf2*). Ennek hatását csökkenti az endocitózisában közreműködő anyai kifejeződésű receptora (=*Igf2R*).

Emberben már 17 kromoszómáról (ill. részletéről) derült ki, hogy egyszülős diszómiájuk fenotípusos következményekkel jár. Pl. a 7. kromoszóma anyai egyszülős diszómiája alacsony termetet és lassult növekedést okoz, a 18. kromoszóma UPD-jának szerepe lehet a szkizofréniában stb.

Számos rosszindulatú daganatról valószínűsítik, hogy létrejöttükben nem, vagy nem csak a különböző mutációk (l. 17. fejezet), hanem a genomi imprinting is szerepet játszik. Az imprintingben elnémított gének között viszonylag sok olyat találunk, amelynek terméke közvetve vagy közvetlenebbül a sejtosztódás szabályozását befolyásolja. Ezek esetében – normális körülmények között – a géntermékek mennyisége – részben éppen az imprting által – szigorúan szabályozott. A növekedést/sejtosztódást serkentők esetén

---

[26] A citoplazmatikus fehérjék lebontásának külön útja van. A bontandó fehérjéhez ubiquitin molekulák kötődnek és a bontást végző proteaszóma számára ezáltal válik felismerhetővé.

[27] Az apai kromoszómákról az *UBE3* gént gátló antiszensz RNS szintetizálódik, mely gátló hatását csak az apai kromoszómán fejti ki. Ebben a fölös számú X kromoszómá(ka)t inakitáló *Xist* RNS termékének hatására emlékeztet.

az elnémítás feloldása (vagy az el nem némított szülői példány megduplázása [UPD és ennek eredményeként BAE]), az osztódást fékezők esetén pedig a működő allél elvesztése rosszindulatú daganatok kialakulásához vezethet, ill. azt elősegíti, súlyosbítja.

Ugyanazon szabályozó rendszer tagjait kódolják az *IGF2* és *H19* gének. Az *IGF2* terméke az inzulinszerű növekedési faktor 2, a *H19*-é a növekedési faktor receptorának génjét gátló antiszenz RNS. Az imprintingnek lehet olyan eredménye, hogy mindkét géntermék két allélről, tehát dupla mennyiségben fog termelődni. Ilyen oki tényezőt találtak Wilms tumorban (vese), simaizom daganatban, hólyagrákban, tüdőrákban, méhdaganatban és más rosszindulatú daganatokban is.

A genomi génelnémítás, az imprinting, megismerése éppen csak elkezdődött, jelentőségének, pontos mechanizmusának, meghibásodási lehetőségeinek és ezek következményeinek részletesebb feltárása a jövőben várható. A jelenség orvosi jelentősége azonban már most is nyilvánvaló.

A GÉNEK KIFEJEZŐDÉSÉNEK MÉRTÉKÉT BEFOLYÁSOLÓ EGYÉB MECHANIZMUSOK

Természetszerűleg az RNS szintézis, átszabás, citoplazmába történő export stb. lépések mindegyike egyben szabályozási lehetőséget is jelent, melyek messzemenően befolyásolják egy-egy gén termékének mennyiségét – tulajdonképpen a sejt fenotípusát. A fenti szabályozó rendszerek hatásán túlmenően említésre méltó még egy pár egyéb mechanizmus, ami egy-egy géntermék mennyiségét a citoplazmában befolyásolja. Ilyenek:

- Az mRNS 3′ végén lévő poli-A farok hossza. Ez változtatja a mRNS életidejét és a riboszómákhoz való kötődés lehetőségét is.
- Ismeretesek az mRNS-ek 3′ végén a fehérjeszintézisben már részt nem vevő szekvenciák (*untranslated regions*, UTR), melyek az őket hordozó mRNS-ek degradációját gyorsítják.
- Vannak olyan aminosavak (Met, Ser, Thr, Ala, Val, Cys, Gly, Pro), melyeknek jelenléte a molekula N-terminális végén stabilizálja az illető fehérjét, míg az egyéb aminosavak meggyorsítják annak proteolitikus lebontását.

Dubress

Összefoglalás

(*1*) Az eukarióták genomjában a DNS-t nagy fölöslegben találjuk. Az emberi genomban pl. kb. 700-szor több DNS, de a sejtekben kb. csak 20-szor többféle fehérje található, mint az *E. coli*ban. Az eukarióta DNS-ben számos szekvencia-féleség igen sokszor (néhány száztól több millióig) ismétlődik.

(*2*) A gének RNS-be való átírása egy igen összetett szabályozó rendszer kontrollja alatt áll, amelyben részt vesznek mind génközeli (TATA szekvencia), mind géntávoli (serkentő- és gátló-) DNS szekvenciák, valamint ezekhez kapcsolódó nagyszámú szabályozó fehérje. Ezeknek ma már több, jól jellemzett típusát ismerjük. (A citoplazmatikus hormon receptorok is ilyen szabályozó fehérjék.) Ezek kölcsönhatásának eredményeként indul meg az RNS szintézise, ill. szabályozódik annak üteme. A keletkezett RNS mindkét végén kémiai módosuláson megy át, amely a molekula stabilitásához szükséges.

(*3*) Az eukarióta átírási egységekben a genetikai információt képviselő szekvenciák nem alkotnak folyamatos sort, hanem abban kódoló (exon) és nem-kódoló (intron) szakaszok váltakoznak. Ennek megfelelően az elsődlegesen átírt RNS termékből egy összetett érési folyamat során a nem-kódoló szekvenciák kivágásra kerülnek. Az intronszekvenciák kivágását végző rendszer nagy pontossággal működik. A folyamat vizsgálata közben kiderült, hogy az RNS is mutat biokatalizátor aktivitást.

(*4*) Az információ tárolásának nem-folyamatos jellege (exonok, intronok jelenléte) lehetővé teszi, hogy ugyanazon hnRNS molekulából egymástól eltérő átszabási folyamatok eredményeként több mint egyféle mRNS, ill. fehérje keletkezzék. Mivel az eukariótákban a DNS a kromatinba beágyazódva van jelen, az RNS szintéziséhez annak szerkezete fel kell, hogy lazuljon, ami a génaktivitás szabályozásának újabb szintjét képviseli. A fakultatív heterokromatinban tapasztalható egy-egy sejttípusra fajlagos gének aktív/inaktív állapotának hosszú távra történő meghatározottsága.

(*5*) Eukariótákban az információ átírása a kromatinban megy végbe. A kromatin szerkezetváltozásai alapvető módon járulnak hozzá a gének kifejeződésének szabályozásához. Ismertek olyan – bonyolult felépítésű – faktorok (kromatin átalakító komplexek [CRC]), amelyek képesek a kromatin szerkezetét fellazítani és megfelelő DNS szekvenciákat hozzáférhetővé tenni az RNS átírás számára. Az aktiválható géneknek megfelelő régiókban változik a nukleoszómák szerkezete, a hisztonok fajlagos módon acetilálódnak, foszforilálódnak, fehérjék kapcsolódnak hozzájuk meghatározott módon. A szabályozásban valószínűleg szerepet játszik, hogy a DNS hurkok formájában fehérje struktúrákhoz (nukleáris matrix) kötődik. A hurkok letapadási pontjainál topoizomeráz II enzim található. A szabályozásnak valószínűleg meghatározó mozzanatát jelenti, hogy az enzim képes változtatni a DNS szuperhelikális feszülési állapotát.

DUPress

(*6*) A génaktivitás szabályozásának hosszú periódusokra (több sejt-generációra) terjedő szabályozási mechanizmusát képviseli a DNS molekula fajlagos helyein bekövetkező metiláció.

(*7*) Az eukarióta DNS jellegzetes szekvenciái, különösen az ún. háztartási gének közelében található CpG szigetek, melyek a metiláció helyeiként szolgálnak és az illető DNS régió génjeinek inaktív állapotát stabilizálják. Az aktív gének közelében található CpG szigetek alulmetiláltak.

(*8*) A génaktivitás szabályozásának epigenetikus mechanizmusa a genomi rögzítés. A gének egy meghatározott – pár százra tehető – csoportja esetén nem mindegy, hogy a domináns allélt a heterozigóta utód melyik szülőtől örökli. Ezek a gének az ivarsejtek képződése során egyik szülőben inaktiválódnak, azaz vagy csak az anyától, vagy csak csak az apától örökölt allél fejtheti ki hatását. A családfán ez úgy jelenik meg, mintha ugyanaz az allél az anyától örökölve domináns, az apától örökölve pedig recesszív lenne (vagy fordítva). A petesejtben és spermiumban az inaktiválás egymást kiegészítő mintázatot követ: amelyik gén a petesejt képzésekor inaktiválódik, a spermiogenezisben aktív marad és viszont. Az elnémítás csak akkor oldódik fel, mikor az utód maga is gamétákat képez és alakul ki a petesejtre, ill. a spermiumra jellemző tartós inaktivitási mintázat. Az imprinting hátterében rendszerint az elnémuló gén metilációja áll, de vannak más, kevésbé ismert mechanizmusok is. Az inaktiválás ún. imprinting centrumokból indul és rendszerint nem egyes géneket, hanem géncsoporttokat érint.

(*9*) Az imprinting következtében klinikailag manifesztálódó kórkép akkor alakul ki, ha az érintett kromoszómákból az egyik szülőből származó – működő – példány elvész, vagy uniparentális diszómia alakul ki. Genomi rögzítés lehet a hátterében a Prder-Willi, az Angelman, ill. a Beckwith-Wiedemann szindrómának. Ugyancsak kimutatható az imprinting szerepe több rossz indulatú daganat kifejlődésénél.

Kérdések

(*1*) Hányszor több DNS van az ember, mint az *E. coli* genomjában? Nagynak számít-e az emberi genom az eukarióták viszonylatában?

(*2*) Minek tulajdonítjuk, ha egy DNS szekvencia evolúciósan konzerváltnak mutatkozik?

(*3*) Mi a szerepe az általános transzkripciós faktoroknak? Az RNS polimeráz milyen kémiai módosulása eredményezi végül az RNS szintézis megindulását?

(*4*) Mik azok a serkentő- és lassító DNS szekvenciák?

PUBLISS

(*5*) Miért van szükség a hnRNS molekulák mind 5′, mind 3′ végének módosulására?

(*6*) Milyen mechanizmus biztosítja, hogy a kromatinban az átírási egységek szabályozó szekvenciái hozzáférhetővé váljanak az RNS szintézis indításához?

(*7*) Hogyan játszhat szerepet a DNS hurkos elrendeződése a génaktivitás szabályozásában? Mi az az LCR régió?

(*8*) Intron kimetsző komplexek szerkezete és működése.

(*9*) Biológiai szempontból miért volt alapvető annak felismerése, hogy az intron kivágási folyamatokhoz nem mindig van szükség enzim-fehérjékre?

(*10*) Melyik polimeráz-féleség szintetizálja az rRNS-eket? Mi az elsődleges termék, és mik a végtermékek?

(*11*) Hogyan lehet bennünk több troponin T féleség, mint troponin átírási egység?

(*12*) Soroljon fel DNS-kötő szabályozó fehérjéket! Milyen szerepük van ezeknek az eukarióta gének aktivitásának szabályozásában?

(*13*) Melyik fehérjének van 9 cink „ujja"? Mi a szerepe ennek a fehérjének?

(*14*) Hogyan fejtik ki hatásukat a szteránvázas hormonok?

(*15*) Mik azok kijelölő, és mik a fenntartó DNS metilázok?

(*16*) Mik azok a CpG szigetek? Milyen jelentőségük?

(*17*) Mi a következménye egyes géncsoportok genomi rögzítésének (imprinting)?

(*18*) Mikor következik be az imprinting keretében az érintett gének, géncsoportok tartós inaktiválódásának rögzítése?

(*19*) Mi a következménye az imprinting mintázat megváltozásának, ha még az embrionális lét kezdetén történik? És mi a következménye az embrionális kor utáni megváltozásnak?

Válaszok

(*1*) Kb. 700x több DNS, mint az *E. coli*ban. Az emberi genom nem különösebben nagy, a szalamandra genomja pl. több, mint 30x akkora.

(*2*) Annak, hogy az illető DNS szekvencia valamely életfontos információt tárol, melynek mutációi az illető egyedek életképtelenségét eredményezték.

(*3*) A transzkripciós faktorok a promoter, ill. azon belül a TATA szekvenciákhoz kötődnek és ott több alegységes komplexszé szerelődnek össze. A DNS serkentő szekvenciáihoz kapcsolódó szabályozó fehérjéknek (TAP) a transzkripciós faktorokkal való köl-

DUPLICATE

csönhatása indítja el az RNS szintézist, amelyben az RNS polimeráz foszforilációjának fontos szerepe van.

(*4*) A szabályozandó átírási egységtől akár távol (esetenként több, mint 10 kbp távolságra 5′ vagy 3′ irányban), akár az intronszekvenciákban elhelyezkedő DNS szekvenciák, melyekhez az átírási egységet szabályozó fehérjék (TAP) kötődnek. Ezek a TATA szekvencia környékén összeszerelődött transzkripciós faktorokkal kölcsönhatásba lépve, az RNS szintézis iniciációját serkenthetik, vagy gátolhathatják. Egy-egy átírási egység működésének irányításában több serkentő/lassító szekvencia, ill. az azokon kötődött fehérjék is részt vehetnek. Fordított esetet is ismerünk, amikor ugyanaz a serkentő szekvencia két átírási egységet szabályoz aszerint, hogy melyik szabályozó fehérje van jelen.

(*5*) Az RNS molekulák szabad végeit könnyen emésztik a nukleázok. Az 5′ sapka és a 3′ poli-A farok akadályozzák az mRNS molekulák megemésztődését. A poli-A farok ezen túlmenően szereppel bír az mRNS magból való exportjában, a riboszóma által való felismerésében és a molekula stabilitásában is.

(*6*) Ismeretesek olyan kromatin átalakító komplexek (CRC), amelyek a nukleoszómákat – energiaigényes folyamat eredményeként – a DNS mentén „elcsúsztatják", vagy szétszerelik, szabaddá téve ezáltal a szabályozó szekvenciákat.

(*7*) Az eukarióták DNS-ének főtömege relaxált állapotban van, ami az RNS szintézis iniciációjának nem kedvez. A DNS hurkok letapadási pontjainak közelében topoizomeráz II található, amely negatív szuperhelikális feszülési állapotot hozhat létre, ezáltal elősegítheti a hurkokban az RNS transzkripcióját. Egyes gének közelében találunk lokusz szabályozó régiót (LCR), amely képes a gént hordozó heterokromatin régiót fellazítani, eukromatinná alakítani.

(*8*) Az intron kimetsző komplex U1...U6-tal jelölt snRNS-ekből és fehérjékből álló részecskékből felépülő nagyobb struktúra (60S). Ennek a felszínére kapcsolódik az intront tartalmazó RNS régió. Az intron végálló szekvenciáinak (5′: GU, 3′: AG) felismerése nagy pontossággal történik. Egy, a 3′ véghez közeli adenin katalitikusan hasítja az 5′ véget, majd kihasad az intron 3′ vége is. A végtermék a „lasszó" RNS, amely lebomlik.

(*9*) Az RNS biokatalitikus aktivitásának felismerése megerősítette a feltételezést, hogy az élet keletkezése közben az elsőnek kialakult makromolekula-féleség az RNS volt, és csak később fejlődtek ki a fehérjék. Az első felimerés óta több fontos biológiai rendszerben is fény derült az RNS katalitikus aktivitására. Ilyen pl. az új peptid kötések kialakulása a riboszóma nagy alegységeken.

(*10*) Az rRNS-eket az RNS polimeráz I szintetizálja, kivéve az 5S rRNS-t, amit a polimeráz III szintetizál. A magvacskában az elsődleges termék a 45S pre-riboszomális RNS, végtermékek pedig a 28S, 18S és az 5.8S rRNS.

(*11*) Úgy, hogy a troponin T hnRNS-e a benne lévő exonoknak gyakorlatilag minden kombinációja szerint átszabásra kerülhet, amely mind más-más fehérje terméket fog eredményezni. Ezeket a változatokat nevezzük fehérje izoformáknak.

(*12*)

hélix-turn-hélix
homeobox
cink-ujj
leucin cipzár
hélix-loop-hélix
} fehérjék

Ezek a fehérjék (TAP) a DNS serkentő, ill. lassító szekvenciáihoz kötődnek és a transzkripciós faktorok közbejöttével szabályozzák az RNS szintézisének iniciációját.

(*13*) Az RNS polimeráz III transzkripciós faktorának, amely a DNS-nek egy olyan belső szakaszát ismeri fel, aminek átírt szekvenciája megtalálható a géntermékben (5S rRNS, tRNS, 7SL RNS, Alu). Ebből a pozícióból serkenti az illető RNS-féleség átírásának iniciációját egy tőle 5' irányban elhelyezkedő promoterről.

(*14*) A hormonok receptorai (fehérjék) a célsejtek citplazmájában gátló fehérjéhez kötődve találhatók. Az extracelluláris térből az apoláris hormon molekulát a sejt felveszi. A citoplazmában a hormon a receptor fajlagos felismerő helyéhez kötődik, ami a gátló fehérje leválásához vezet. A hormon-receptor komplex a sejtmagba vándorol és ott serkentő DNS szekvenciákhoz kötődik.

(*15*) A kijelölő metiláz a DNS olyan új CpG szekvenciáit képes metilálni, melynek komplementer partnere sincs metilálva. A fenntartó metiláz viszont csak olyan CpG-t metilál, melynek szemben lévő szekvenciája már metilálva van. Ennek tipikus esetét a DNS replikáció után látjuk, amikor az „öreg szál" metilált, de az ujonnan szintetizált nem. A fenntartó metiláz ezáltal a metiláció mintázatát az osztódás után az utód sejtekbe át tudja juttatni.

(*16*) A CpG szigetek a CpG dinukleotidot halmozottan tartalmazó régiók, melyek a kromoszómák mentén elszórva mindenütt megtalálhatók. Nagyobb gyakorisággal vannak jelen az ún. háztartási gének közelében. Nagyobb részük metilálva van, amivel stabilizálják az illető régiókban a heterokromatin (inaktív) állapotot. A háztartási gének közelében lévő CpG szigetek nincsenek metilálva. Ezek a gének legtöbb sejtféleségben aktívak.

(*17*) A bevésődés olyan epigenetikus folyamat, melynek során a csírasejtekben nagyobb számú (pár száz) gén az illető nemére jellemző módon inaktiválódik. Itt is meghatározó folyamat a DNS metilációja. Az inaktív állapot az illető sejt utódaiba továbbadódik, így ha a bevésődés során inaktiválódott génnek a másik szülőből származó allélje bármilyen okból (pl. deléció) károsodott, az illető géntermék teljesen hiányozni fog az egyedből. Ilyen okra vezethető vissza pl. a Prader-Willi és Angelman szindróma.

PURPress

(*18*) Az egyes gének, géncsoportok tartós inaktiválódása az ivarsejtképzés során rögzül. Más gének inaktiválódnak a petesejtben, mások a spermiumban. Előtte a két genom apai és anyai inaktiválódási mintázata törlődik, ezek helyett alakul ki a genomok petesejtre, ill. spermiumra jellemző mintázata.

(*19*) Az imprinting mintázat megváltozásának leggyakoribb oka kromoszóma szakaszra, vagy egész kromoszómára kiterjedő egyszülős diszómia (UDP) kialakulása. Ez embrionális korban kialakulván az érintett kromoszóma szakaszra jellemző szindrómák (Prader-Willi, Angelman, Beckwith-Wiedemann stb.) kialakulásához vezet. Későbbi életkorban az imprinting változása rosszindulatú daganat kialakulásához vezethet.

DUPress

DUPress

DEBRECENI EGYETEM
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR
HUMÁNGENETIKAI TANSZÉK

ÁLTALÁNOS ÉS HUMÁN-GENETIKA

jegyzet

I. éves gyógyszerész hallgatók számára, valamint
a molekuláris biológus képzés céljaira

III. kötet

Debreceni Egyetemi Kiadó
Debrecen University Press
2017

DUPress

Írták:
Birkó Zsuzsa
Biró Sándor
Fehér Zsigmond
Penyige András
Schlammadinger József
Sipiczki Mátyás
Szeszák Ferenc
Szentesiné Szirák Krisztina
Vargha György
Vitális Sándor

Felelős szerkesztő:
Dr. Schlammadinger József

A technikai szerkesztés Szeszák Ferenc és Schmelczer Iván munkája.

Fedőlap: A *Drosophila melanogaster* násztánca és párosodása. A muslica a genetika fejlődése szempontjából manapság is az egyik legfontosabb kísérleti állat, a rajta tett megfigyeléseknek köszönhetjük jelen tudásunk tekintélyes részét. (Az ábra B. Burnet és K. Conolly *The Genetics of Behaviour* c. könyvben megjelent cikke nyomán [North-Holland Kiadó 1974, szerk.: J. H. F. van Abeelen] készült.)

A szerzők köszönetet mondanak Balogh Erzsébet tudományos főmunkatársnak (DE OEC Gyermekgyógyászati Klinika) számos eredeti, klinikai mintából származó kariogram rendelkezésre bocsátásáért.

ISBN 978-963-318-654-1

© Debreceni Egyetemi Kiadó Debrecen University Press,
beleértve az egyetemi hálózaton belüli elektronikus terjesztés jogát is

Kiadta a Debreceni Egyetemi Kiadó Debrecen University Press
Felelős kiadó: Karácsony Gyöngyi
Készült a Debreceni Egyetemi Kiadó nyomdaüzemében, 2017-ben

DUPress

17. A rosszindulatú daganatok kialakulásának genetikája
Szeszák F. **607**

A malignus sejtszaporodás jellegzetességei **607**
Vírusok és a daganatképződés 608
A daganatos elfajulás oka génikus rendellenesség **611**
Pontmutációk 612
Kromoszómák átrendezôdése 613
Gén-amplifikáció 614
Deléció – retinoblasztóma 616
A daganatfejlődés többlépcsős folyamat 619
A sejtciklus és a daganatképződés **620**
A sejtfelszín változásai 621
A citoplazmatikus komponensek változásai 623
A sejtmagban működő komponensek változásai 624
A tumorszuppresszor gének 624
A *p53* 625
Az *Rb1* gén hatásai 625

18. Új géntechnológiai eljárások
Fehér Zs., Biró S. **633**

Rekombináns DNS **635**
Rekombináns DNS-molekulák előállítása 636
Sejtek mint fehérje-termelő műhelyek 640
A génsebészet etikai problémái 644
Rekombináns DNS technikák **645**
Az elektroforézis és arestrikciós térképek 645
DNS szekvenálás 647
Genom projektek 651
Funkcionális genomika 652
Proteomika 653
Klóntár (génkönyvtár, génbank) készítése 653

DUPress

Szekvenciák keresése a klóntárban 658
Southern transzfer és a színlátás molekuláris biológiája 659
Genetikai markerek – DNS-markerek 664
SNP 664
Restrikciós fragmentum-hossz polimorfizmus (RFLP) 665
Huntington-chorea és sarlósejtes anémia 662
Tandem ismétlődő szekvenciák polimorfizmusai (STRP) 671
DNS fingerprinting és polimeráz láncreakció 672
PCR segítségével kimutatható egyéb polimorfizmusok (RAPD, AFLP) 675
Szomatikus sejtgenetika 676
Hibridsejtek létrehozása és szelekciója 677
Gének kromoszómális lokalizációjának meghatározása 680
Módszerek a gének lokalizációjának meghatározására a kromoszómák mentén 680
A genetikai anyag térképezése 684
Génbevitel emlős sejtekbe. Transzgénikus állatok. Génterápia 686
Génbevitel emlős sejtekbe 686
Génbeviteli technikák 687
Retrovirális vektorok 688
Szelekciós markerek 690
A génbeviteli technikák felhasználása 690
Génbevitel emlős szervezetbe 693
A transzgénikus technika alkalmazásai 694
Génterápia. Lehetőségek és perspektívák 696

19. A populációkkal kapcsolatos fogalmak Vitális S. 709

Genotípus-, fenotípus- és allélgyakoriságok 710
Az allélgyakoriság és a genotípusok gyakorisága közötti kapcsolat 712
A párválasztások gyakorisága 713
Véletlenszerű párválasztás 713
Véletlen párválasztásból származó utódok 714

DUPress

A Hardy–Weinberg törvény **714**
Egy lehetséges bizonyítás 716
A Hardy–Weinberg törvény értelmezése 717
Genotípus - gyakoriságok sorozata 718
Hardy–Weinberg törvény - bizonyítás egy másik úton 720
Néhány gyakorlati példa **721**
Sarlósejtes allél amerikai feketékben 721
Alkaptonúria és a dominancia problémája 723
AB0: egy háromalléles rendszer 725
X-hez kötött gének 726

20. Beltenyészet és izolátumok
Vitális S. 735

Rokonok és utódaik **736**
Unokatestvérek 736
Beltenyészet (Endogámia) 737
A beltenyészettség megítélése családfák vizsgálatával **741**
Közös őstől származó azonos allélek 742
A beltenyészettségi koefficiens kiszámítása 744
Bonyolultabb családfák 745
A beltenyésztés hatásai **747**
Egyes recesszív bélyegek felhalmozódása 747
Egészségi és halálozási adatok 751
Első unokatestvérek házasságából várható utódok 753
Elszigetelt populációk (Izolátumok) **753**
Recesszív betegségek az ámisok körében 754
Beltenyészés a hütteriták körében 757

21. Az evolúció
Vitális S., Szeszák F. 767

A mutáció **771**
Spontán mutációk gyakoriságának kiszámítása 774
Humán gének átlagos mutációs rátája 779

Szelekció **782**
Szelekció recesszív letális fenotípusok ellen 785
Szelekció mindkét homozigóta ellen 790

DUPress

Átvándorlás és drift **794**
Migráció és génáramlás 795
Véletlen sodródás = genetikai drift 798
Az evolúció mechanizmusára vonatkozó eltérő nézetek **800**
A drift szerepe 800
A variabilitás természete 801
A molekuláris genetika hozzájárulása az evolúcióról alkotott elképzelésekhez 804
A rasszok áttekintése genetikai szempontok szerint **806**
A rasszok létezésének realitása, és körülhatárolhatóságuk önkényes volta 807
Humán variabilitás – az emberi sokféleség 808
Egyediség (individualitás) 811

22. Genetika és orvostudomány
Schlammadinger J. **819**

A Humán Genom Program (HGP) **820**
Pár szó a történetről 821
A HGP eddigi eredményeiből 822
A HGP legújabb adatainak elérhetősége 825
Paradigmaváltás(ok) a humángenetikában 826
Néhány, már reálisnak tűnő lehetőség 827
Genetikai tanácsadás **828**
Családfa analízis 831
Az öröklésmenet feltárása 832
Ismétlődési kockázat meghatározása 832
A lehetőségek ismerete 833
Prenatális genetika **835**
Ultrahangvizsgálat 835
Amniocentézis 835
Chorionbohony-mintavétel (CVS) 837
Etikai megfontolások **840**
Pozitív és negatív eugenika 841
Eufenika 843
A HGP eredményeinek jelenlegi és várható morális és jogi kérdései 846
Tárgymutató **855**

PUPress

17. FEJEZET

A ROSSZINDULATÚ DAGANATOK KIALAKULÁSÁNAK GENETIKÁJA

A malignus sejtszaporodás jellegzetességei

Vírusok és a daganatképződés

A daganatos elfajulás oka génikus rendellenesség

Deléció – retinoblasztóma
A daganatfejlődés többlépcsős folyamat

A sejtciklus és a daganatképződés

A sejtfelszín változásai
A citoplazmatikus komponensek változásai
A sejtmagban működő komponensek változásai
A tumorszuppresszor gének

A malignus sejtszaporodás jellegzetességei

Napjainkban hozzávetőlegesen minden ötödik ember daganatos betegségben hal meg. Ez a betegségcsoport a halálokok között tehát nagyon jelentős (ha nem is a leggyakoribb). A daganatkeletkezés mechanizmusát világszerte igen kiterjedten kutatják, ami nem magyarázható pusztán a daganatok veszélyességével; a daganatkutatás és a molekuláris biológia kölcsönösen termékenyítőleg hatnak egymásra. Tudásunk az utóbbi

DUPress

10-15 évben mindkét területen azelőtt nem remélt mértékben elmélyült, az intenzív kutatások a jelenben is tartanak.

A daganatos sejtburjánzás fő jellemzői:

(*1*) A tumornövekedés klonális jellegű folyamat. A magasabbrendű, sok-sok sejtből álló szervezeten belül egyetlen – mutációt szenvedett – sejtből indul. Ez a sejt és annak utódai kiszabadulnak a szervezet növekedést szabályozó folyamatainak kontrollja alól, és korlátlan szaporodási képességet nyernek. A daganat progressziója folyamán – mint majd látni fogjuk – számos további mutációs (gyakran kromoszóma-aberrációval is járó) esemény követi egymást, a daganatos klónnak újabb szubklónjai keletkeznek. Ezt a folyamatot nevezzük ***klonális evolúció***nak. A már klinikailag is észlelhető daganatos betegség mindig összetett, többlépcsős eseménysor eredménye (l. alább). A sejtek rosszindulatú elfajulásának számos lehetőségét ismervén inkább annak magyarázata jelent elméleti nehézséget, hogy a daganatok miért nem gyakoribbak.

(*2*) A malignus tumor a szerveket, szöveteket határoló hártyákat és az erek falát áttöri, környezetébe belenő és/vagy áttétképzési tulajdonságra tesz szert. Az egész szervezetet fokozatosan elárasztó sejtek által okozott különböző működési zavarok végül összeegyeztethetetlenné válnak az élettel.

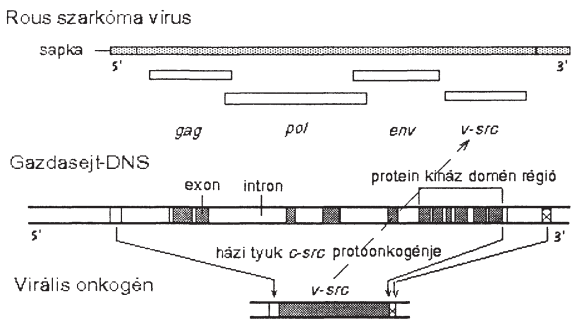
(*3*) Sok megfigyelés mutatja, hogy a szervezet immunrendszere próbál védekezni a daganatos növekedés ellen. Egy egér kb. 3 g tömegű emlőrákja (az egér kb. 25 g) naponta több millió sejtet bocsát a véráramba, de az invazív, élő daganatsejtekből csak hetek/hónapok alatt keletkezik áttétel. Ez utóbbiak kialakulását tekinthetjük úgy, mint a szervezet védekező mechanizmusának elégtelenségét, kimerülését. Vírusfertőzés is gyengítheti az ellenállóképességet. Pl. van olyan adenovírus melynek jelenlétében az I. osztálybeli fő hisztokompatibilitási antigén termelődése gátlódik a gazdasejtben. Ez hozzájárulhat ahhoz, hogy az immunrendszer nem észleli a transzformálódott sejtet mint testidegent.

VÍRUSOK ÉS A DAGANATKÉPZŐDÉS

A daganatkeletkezés mechanizmusának megértésében döntő volt az a megfigyelés, hogy kísérleti állatokban számos vírusfaj daganatot képes előidézni (17.1.-3. ábrák). A daganatkeltő vírusok között vannak olyanok, melyeknek kromoszómája dupla szálas DNS (pl. papillóma vírus), nagyobb részük mégis a retrovírusok közé tartozik, melyeknek kromoszómáját RNS alkotja. A retrovírusok szaporodási ciklusa folyamán a vírus-kromoszóma DNS kópiájának be kell ékelődnie a gazdasejt kromoszómájába. Ezekben a vírusokban olyan ún. ***onkogén***eket sikerült kimutatni, melyek a gazdasejt fertőződése után ab-

DUPress

ban daganat kifejlődését indukálják (pl. az *src* gént hordozó Rous szarkóma vírus szárnyasokban)[1].



17.1. ábra. *Src gén Rous szarkóma vírusban.* A *gag*, *pol*, és *env* gének a vírus különféle saját génjei, míg az *src* gén eukarióta eredetű, mely a vírus genomjába ékelődött. Az ábra alsó része a házityúk c-*src*-t és a v-*src*-t hasonlítja össze. Alapvető különbség a sejt protoonkogénjei és a virális onkogének között, hogy az utóbbiakból hiányoznak az intronok. A vírus onkogénekről feltételezik, hogy azok a vírus- és a gazdasejt kölcsönhatása során kerültek a vírus-genomba. Ez azonban ritka esemény, az onkogén-hordozás az illető vírus törzsek stabil sajátsága. A vírus nem mindig onkogén jelenléte révén lesz daganatkeltő.

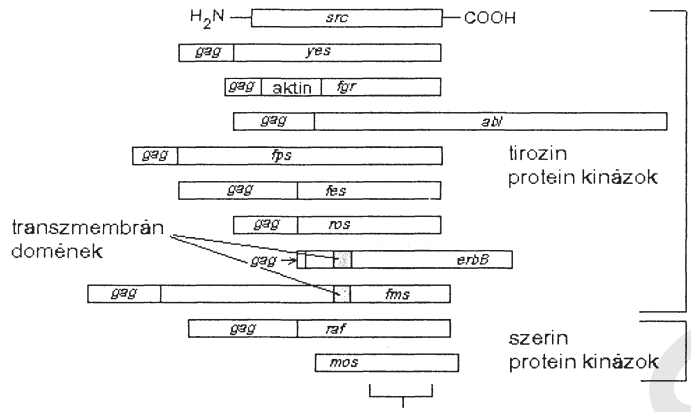
A virális onkogéneket vizsgálva – nem kis meglepetésre – azt találták, hogy az általuk kódolt fehérjék nem, vagy csak alig különböznek valamely, a sejtben egyébként is megtalálható életfontos fehérjétől, amelyeknek a génjeit pont ebből a felismerésből eredően ***protoonkogén***eknek nevezték el. A közelmúltig hozzávetőleg 60 ilyen, vírus genomban található, de egyértelműen eukarióta jellegű gént azonosítottak. Génsebészeti technikák lehetővé teszik az onkogének kimutatását olyan körülmények között is, amikor sem a géntermék fehérjét, sem annak hatásmechanizmusát nem ismerjük közelebbről. Később világossá vált, hogy az emberi daganatok kialakulását rendszerint nem tudjuk vírusfertőzésre visszavezetni, a protoonkogének károsodása más – mutációs folyamat eredménye. Ilyenkor beszélünk ***celluláris onkogénekr***ől, megkülönböztetésül a ***virális onkogének***től, melyek kívülről jutottak be a szevezetbe/sejtekbe[2].

---

[1] Az integrálódás lokalizációjának meghatározottsága szempontjából az egyes vírusfajok nem egyformák. Az ALV (Avian Leukémia Vírus) előszeretettel integrálódik a *c-myc* közelébe, de nem mindig pont ugyanarra a helyre.

[2] Elnevezések: az egyes protoonkogének jelölésére „*c*–" előtaggal kezdődő, dőlt betűs rövidítéseket használunk pl. *c-src*. Ha ezen gének megfelelőjét valamely vírusból izolálják, akkor azokat „*v*–" kezdetű jellel látják el (pl. *v-src*). A nem dőlt betűs rövidítéseket a gének által kódolt fehérjék jelölésére használjuk (pl. *p53* ➔ gén, p53 ➔ fehérje). A gén nevek előtt használt egyéb betűk (pl. *N-myc* neuroblasztómában) utalhatnak szövetféleségre vagy az állatfajra.

PUBRES



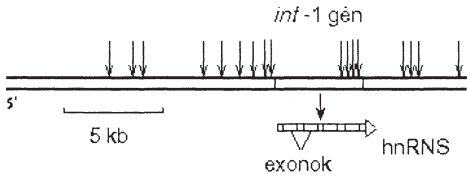
17.2. ábra. *Onkogének beépülése a vírusok genomjába.* Protein kinázokat kódoló onkogének beépülése különböző vírus-genomokba (vázlatosan). Az onkogén szekvenciák beékelődése rendszerint a vírus saját génjeinek folytonosságát szakítja meg. Ez egyrészt fúziós fehérjék képződését eredményezheti, másrészt a vírus szaporodási ciklusát, fertőzőképességét is csökkentheti. Esetenként az onkogént hordozó teljesértékű fertőző virion csak akkor fejlődik ki, ha ugyanazt a sejtet egyidejűleg egy nem defektes „segítő" (helper) vírus is megfertőzi. Ez részben magyarázhatja, hogy egy vírus közbejöttével keletkező daganat miért nem jelenik meg úgy, mint járványtanilag követhető fertőző betegség. Figyelemreméltó az is, hogy a vírus szempontjából defektusnak számító onkogén beékelődés – nyilván mivel a vírus az onkogén jelenléte révén képessé válik a gazdasejt szabályozási rendszerének „átprogramozására" – a vírus számára szelekciós előnyt biztosít (a feltüntetett *yes*, *fgr*, *abl* stb. virális onkogének, melyek közül néhányat a későbbiekben ismertetünk).

A vírus szempontjából a gazdasejt lehet „permisszív" és „nem-permisszív" állapotban. A permisszív állapotban befejeződhet a vírus teljes szaporodási ciklusa és érett virionok alakulhatnak ki. A nem-permisszív állapotban új vírus nem keletkezhet, de a sejt malignusan transzformálódhat.

A vírusok a virális onkogének/serkentő szekvenciák gazdasejt-genomba juttatásán kívül még egyéb mechanizmus szerint is indukálhatnak daganatos burjánzást. Nevezetesen, egyes fehérjéik kölcsönhatásba lépnek a sejt proliferációs szignál rendszerének különböző szabályozó fehérjéivel, azok működését megzavarják és így eredményeznek daganatos elfajulást (l. alább).

A fentiek alapján az ***onkogének***et úgy definiálhatjuk, hogy azok kifejeződése a sejtekben hibás, kóros működésű, vagy kórosan nagy mennyiségben termelődő géntermék megjelenését eredményezi.

DO NOT COPY



17.3. ábra. *Virális serkentő szekvencia beépülése* (l. 16. fejezet). A daganatos növekedést provokáló vírus nem mindig a fenti értelemben vett onkogén közbejöttével fejti ki hatását. Az ábrán látható egy egérben található az *int*-1 gént tartalmazó DNS szakasz. A gén rendellenes mértékű aktiválódása emlőrákot okoz. Ezt az aktiválódást az MMTV (*Mouse Mammary Tumor Virus*) vírussal való fertőzés eredményezi. A vírussal nem onkogén, hanem egy nagyhatású serkentő (*enhancer*) szekvencia ékelődik be az *int*-1 gén közelébe (l. 16. fejezet). A nyilak azt mutatják, hogy a beékelődés sok különböző helyen bekövetkezhet és az serkentő szekvencia bármelyik pozícióban kifejti hatását, esetenként a struktúrgéntől 10 kbp távolságban, vagy attól 3' pozícióban is. A vírus genom két végén rendszerint megtalálhatók az ún. LTR (*Long Terminal Repeat*) ismétlődő szekvenciák. Ezek gyakran rendelkeznek *enhancer* sajátsággal. A vírus genomnak a gazda genomból való későbbi kivágódása után a LTR egy-egy példánya benne marad a gazda genomban, indukciós hatása tartósan megmarad, a sejt örökletes sajátságává válik. Az így elfajult sejtben a vírus már nem mindig mutatható ki.

A dagantos elfajulás oka génikus rendellenesség

A vírusfertőzéseken kívül rosszindulatú daganatok kifejlődését figyelték meg egyes kémiai anyagok és ionizáló sugárzások hatására is. Sok esetben nyilvánvaló, hogy a daganatos betegségekre való hajlam öröklődik. Kétségtelenül kifejlődnek olyan daganatok is, melyeknek kialakulását nem tudjuk konkrét okra visszavezetni. A daganat-kiváltó tényezők jellege látszólag nagyon eltérő volt és ez megnehezítette átfogó koncepció kialakítását a daganatképződés mechanizmusára vonatkozóan.

Mára már világos, hogy a daganatképződés a sejt egy, de rendszerint több génjének mutációja eredményeként indul meg. Működésük szempontjából ezeknek a géneknek három fő csoportját különböztethetjük meg.

1) Normális körülmények között a szomatikus sejtek szaporodása a sejt környezete részéről igen finoman szabályozott folyamat, amit a sejt környezetében jelenlévő különböző növekedési- és gátló faktorok irányítanak. A külső szignálokkal a sejt különböző receptorai lépnek kölcsönhatásba. A jelzéseket egy igen összetett szignál-transzdukciós (jeltovábbító) rendszer (l. BiolJegyz, 13. fejezet) továbbítja a citoplazmába, majd a sejtmagba, eredményezvén a sejtciklus szabályozását. *A daganatképződés oka a jeltovábbító, ill. szabályozó rendszer tagjainak egy vagy több génjében bekövetkező mutáció, amely a szabályozó rendszer működészavarát fogja eredményezni.* Egyes szerzők ezeket a géneket

a *„social control genes"* névvel is illetik, melyet talán a „sejtek társas együttélését szabályozó gének" kifejezéssel fordíthatnánk.

2) A sejtek szaporodási ciklusát szabályozó gének ugyancsak összetett szabályozó rendszert alkotnak (l. BiolJegyz, 12. fejezet), melyek mutációja ugyancsak daganatos növekedéshez vezethet. Érdekes felismerés volt, hogy a protookogének termékei evolúciósan konzervált fehérjéknek bizonyultak. Úgy látszik, hogy a sejtosztódással kapcsolatos folyamatok részjelenségei nagy szelekciós nyomás alatt állnak, megváltozásuk az életben maradással nem összeegyeztethető, ezért az evolúció során fentmaradtak, nem fajspecifikusak. Például az emberi protoonkogének termékei között találjuk az élesztő oszlási ciklusában is azonosított cdc2 fehérjét (egy tirozin kináz). Több olyan kísérlet ismert, melyben az egyik fajból származó onkogént másik fajba átjuttatva ott is létrejött a malignus transzformáció.

(*3*) A sejtjeinkben több olyan gén, ill. annak terméke funkcionál, melyek a fiziológiás sejtciklusban a proliferációt gátolják. A tumornövekedés akkor indul meg, ha a vad típusú (normális) géntermék egyik homológ kromoszómáról sem termelődik. A malignitásért felelős ilyen típusú gének tehát recesszívek, bár ez alól, amint majd látni fogjuk, vannak nagyon fontos kivételek. Ezeket nevezzük ***tumor szuppresszor*** (daganat gátló) ***gének***nek.

Az onkogének hatása lehet egyrészről olyan jellegű, hogy az illető onkogént hordozó sejtvonal halhatatlanná válik[3] és lehet olyan, amely daganatos morfológiát eredményez (dedifferenciálódás). Az első csoportba tartozó onkogének termékei rendszerint a sejtmagban funkcionáló fehérjék (*myc, fos, jun* gének termékei), míg a második génesoport (*ras, src, erb3*) termékei általában citoplazma fehérjék. A sejtek halhatatlanná válásuk közben rendszerint aneuploidokká lesznek.

A daganatos sejtekben megfigyelhető genetikai elváltozások igen változatosak. Főbb típusaik:

Pontmutációk. Bármely, általánosan egyébként is ismert mechanizmus, amely mutációt okoz – mint amilyenek a DNS replikáció, vagy a DNS javító enzimrendszerek működésének zavarai, melyek rendszerint a kromoszómák fokozott törékenységével is járnak –, daganatok keletkezéséhez vezethet. Pl. a régen ismert *xeroderma pigmentosum* nevű betegségben, melyről bebizonyosodott, hogy azt a DNS javító (*repair*) enzimrendszerének zavara okozza, gyakran figyelhető meg rosszindulatú daganatos elfajulás (l. 13. fejezet). Obligát *praecancerosis*ként tekintendő kórképek még az *ataxia-teleangiectasia*,

[3] Normál szöveti sejtek, ha képesek is osztódásra *in vitro*, kb. 50 mitózis után elpusztulnak. A tumorsejtekre viszont a korlátlan szaporodási hajlam a jellemző. Ebben valószínűleg döntő szerepe van a telomeráz aktiválódásának (l. 10. fejezet).

valamint a Bloom szindróma (további részleteket illetően a megfelelő klinikai szakkönyvekre utalunk).

Protoonkogén egyetlen nukleotid-párjának cseréje is eredményezhet daganatképződést. Spontán kialakult emberi rákokban (először húgyhólyag-rákban, de azóta más daganatféleségben is) kimutattak egy olyan 21 kDa moltömegű fehérjét (rövidítve p21), mely a daganatra specifikus volt. A fehérje a *Ras* gén terméke. Ez a gén a normál sejtekben is működik. Az általa meghatározott fehérje egy G-protein (l. BiolJegyz, 13. fejezet). A gént normál és daganatszövetből is klónozták (l. 18. fejezet), megállapították, hogy a két gén kódoló szekvenciájában egyetlen bázisnyi különbség van: A 12. aminosavat kódoló bázishármasban egy G-T csere történt. A mutáció következtében a normál p21 fehérjében található glicin valinra cserélődött. Az aminosavcsere a fehérje GTP-vel való kölcsönhatását zavarja meg, miáltal az tartósan szignálkibocsátó állapotba kerül. *Ras* gén mutációt találtak pl. vastagbél rákban, emlőrákban és akut leukémiában.

Kromoszómák átrendeződése. A daganatok kifejlődése folyamán a kromoszómák morfológiájának és/vagy számának megváltozása – különösen annak késői szakaszában – majdnem minden esetben megfigyelhető (l. 17.4. és 17.5. ábra, valamint l. 11. fejezet).

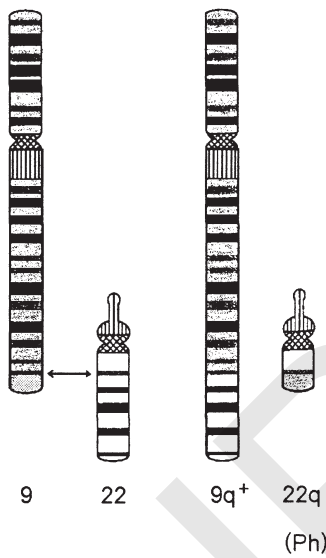
Burkitt limfómákban többféle kromoszóma transzlokációt is megfigyeltek. Ismeretes, hogy emberben az immunglobulinok génjei a 2-es (Igκ), a 14-es (IgH) és a 22-es (Igλ) kromoszómán foglalnak helyet. Itt mennek végbe azok a rekombinációs folyamatok, melyek az immunglobulin gének kialakulásához vezetnek (l. 14. fejezet). A 14-es kromoszómán található az immunglobulin nehéz lánc génje. Az antitest-gének konstans régióinak közelében találhatók a szabályozási egység normál komponensét képező serkentő szekvenciák. A 8-as kromoszómán találjuk a *c-myc* gént. Ezek között a kromoszómák között transzlokáció játszódhat le, melynek eredménye a *myc* fokozott expressziója lesz, mert az az antitest serkentő szekvenciáinak aktiváló hatása alá kerül. Természetszerűleg az aktiválódás a B limfocitákban jelentkezik elsősorban. Leggyakoribb a 14;8 transzlokáció, de a 22;8 és a 2;8 is előfordul (17.6. ábra).

A c-*myc* terméke egy magfehérje, mely a sejt proliferációs állapotát szabályozza. Normál sejtekben koncentrációja kicsi, a G_0 állapot kialakulásakor pedig eltűnik. Növekedési faktorok adagolása után pár óra alatt megfigyelhető mennyiségének meredek emelkedése.

A rosszindulatú daganatos szövetre rendszerint jellemző a kariotípus nagyfokú instabilitása. A sejtek között igen gyakori az aneuploidia (főleg hiperdiploidia) és nagyszámú, máshol nem észlelhető transzlokáció. Ez a sejtek DNS replikációs, rekombinációs és DNS javító rendszerének általános zavarára utal.

DeBreS

A folyamat hátterében meghúzódhat pl. olyan mechanizmus, mint amit a *v-mos* onkogént hordozó vírussal való fertőződés után látunk. A *v-mos* a sejtbe kerülve permanens mitózist indukál. Feltételezések szerint a géntermék úgy fejti ki hatását, hogy a ciklin B–$p34^{cdc2}$ komplex túl korai aktiválásával (l. BiolJegyz, 12. fejezet) a sejtekben beindítja a mitózist a kromoszómák érési folyamatának befejeződése előtt. Ennek eredményei lennének a megfigyelt súlyos kromoszóma aberrációk. A *c-mos* terméke – amely egyébként a MPF-et stabilizálja (l. BiolJegyz, 12. fejezet) – csak az őssejt vonalakban aktív.



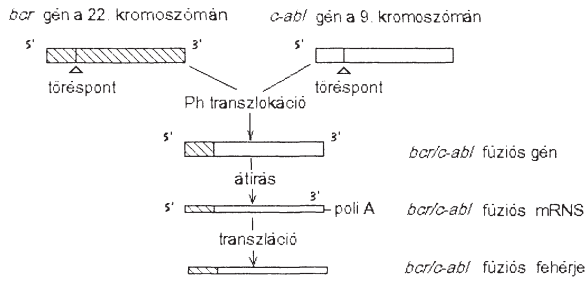
17.4. ábra. *A Philadelphia kromoszóma keletkezésének vázlata.* Láthatjuk, hogy a 9. és a 22. kromoszóma között megy végbe reciprok transzlokáció. A folyamat eredményeként keletkező kisebb kromoszómát illetik a Philadelphia névvel. Az elváltozás eredménye a krónikus mieloid leukémia kifejlődése lesz (17.5. ábra).

***Gén-amplifikáció** (-sokszorozódás).* A modern rekombináns DNS technikák alapvető felismerésekhez vezettek pl. a kissejtes tüdőrák tanulmányozásakor. A daganat a tüdő neuroendokrin jellegű sejtjeiből ered. A hagyományos kórbonctani osztályozás szerint egységes klinikai kórképben változatos genetikai hátteret találtak. Ezekre a tumorokra jellemző a *myc* gén fehérjéjének túltermelése. Ez arra vezethető vissza, hogy egyes DNS szakaszok a szomatikus sejtben lezajló folyamatok révén sokszorosan egymás végébe másolódnak, válnak ismétlődő szekvenciává.

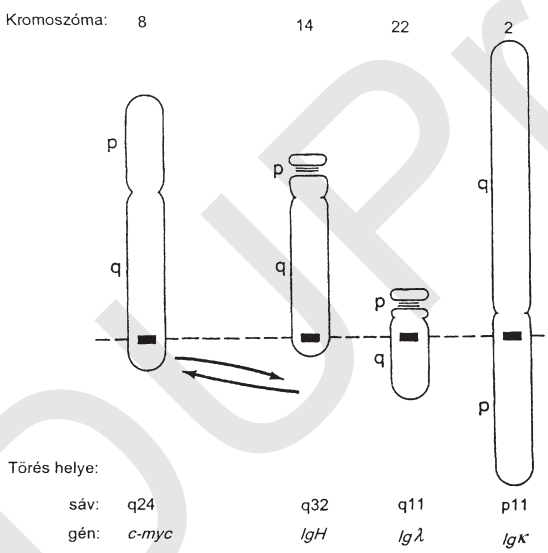
Ennek egyik alakjában a sávtechnikával analizált kromoszómákon jellegzetes, ***homogénen festődő régiók*** jelennek meg (*homogeneously staining region*, ***HSR***). A másik formánál a szokásos morfológiájú kromoszómák között a kariogramban nagyszámú (akár egy tucat vagy több), rendellenes, kicsi kromoszóma jelenik meg („*double minute* [***DM***] *chromosomes*" = ***dupla-parány-kromoszómák***). Van olyan megfigyelés, hogy a DM-ek megjelenése közben olyan gének sokszorozódnak meg, melyek révén az illető da-

DUPress

ganatsejtek rezisztenssé válnak a tumor ellen alkalmazott kemoterápiás szerekkel szemben.



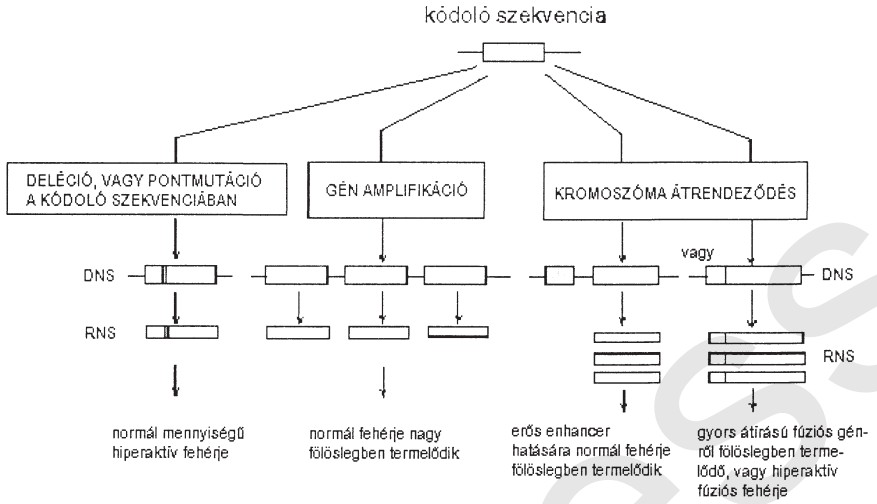
17.5. ábra. *A Philadelphia kromoszóma keletkezésének következményei.* A 22. kromoszóma hordozza a *bcr* gént. A 9. kromoszómán találjuk a *c-abl* protoonkogént, amelynek terméke egy mérsékelt tirozin kináz aktivitást mutató fehérje. A két gén között bekövetkezhet illegitim rekombináció, létrejön a *bcr*/c-*abl* fúziós gén. Ennek terméke egy fúziós protein, melynek tirozin kináz aktivitása fokozott. A fúziós protein folyamatos termelődése eredményezi a malignus transzformációt.



17.6. ábra. *Kromoszomális elváltozások Burkitt limfómában.* A *c-myc* protoonkogén (a 8-as kromoszóma hosszú karjának vége) transzlokálódhat a 14-es, a 22-es vagy a 2-es kromoszómára. A szaggatott vonal a törések helyét mutatja. Az immunglobulin gén B limfocitában, ill. helyesebben plazmasejtben van transzkripcionálisan aktív állapotban. A *c-myc* expressziója itt lesz kifejezett az átrendeződés következtében.

A rosszindulatú daganatokban megfigyelhető különféle genetikai elváltozások lehetőségeit foglalja össze a 17.7. ábra.

DuPress



17.7. ábra. *Protoonkogének aktiválódásának lehetőségei.*

DELÉCIÓ – RETINOBLASZTÓMA.

Sok különböző kísérleti rendszerben kimutatható volt, hogy a normál fenotípus domináns a tumoros felett. Ebből arra következtethetünk, hogy az ilyen daganatsejtek hiánymutánsok, szabályozó rendszerükből gátló komponensek hiányoznak. Számos megfigyelés tanúsítja, hogy egy valódi szövetes élőlény sejtjeiben egy igen hatékony, soktényezős, gátló jellegű szabályozó rendszer akadályozza a sejtek proliferációját. A tumor szuppresszor gének gátló hatású szabályozó fehérjéket kódolnak. Elméletileg elegendő, ha egy ép, natív fehérje a diploid szomatikus sejtnek csak az egyik alléljéről termelődik. A daganatos növekedés szempontjából a vad típus domináns, a mutáns allél recesszív kell, hogy legyen. Mint látni fogjuk, ez sokszor így is van – nagyon fontos kivételeket leszámítva.

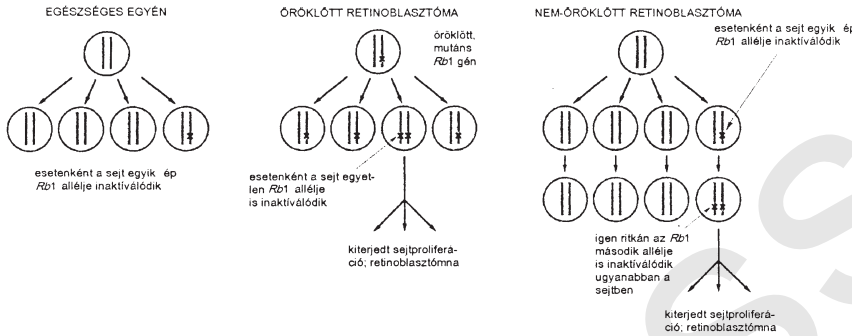
Lássuk a retinoblasztóma esetét! A retinoblasztóma kialakulásának számos részletét ma már molekuláris szinten ismerjük. A gén lokuszának többféle defektusát tudták kimutatni különböző egyénekben: hosszabb kromoszóma-szakaszok delécióját, átszabási mutációk (→ egy-egy exon nem íródik át a fehérjébe, l. 16. fejezet), pontmutációk, valamint olyan deléciók, melyek nem kódoló szekvenciákat, hanem az átíródási egység promoterét érintik.

DuPress

A 17.8. ábra középső és jobboldali sémája szerint kialakuló homozigóta recesszív állapot az *Rb*1 gén lokuszán természetesen lehet két egymástól független mutációs esemény eredménye. Direkt DNS szekvencia meghatározások eredményei viszont azt mutatták, hogy a homológ tumor-szuppresszor lokuszokon igen gyakran nem két különböző deficiens allélt találunk, hanem ugyanazon deficiens allél két kópiáját. Ez a genotípus a szomatikus sejtekben mind a teljes kromoszóma reduplikációja, mind mitotikus *crossing over*, vagy génkonverzió útján is kialakulhat (17.9. ábra). Ennek ismerete azért fontos, mert ezen folyamatok előfordulási valószínűsége jóval nagyobb, mint a mutációké, elérheti a 10^{-3}/sejtgeneráció gyakoriságot. Azt találták, hogy a heterozigóta állapot elvesztése a vázolt mechanizmusok valamelyike révén más tumor szuppresszor gének esetén is gyakran kimutatható, erre használja a szakirodalom a ***LOH*** rövidítést (*loss of heterozygosity*).

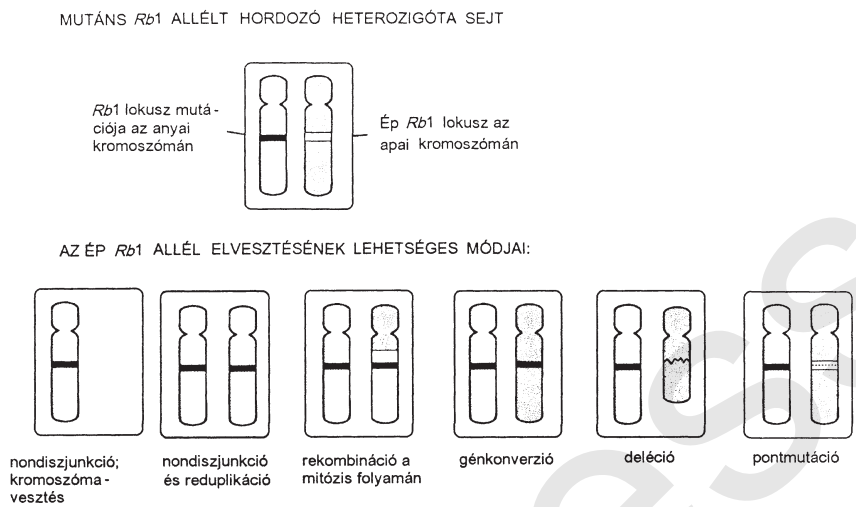
A tumor szuppresszor gének mutációjának nemcsak a funkció elvesztése, hanem annak megváltozása is lehet az eredménye. Pl. a hibás fehérje részvételével létrejön ugyanolyan negyedleges szerkezet, mint amilyen az intakt alegységek között szokott kialakulni, de az egész molekula működésképtelen lesz. Így a mutáns fehérje képes inaktiválni a homológ kromoszómán kódolt ép fehérjét is (a sejt génikusan heterozigóta!). Ez a gén ***domináns negatív karakter***e.

DUPress



17.8. ábra. *Retinoblasztóma kialakulásának lehetőségei.* A daganatnak két formája ismeretes: egy örökletes és egy nem öröklődő. A nem öröklődő forma mindig csak az egyik szemben jelentkezik és egy gócból indul. Az öröklődő forma mindkét szemet szokta érinteni és kiindulhat többszörös gócokból is. Génje a 13. kromoszóma hosszú karján van. Az esetek egy részében a 13. kromoszóma mikroszkóppal is észlelhető deléciója figyelhető meg. Egyes nem öröklődő esetekben is észlelhető a kromoszóma rendellenesség, de itt csak magukban a tumoros sejtekben. Az észleleteket a következőképpen tudjuk magyarázni: A 13. kromoszómán egy tumor szuppresszor gén (*Rb*1) található. Az ép allél terméke gátolni képes a retinoblasztóma kifejlődését. A tumorgátló hatás kifejtéséhez elegendő az egyik homológ kromoszóma alléljének ép volta, a daganatért felelős allél recesszív (az ábra bal oldala). A nem-öröklődő formánál az egyén két ép alléllel születik, a tumor kifejlődéséhez fel kell tételezzük, hogy a két allél egymástól független események eredményeként károsodik, ekkor indulhat meg a tumornövekedés (az ábra jobb oldala). Amennyiben az egyén egy hibás alléllel születik (heterozigóta), az élet folyamán képződő szomatikus sejtek között a mutációs ráták ismeretében már gyakrabban várható a másik allél mutációja, azaz a homozigóta recesszív állapot kialakulása. Ez utóbbi esetben a családfán domináns öröklődésmenetet láthatunk, jóllehet a mutáns *Rb*1 allél maga recesszív.

Dinpress



17.9. ábra. *Tumor szupresszor gén inaktiválódásának lehetőségei homológ kromoszómapáron.* (A pontozás a homológ kromoszómák megkülönböztetésére szolgál). Az általánosan ismert kromoszóma rendellenességek (l. 11 fejezet) közül több is eredményezheti a retinoblasztómával kapcsolatban tapasztalt jelenségeket.

A DAGANATFEJLŐDÉS TÖBBLÉPCSŐS FOLYAMAT

Ahogy azt már láttuk, a dagantfejlődés klonális folyamat, a daganat valószínűleg egyetlen sejtből indul, a tumor kifejlődése több sejtgenerációnyi latencia-időt igényel. A folyamathoz egyetlen aktív onkogén jelenléte rendszerint nem elegendő, több egymást követő destruktív génikus esemény után indul meg a daganatos növekedés. A szervezeten belül olyan sejtek nagy tömegei is tumormentesek maradnak, amelyek többféle onkogént hordoznak. Valószínűsítik, hogy egy – klinikailag már diagnosztizálható – daganat kifejlődéséig öt-hat mutációs esemény zajlik le, melyhez évekre van szükség. A folyamatot a vastagbél rák kifejlődésének menete jellemzi szemléletesen.

A vastagbél rákra jellegzetesek a *DCC* (*deleted in colon carcinoma*) gén mutációi. A gén 1000 kbp nagyságú, terméke egy szignál továbbító transzmembrán fehérje, melynek extracelluláris ligandja nem ismert. Sokféle szövetben kimutatható. Más daganatokban is allél vesztést (LOH) mutattak ki ezen a lokuszon.

A vastagbél rák kialakulása folyamán több génkárosodással járó eseményt figyelhetünk meg, amelyek meglehetősen szabályos sorrendben követik egymást:

(*1*) Mutáció, vagy deléció az egyik 5. kromoszóma hosszú karján, amely a *FAP* dominánsgént (familiáris adenomatózus polipózis) érinti. A mutáns gént hordozó család tagjain örökletes vastagbél polipózis jelentkezik, amely még jóindulatú daganatféleségnek számít.

(*2*) Aktiválódásos mutáció a *K-ras* génben.

(*3*) A *DCC* gén elvesztése az egyik 18. kromoszóma hosszú karjáról.

(*4*) A *p53* gén elvesztése az egyik 17. kromoszóma rövid karjáról.

(*5*) Mutáció, ill. LOH a homológ 17. kromoszóma ép *p53* génjében.

(*6*) A *c-myc* és a *c-src* protoonkogének aktiválódása.

Nem szükségszerű, hogy a felsorolt események mindig a fenti sorrendben következzenek be, de minden újabb mutáció a daganatos folyamat rosszabbodásával jár együtt. Az egyéb tumoroknál tapasztalt szabályszerűségeket is figyelembe véve azt mondhatjuk, hogy a daganatkeltő gének összetett, kölcsönös visszacsatolási pontokat magábanfoglaló szabályozási hálózatot alkotnak. A többszörös „keresztbe-szabályozás" rendszerint kölcsönös fehérje-foszforiláció/defoszforiláció útján valósul meg. A szabályozó fehérjék többnyire fehérje kinázok, melyek egymásnak, és sokszor saját maguknak is szubsztrátjai (l. alább). A szabályozási hálózat egy-egy tagjának kiesése rendszerint még nem okoz manifeszt daganatot, több tag károsodása fogja a szabályozási rendszer összeomlását eredményezni.

A sejtciklus és a daganatképződés

(Az itt következő rész kölcsönös kiegészítést képvisel a BiolJegyz,13. és 12. fejezetével.)

Hogyan kell elképzeljük a sejtciklus szabályozó rendszerét? Egy szöveti sejt proliferációját szabályozó szignál kívülről, a sejt környezetéből, vagy a szervezet távolabbi részéből érkezik.

A szabályozás kezdeti lépései a sejt felszínén mennek végbe pl. különböző növekedési faktorok és ezek receptorai között. Több membránfehérjének, ill. a citoplazma membrán belső felszínén működő fehérjének van ebben meghatározó szerepe.

Nagyszámú jeltovábbító, szabályozó komponenst találunk a citoplazmában. A sejt válasza a citoplazmában végbemenő anyagcsere változás is lehet, de a daganatképződés szempontjából a szabályozás célfolyamata a DNS replikációja és a sejtosztódás. A szabályozó rendszert – igen vázlatosan – a 17.10. ábra mutatja, amely – ha benne minden komponens hibátlan – a sejt szaporodását a szervezet egészének igényei szerint irányítja.

PUPress

A szabályozó rendszer tagjainak többsége protoonkogén, vagyis megváltozásuk, vagy kóros mennyiségben való felszaporodásuk eredménye daganatos elváltozás lesz. Ennek a fejezetnek nem lehet célja, hogy tételesen tárgyalja az onkogének oki szerepét az emberen előforduló különböző daganatféleségek kifejlődésében, csak egy pár tipikus példát ismertetünk, amelyek hozzásegítenek a daganatképződés génikus hátterének megértéséhez.

A SEJTFELSZÍN VÁLTOZÁSAI

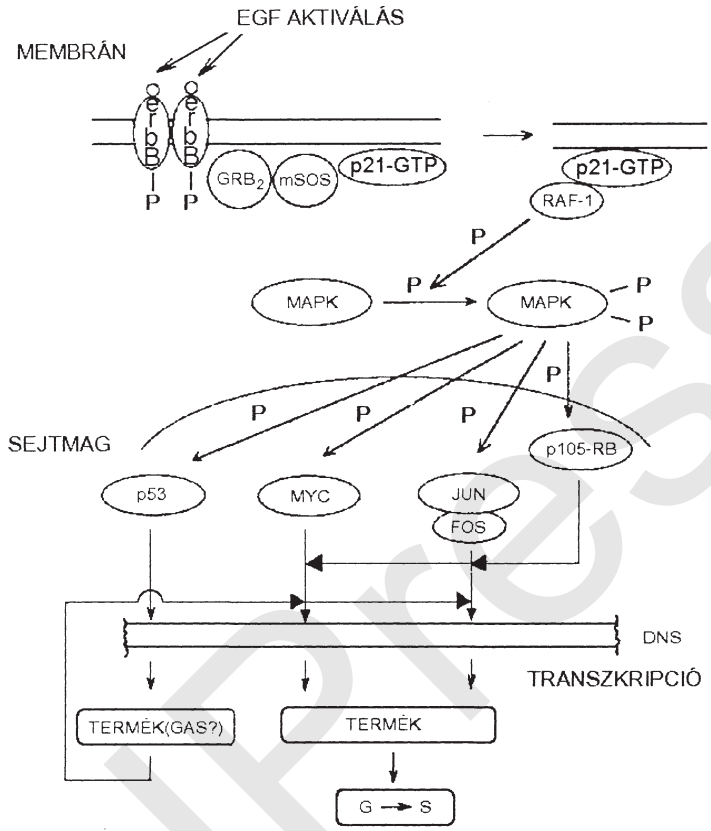
Az ún. epidermális növekedési faktor (EGF = *Epidermal Growth Factor*) a sejtek szaporodását szabályozó hormon.

A *c-erbB* gén a sejtszaporodás szabályozó rendszerének fontos része, melynek terméke az EGF receptor, amely a receptor tirozin kinázok képviselője (l. BiolJegyz, 13. fejezet). A membránt áthidaló fehérje kifelé néző része vesz részt a hormonnal való kölcsönhatásban, a citoplazmatikus oldalra eső része rendelkezik tirozin kináz aktivitással. A hormon-receptor kölcsönhatás után a receptor dimerizálódik, majd saját magát és többféle más fehérjét is foszforilál (17.10. ábra), így válik képessé a szignál továbbítására.

Az EGF receptor analógja a mutált *erb* gén terméke. Ez egy olyan fehérje, melynek a membrán belsejébe eső része és citoplazmatikus doménje megvan, de a hormon megkötésére szolgáló külső domén hiányzik. A mutáns gén által kódolt fehérje a sejt számára állandó EGF stimuláló szignált jelent.

Normális körülmények között az EGF szignál a p21 fehérjére adódik tovább. Ez utóbbi a *Ras* gén terméke. (A *Ras* mutációja szintén daganatképződéshez vezethet, melyet fentebb már bemutattunk.)

DUPress

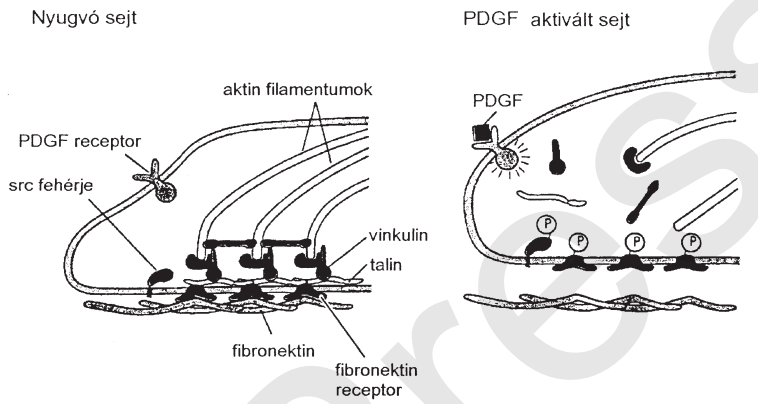


17.10. ábra. *Proliferációs szignál lehetséges hatásai.* Az EGF receptor membránfehérje, az *erbB* gén terméke,. A p21 fehérje a *Ras* gén terméke, a kis GTP-kötő fehérjék közé tartozik (BiolJegyz, 13. fejezet), a citoplazma membrán belső oldalán található. A p21 a PDGF[4] és más növekedési faktorok szignáltovábbításában is részt vesz. Az EGF receptorról a szignált közti fehérjék (GRB2 és mSOS) továbbítják a p21-hez. A p21-GTP a citoplazmában a *raf*-1 termékének, majd a MAPK (*mitogen activated protein kinase*) rendszernek továbbítja a szignált. Ezek egyes képviselői a sejtmagba is transzportálódnak. Foszforilálják az RB1-t, p53-t, valamint a *myc,* a *jun* és a *fos* protoonkogének által kódolt transzkripciós faktorokat. A P betűkkel jelölt nyilak mind foszforilációs lépéseket jelölnek. A ▶ jelek a p53 és az RB-1 gátlási pontjai, ahol azok a G1→S átmenetet gátolni képesek.

[4] PDGF = vérlemezke eredetű növekedési faktor (*Platelet Derived Growth Factor*).

A CITOPLAZMATIKUS KOMPONENSEK VÁLTOZÁSAI

Ahogy azt a 17.10. ábra is mutatja, a jeltovábbító rendszer citoplazmában helyet foglaló tagjai is igen összetett rendszert alkotnak. Ezek működészavarára szolgáltatnak példát az *src* gén mutációja után megfigyelhető elváltozások (17.11. ábra).



17.11. ábra. *Az src géntermék (egyik) hatásának vázlata.* A pp60$^{c\text{-}src}$ fehérje a sejt és annak környezete közötti kapcsolatokat szabályozza. A c-*src*-t a PDGF (l. BiolJegyz, 13. fejezet) növekedési faktor képes indukálni. A pp60$^{c\text{-}src}$ fehérje – tirozin kináz – a citoplazma-membrán belső felszínéhez kapcsolódik egy, a fehérje N-terminális végéhez kovalens kötéssel kapcsolódó telitett zsírsav farok révén. A sejt és környezetének kapcsolata – ahogy az ábra mutatja – összetett struktúrán keresztül valósul meg, melynek lényegi elemei intracellulárisan az aktin filamentumok, extracellulárisan pedig a fibronektin. A PDGF jelenlétében a pp60$^{c\text{-}src}$ fehérje maga is foszforilálódik, majd foszforilálja a fibronektin receptort és a vinkulint. Ezáltal szétkapcsolódnak a sejt és a fibronektin közötti kötések és az aktin filamentumok is elválnak a sejtmembrántól.

A v-*src* gén terméke a pp60$^{v\text{-}src}$ fehérje, amely a v-*src* gént hordozó vírussal fertőzött sejtekben szaporodik fel. A pp60$^{v\text{-}src}$ szintén tirozin kináz, a pp60$^{c\text{-}src}$-nél 8 aminosavval rövidebb. Jelenlétében a sejt foszfotirozin tartalma 10 000x-re nő. Másrészt a sejt nagy mennyiségben kezd plazminogén aktivátort is – egy proteáz – szekretálni. Az utóbbi hatására keletkező plazmin ugyancsak proteáz, mely az extracelluláris matrix fellazításában játszik szerepet.

D Press

A SEJTMAGBAN MŰKÖDŐ KOMPONENSEK VÁLTOZÁSAI

A sejtciklus szabályozásában meghatározó szerepet játszanak a ***ciklinek*** (BiolJegyz, 12. fejezet). Ezek fehérje kinázok alegységei, és a kinázok aktiválódásának pont a ciklinekhez való hozzákapcsolódás a feltétele. A kinázok innen kapták nevüket: *Cyclin Dependent Kinases*, rövidítve ***CDK***. Ebben az esetben is hasonló működésű enzimek csoportjára kell gondoljunk. Az aktív ciklin-CDK komplexek szubsztrátjai többnyire magfehérjék.

A sejtmagban találjuk közvetlenül a gének kifejeződésére ható transzkripciós faktorokat (l. 16. fejezet). A daganatok keletkezése szempontjából természetszerűen a sejtosztódást irányító gének szabályozó fehérjéi fontosak. A 17.10. ábrán szereplő protoonkogének (*myc, jun, fos*) szintén csak kiragadott példának tekintendők abból a nagyszámú génből, melyeknek mutációját a különböző rosszindulatú daganatokban kimutatták. Ezeknek működése már nem jól érthető a tumor szuppresszor gének működésének figyelembe vétele nélkül, ezért most ezeket tárgyaljuk.

A TUMORSZUPPRESSZOR GÉNEK

Működésükkel kapcsolatban emlékeztetünk az eukarióta sejtciklus ellenőrző pontjaira (17.12. ábra). A tumor szuppresszor gének ennek a sejtosztódást ellenőrző rendszernek a tagjai, melyek tehát nem csak rosszindulatú daganatos elfajulás esetén lépnek működésbe, hanem a sejt *bármely eredetű meghibásodásakor* is!

A tumor szuppresszor gének egy több komponensű, igen hatékony szabályozó rendszert képeznek, amely a sejtet G_0, ill. G_1 fázisban tartja. A *p53* és *Rb*1 gének termékei biztosan ennek a rendszernek a tagjai. Működésük jóvoltából egy klinikailag is észlelhető daganat rendszerint csak többszörös gén-károsodást követően jelentkezik[5].

---

[5] Ma már számos más tumor szuppresszor gént is jól ismerünk. Jól térképezhető, genetikai és hatástani vizsgálatok számára jól hozzáférhető gének. Ez a jegyzet nem törekedhet teljességre, egy pár további szuppresszor gént csak röviden említünk:

A Wilms tumornak nevezett vese rákban a *WT1* gén fokozott expressziója tapasztalható. A gén terméke valószínűleg transzkripciós faktor. *Embrionális veseszövetben mutatható ki, felnőtt veseszövetben már nem.* Normál körülmények között valószínűleg a veseszövet differenciálódása során van szerepe. Lokalizációja pontosan ismert, a 11. kromoszóma rövid karján található.

Az I. típusú neurofibromatosisban (Recklinghausen féle betegség) az *NF1* gént találjuk érintve. A lokusz a 17. kromoszóma hosszú karján van. Mutációi gyakoribb voltának oka lehet a gén igen nagy mérete. Fehérjéje 2485 aminosavból áll. A mutáns allél jóindulatú daganatok kifejlődését eredményezi. Neuroszarkómába mehet át. Ilyenkor megfigyelték a 17. kromoszóma rövid karjának egyidejű mutációit (a *p53* lokusz helye!).

A p53 az egyik legrészletesebben tanulmányozott és a jelek szerint egyik legfontosabb tumor szuppresszor gén. Expressziója a sejtek stressz-állapotaiban (Rtg-besugárzás, anoxia, aneuploid állapot) növekszik. Meghibásodása, elvesztése a legtöbb daganat kifejlődésének hátterében kimutatható. Transzkripciós faktor, kötőhelye az általa szabályozott gének serkentő szekvenciáiban egy 10 bp hosszúságú konszenzus szakasz, amely közvetlenül egymás után, vagy egymás közelében kell, hogy ismétlődjék. Ezekhez a p53 fehérje tetramer formában kötődik.

A 17.12. ábra tanúsága szerint aktivitása a DNS károsodásai alkalmával elsődleges fontosságú. Hatása többféleképpen is jelentkezhet. A replikáció gátlásával lehetővé teheti a meghibásodott DNS molekulák kijavítását (l. BiolJegyz, 12. fejezet), de kiválthatja a sejt ***apoptózis***át is (17.13. ábra).

Ha a sejtben jelen van a mutáns p53 fehérje, akkor a p53 hatása az esetek egy részében heterozigóta állapotban is elvész, amikor a sejtben jelen van az ép allél, vagyis a *p53* szintén mutatja a domináns negatív karaktert. Igen sokféle malignus daganatban (vastagbél, agy, tüdő, máj és húgyhólyag) találtak mutáns *p53* allélt.

A p53-nak fontos modulátora az mdm-2 fehérje. Hatását úgy fejti ki, hogy a p53-hoz kapcsolódva, azt magával viszi a citoplazmába, ahol a p53 lebomlik. Ha az mdm-2 fölös mennyiségben van jelen, fokozza a sejtek daganatos elfajulását.

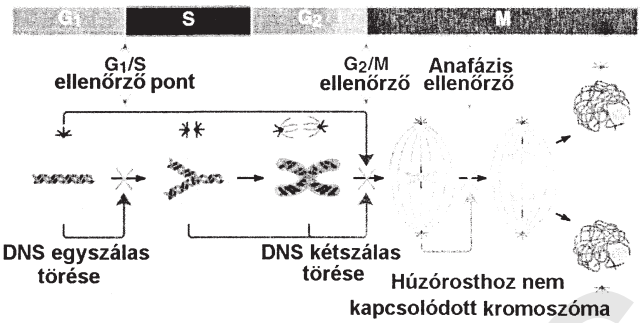
Az Rb1 gén hatásai. Az *Rb*1 gén terméke egy 928 aminosavból álló, 105 kDa foszfoprotein, rövidítve RB. Számos szövetféleségben kifejeződik (17.14. ábra).

*Rb*1 gén mutációja vagy hiánya esetén a sejtben a *myc* és a *fos* gének túl nagy intenzitással kerülnek transzkripcióra, valószínűleg ezek termékei indítják be az S fázist. A *jun* és a *fos* gének nukleáris fehérjéket kódolnak, protoonkogének. A két gén termékeként termelődő fehérjék ún. „leucin cipzár" elven kapcsolódnak egymással (l. 16. fejezet), így keletkezik az AP-1 transzkripciós faktor.

Az RB fehérje azáltal is inaktiválódhat, hogy daganatkeltő vírusok fehérjéivel (pl. a SV40 vírus T antigénjével) kapcsolódik össze, ami daganatos növekedés megindulását eredményezi.

Mutáns *Rb*1 allélt nem csak retinoblasztómán, de oszteoszarkómában, kissejtes tüdőrákban, húgyhólyagrákban és emlőrákokban is kimutattak.

DUPress



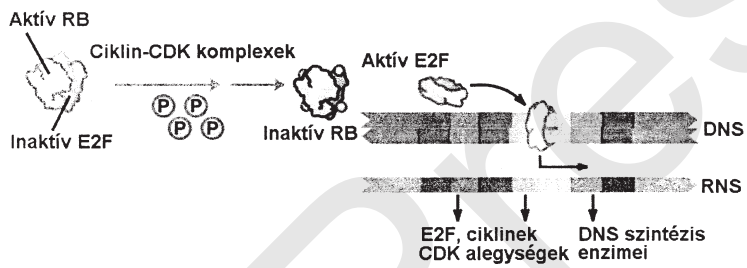
17.12. ábra. *Ellenőrző pontok az eukarióta sejt osztódási ciklusában*

	G1/S	G2/M	Anafázis
Szignál	Egyszálú DNS törés (*nick*)	Kétszálas DNS törés	Tökéletlen tapadás a kinetochorok és a húzórostok között
Receptor	p53	p53	Bub1,2,3; Mad1,2,3; Mps1
Válasz	Aktiválódik a p21→ G1/S átmenet gátlása; aktiválódik a GADD45 → DNS *repair;* aktiválódik Bax → apoptózis (lentebb)	Aktiválódik a 14-3-3σ → akadályozza a ciklin B-Cdc2 komplex defoszforilációját a Cdc25C foszfatáz gátlásán keresztül → G2/M átmenet gátlása	A receptorok aktiválódnak, → inaktív marad a Cdc20, elhúzódó, degeneratív anafázis[6]

[6] A Bub1,2,3; Mad1,2,3 vagy Mps1 génjeinek mutációja eredményezheti, hogy a Cdc20 a kromoszómák hibás tapadása mellett is aktív marad, így alakulhatnak ki aneuploidiák (l. 11. fejezet).

DUPress

17.13. ábra. *P53 hatása egyszálas DNS törés után.* A p53 fokozza a Bax fehérje termelését. A Bax dimert képez a Bcl2 fehérjével. Bax-Bcl2 dimer egyensúlynál a sejt nem lép be az S fázisba, lehetőség van a DNS károsodás javítására. A Bax további termelődésekor a Bax-Bax dimer kerül túlsúlyba, ez vezet az apoptózishoz.



17.14. ábra. *Az RB fehérje hatása.* Az aktív RB megkötve tartja az E2F transzkripciós faktort, így az serkentő hatását a DNS-en nem tudja kifejeteni. Amikor a ciklin D és A kináz komplexei foszforilálják az RB-t, az E2F felszabadul és aktíválni fogja a DNS replikációjában – és magában az E2F termelésében – szerepet játszó géneket. Ez után léphet a sejt az S fázisba.

Összefoglalás

(*1*) A malignus tumor a szerveket, szöveteket határoló hártyákat és az erek falát áttöri, környezetébe belenő és/vagy áttétképzési tulajdonságra tesz szert. A keletkezett működési zavarok végül összeegyeztethetetlenné válnak az élettel. Hozzávetőlegesen minden ötödik ember daganatos betegségben hal meg. Ez a betegségcsoport a halálokok között tehát nagyon jelentős.

DUPress

(*2*) A daganatképződés a sejt genetikai-szabályozási rendszerének a zavara, a daganatos elfajulás struktúr- és/vagy szabályozó gének hiányának, vagy mutációjának tudható be. Olyan gének károsodnak, amelyek a sejtciklus, a sejtek osztódásának szabályozásában játszanak szerepet.

(*3*) A tumornövekedés klonális jellegű folyamat. A magasabbrendű, sok-sok sejtből álló szervezeten belül egyetlen – mutáns – sejtből indul a daganatos növekedés.

(*4*) Az onkogének olyan életfontos, a sejtben mindig jelenlévő gének – protoonkogének – változatai, amelyeknek hibás, vagy fölös mennyiségű termékei vannak jelen a daganatsejtekben. Lehetnek vírus eredetűek vagy a sejt saját génjei.

(*5*) A magasabbrendűek sejtjeiben egy olyan, több génből álló rendszer funkcionál, amely a sejtek szaporodását gátolja még akkor is, amikor a sejtben már jelen vannak onkogének. Ezeket a géneket nevezzük tumor szuppresszor géneknek. Ez utóbbiak a sejtosztódás ellenőrző pontjainak részét képezik, szabályozó hatásuk nem csak a daganatképződés folyamán érvényesül, hanem a sejtszaporodás más rendellenességei esetén is.

(*6*) A gének meghibásodása létrejöhet az általánosan ismert mutációs mechanizmusok valamelyikével, gyakran kapcsolódik fénymikroszkóposan is észlelhető kromoszóma-rendellenességekkel – transzlokáció, deléció, aneuploidia stb. Kiváltó ok lehet valamely DNS szakasz sokszorozódása (gén-amplifikáció), amely a kariogramon mint bizonyos sávok kiszélesedése (HSR), vagy apró számfeletti kromoszómák megjelenése (DM) észlelhető.

(*7*) A tumor szuppresszor gének ép allélje domináns, a daganat kifejlődése tipikus esetben csak a hibás allélre nézve homozigóta recesszív állapotban indul meg. Előfordul viszont, hogy amennyiben a tumor szuppresszor gén terméke több-alegységes fehérjeként működik, hatása heterozigóta állapotban is elvész, mert az ép és mutáns allélek termékei inaktív heterodimert képeznek egymással a citoplazmában. Ezt nevezzük a tumor szuppresszor gének domináns negatív karakterének.

(*8*) A kifejlődött daganatokban a tumor szuppresszor gének recesszív állapotba került alléljeiről számos esetben azt találták, hogy azok DNS szekvenciája azonos. Ez arra mutat, hogy az allélek meghibásodása nem két független mutációs esemény eredménye, hanem a hibás allélek egymás származékai. Ezt a jelenséget nevezzük a heterozigóta állapot elvesztésének (LOH).

(*9*) A rosszindulatú daganat rendszerint többlépcsős mutációs események eredménye. Egy klinikailag már diagnosztizálható daganat kifejlődéséhez egyetlen aktív onkogén jelenléte a sejtben rendszerint nem elegendő. Csak több, egymást követő destruktív génikus esemény után indul meg a malignus növekedés, ill. válik az egyre rosszabb indulatúvá.

(*10*) A protoonkogének termékei összetett, kölcsönös visszacsatolási pontokat magában foglaló szabályozási hálózatot alkotnak. A többszörös „keresztbe-szabályozás"

DUPLICS

rendszerint kölcsönös fehérje-foszforiláció/defoszforiláció útján valósul meg. A szabályozó fehérjék többnyire fehérje kinázok, vagy fehérje foszfatázok, melyek egymásnak, sőt sokszor saját maguknak is szubsztrátjai. A rendszer feladata a jelátvitel; a sejthez kívülről érkezett stimulusok továbbítása a génekhez.

Kérdések

(*1*) Mi a jellegzetes funkiója a protoonkogének fehérje termékeinek a sejtben?

(*2*) Mit értünk azon, hogy a karcinogenézis klonális jellegű folyamat?

(*3*) Egy olyan szervezetben, amelyben aktívan növekvő rosszindulatú daganat van, nagy mennyiségű malignus sejt jut naponta a véráramba. Ehhez képest a daganatos áttétek keletkezése viszonylag ritka esemény. Milyen védekező mechanizmus lehet ezért felelős?

(*4*) Hogyan fedezték fel az első onkogéneket?

(*5*) Miben különbözik rendszerint egy virális onkogén celluláris homológjától?

(*6*) Van-e olyan daganatkeltő vírus, amelyben nincs onkogén? Mi lehet ilyen esetben a daganatos elfajulás mechanizmusa?

(*7*) Milyen szelekciós előnyt jelenthet a vírus számára, ha onkogént hordoz?

(*8*) Hibás géntermék keletkezésének mechanizmusa krónikus mieloid leukémiában (CML).

(*9*) Hogyan keletkeznek a celluláris onkogének?

(*10*) Mi az alapvető különbség az onkogének és a tumor szuppresszor gének között?

(*11*) Különböztesse meg a halhatalanná válás és a dedifferenciálódás jelenségét a daganatsejtek kifejlődése folyamán!

(*12*) Transzlokációk formái és következményei Burkitt limfómában.

(*13*) Génamplifikáció jellegzetes formái daganatsejtekben.

(*14*) A heterozigótaság elvesztésének (LOH) különböző lehetőségei daganatsejtekben.

(*15*) Hogyan hat az RB fehérje a sejtciklusra? Mi az E2F fehérje szerepe?

(*16*) A c-src fehérje hatása a sejtek extracelluláris matrixhoz való kötődésére.

(*17*) Mivel magyarázza, hogy egyes esetekben a p53 géntermék gátló hatása akkor is kimarad, amikor a sejt egyik *p53* allélje még ép?

(*18*) Mi a szerepe a Bax és a Bcl2 fehérjéknek?

DUPress

Válaszok

(*1*) Különböző növekedési faktorok receptorai, a sejt szignál transzdukciós rendszerének tagjai, vagy intranukleáris génszabályozó fehérjék, melyek a sejtciklust irányító gének kifejeződését szabályozzák.

(*2*) A karcinogenézis hátterében mutációs, és egyéb génkárosodási folyamatok állnak, melyek a szervezetnek egy-egy sejtjében játszódnak le, és ezekből a sejtekből indul ki a daganat. Mutációs események többször egymás után lejátszódnak a proliferáló sejtpopuláció egy-egy sejtjében és ezekből szubklónok alakulnak ki, nagyobb proliferációs aktivitással. A daganat sejtjei egyre több génre nézve lesznek mutánsok, a daganat egyre rosszabb indulatúvá válik.

(*3*) Immunrendszerünk a károsodott sejtek nagyobb részét felismeri, és azokat elpusztítja. Azokból a sejtvonalakból lesz daganat, melyeket az immunrendszer nem ismer fel idegenként.

(*4*) Az első onkogéneket kísérleti állatokban vírusfertőzéssel indukált daganatokban fedezték fel. Kiderült, hogy ezeknek a vírusoknak egy része olyan géneket hordoz, melyek fehérje termékei csak kismértékben különböznek a sejtben mindig jelenlévő életfontos fehérjéktől.

(*5*) A virális onkogénekben rendszerint nincsenek intronok.

(*6*) Van. A vírus által a gazdasejt genomba bevitt DNS LTR szekvenciák aktív serkentő (*enhancer*) szekvenciaként viselkedhetnek. Beépülési helyük közelében egyes gazdasejt-gének működését kóros mértékben felgyorsítják, ezáltal okozzák a sejt rosszindulatú elfajulását.

(*7*) A vírus terjedése szempontjából szelekciós előnyt jelenthet, hogy az általuk megfertőzött gazdasejtek szaporodnak el.

(*8*) A CML-ben a 22-es és a 9-es kromoszóma között reciprok transzlokáció megy végbe. Ekkor a 9-es kromoszómán található *c-abl* protookogén fúzionál a 22-es kromoszóma *bcr* génjével. A fúziós gén expressziója a *bcr* gén serkentő szekvenciáinak kontrollja alá kerül, a géntermék mennyisége megnövekszik.

(*9*) A celluláris onkogének gén-, ill. kromoszóma mutációval keletkeznek a sejtben, a folyamatban vírusfertőzésnek nincs szerepe.

(*10*) Az onkogének fehérje termékei különböznek a protoonkogének termékeitől, a sejt normális folyamatait megzavarják. Esetenként az onkogén fehérje-terméke teljesen változatlan, de fölöslegben történő termelődése vezet a normális sejtanyagcsere megzavarásához, és ezen keresztül a sejt daganatos elfajulásához. A tumor szuppresszor gének ép alléljeinek termékei a sejtosztódás gátlásában résztvevő szabályozó fehérjék. A daganatos növekedés, vagy a daganat rosszabb indulatúvá válása a tumor szuppresszor géntermékek funkciójának kiesésekor tapasztalható. A hatásmechanizmus jellegéből

PUBress

adódik, hogy tipikus esetben az onkogének dominánsak, a tumor szuppresszor gének pedig recesszívek.

(*11*) Normális szomatikus sejtek *in vitro* kb. 50 mitózis után elpusztulnak. A malignusan transzformálódott sejtek viszont korlátlan számú generáción keresztül tenyészthetők. A dedifferenciálódás azt jelenti, hogy a fokozott szaporodási készség mellett a sejtek a szervezeten belül mutatott aktivitásaiknak nagyobb részét elveszítik, pl. belső elválasztású mirigyek sejtjei nem termelnek többé hormont. Morfológiailag is az illető szövet őssejtjeihez válhatnak hasonlóvá.

(*12*) A Burkitt limfóma transzlokációs eseményei során az egyik partner a *c-myc* protoonkogént hordozó 8-as kromoszóma, a másik viszont lehet akár a 14, 22, vagy 2-es kromoszóma. Ez utóbbiakon találhatók az immunglobulinok génjei. A transzlokáció után a *c-myc* az immunglobulin gének serkentő szekvenciáinak kontrollja alá kerül, ezáltal a sejtben felszaporodik a c-myc fehérje.

(*13*) A génamplifikáció egyik mikroszkóposan észlelhető formája a homogénen festődő régiók (HSR) megjelenése a kromoszómák egyes sávjaiban. A másik forma a dupla-parány-kromoszómák (DM) megjelenése a kariogramban. Mindkét esetben valamely fehérjetermék abnormálisan nagy mennyiségben való termelődése figyelhető meg.

(*14*) a) Kromoszóma vesztés, majd az onkogént hordozó egész homológ kromoszóma megkettőződése. b) Mitotikus c*rossing over* során a hibás allél átkerül a homológ kromoszómára, az ép allélt hordozó kar pedig elvész. c) Génkonverzió ugyancsak a mitózis alatt. d) Deléció (a hibás allél csak egy példányban lesz jelen a sejtben).

(*15*) Élettani körülmények között az RB fehérje lekötve tartja az E2F transzkripciós faktort. Ha az RB foszforilálódik, vagy más okból nem tudja lekötni az E2F-t, megindulhat az S fázisba lépéshez szükséges gének átírása.

(*16*) A $pp60^{c\text{-}src}$ protein kináz, amely aktív állapotban foszforilálja a fibronektin receptort és a vinkulint. Ennek hatására a sejt külső kapcsolatai fellazulnak.

(*17*) A p53 fehérje tetramerként kötődik az általa szabályozott gének serkentő szekvenciáihoz. Heterozigóta állapotban a mutáns *p53* hibás fehérje terméke beépül a tetramerbe, ez a p53 hatást gátolhatja akkor is, ha a többi alegységek épek (domináns negatív karakter).

(*18*) A Bax fehérje a *p53* szabályozása alatt áll. A Bax fehérje élettani körülmények között a Bcl2 fehérjével alkot dimert, ami gátolja az S fázis beindulását. Ha a Bax fehérje fölös mennyiségben keletkezik, megemelkedik a Bax-Bax dimerek mennyisége, ez indítja meg az apoptózishoz vezető folyamatokat a sejtben.

DUPLEX

DUPress

18. FEJEZET

ÚJ GÉNTECHNOLÓGIAI ELJÁRÁSOK

Rekombináns DNS

Rekombináns DNS-molekulák előállítása
Sejtek, mint fehérje-termelő műhelyek
A génsebészet etikai problémái

Rekombináns DNS technikák

Az elektroforézis és a restrikciós térképek
DNS szekvenálás
Genom projektek
Funkcionális genomika
A DNS chipek működésének elve
Proteomika
Klóntár (génkönyvtár, génbank) készítése
Szekvenciák keresése a klóntárban
Southern transzfer és a színlátás molekuláris biológiája

Genetikai markerek – DNS-markerek

SNP
Restrikciós fragmentum-hossz polimorfizmus (RFLP)
Huntington-chorea és sarlósejtes anémia
Tandem ismétlődő szekvenciák polimorfizmusai (STRP)
DNS fingerprinting és polimeráz láncreakció
PCR segítségével kimutatható egyéb polimorfizmusok (RAPD, AFLP)

DuPress

Szomatikus sejtgenetika

Hibrid sejtek létrehozása és szelekciója
Gének kromoszomális lokalizációjának meghatározása
Módszerek a gének lokalizációjának meghatározására a kromoszómák mentén
A genetikai anyag térképezése

Génbevitel emlős sejtekbe. Transzgénikus állatok. Génterápia

Génbevitel emlős sejtekbe
Génbeviteli technikák
Retrovirális vektorok
Szelekciós markerek
A génbeviteli technikák felhasználása
Génbevitel emlős szervezetbe
A transzgénikus technika alkalmazásai
Génterápia. Lehetőségek és perspektívák

Bármilyen sejttípusból indulunk ki, legyen az baktérium, fehérvérsejt, spermium, tenyésztett emlős sejtek, egy szövet- vagy szervdarabka, akár felnőtt emberből akár magzatból, néhány óra alatt, tiszta formában, nagyméretű DNS molekulákat tudunk belőle izolálni. Először a sejteket feltárjuk nátrium dodecil szulfáttal (SDS) ami a sejtmembrán lipid komponenseit kioldja s ezzel a citoplazma „kifolyik". Ezt követően a sejtet alkotó molekulák közül a fehérjéket kicsapjuk egy a vízzel nem elegyedő szerves anyaggal, fenollal való óvatos összekeveréssel. Centrifugálás után a vizes fázis, mely elsősorban DNS-t tartalmaz, rendkívül viszkózus, mivel a hosszú DNS molekulák egymásra tekeredtek. A DNS molekulák etilalkohollal kicsaphatók és egy üvegbotra cérnaszál módjára felteker-hetők. Így az oldatból a nagy molekulatömegű DNS kinyerhető.

Az ilymódon vagy bármely más eljárással tisztított DNS az alapja annak az egyre fejlődő tudományterületnek, amelyet leggyakrabban biotechnológia, máskor meg génsebészet néven említenek. Annak ellenére, hogy a molekuláris biológusok furcsa terminológiát, drága műszereket, és hosszú kísérleti eljárásokat használnak, az alapelv ami szerint dolgoznak, nem nagyon bonyolult. Céljuk elsősorban, hogy különböző fajokból származó DNS molekulákat összekapcsoljanak, vagy hogy különböző fajok sejtjeit és

PUPress

sejtmagjait fúzionáltassák[1]. Ez a tudományterület rendkívül gyorsan fejlődött, és fejlődik. Watson irta a „A *Homo sapiens* molekuláris biológiája" előszavában, hogy „A tudományos fejlődés bámulatba ejt, stimulál és szinte maga alá temet bennünket. Olyan kérdésekre kapunk nap mint nap választ, amelyek megválaszolása korábban elképzelhetetlen volt." Ezen új ismeretek jövőbeli hatása az orvostudományra, a mezőgazdaságra és más emberi tevékenységekre ma még nem jól belátható.

A baktériumoktól az emberi sejtekig lényegében ugyanazok a vegyületek, ugyanazok az anyagcsere-utak találhatók meg. Az élőnek ez a biokémiai egysége magába foglalja a DNS replikáció, transzkripció, transzláció és mutáció folyamatait, az energianyerést, a transzfer folyamatokat, valamint számos bioszintetikus utat. Mivel az intracelluláris körülmények annyira hasonlóak, nem meglepő, hogy a különböző fajok sejtjei és azok alkatrészei ezen a szinten jól együtt tudnak működni. A vírusok például nem rendelkeznek riboszómával, hanem a vírus fehérjéit a gazdasejt riboszómáival szintetizáltatják meg. Ha béka petébe mikroinjektálással háziméh vagy nyúl mRNS-t juttatunk be, a pete megfelelő körülmények esetén méh mérget vagy nyúl hemoglobint termel. Humán és egér sejtek egymással fúzionáltathatók, és szövettenyészetben a hibrid sejtek fenntarthatók. Még ennél is izgalmasabb és drámaibb, hogy amikor a humán növekedési hormon génjét megtermékenyített egér petébe injektálták, a gén a magzat és a fiatal állat fejlődése során működőképes maradt, és a normális méretű egérnél kétszer nagyobb állat fejlődött ki. Olyan dohánynövény állítható elő a luciferáz enzim génjének a növénybe való bejuttatásával, amely a szentjánosbogárhoz hasonlóan sötétben világít. Tekintettel a géntermékek és különböző celluláris folyamatok ilyen nagyfokú biokémiai és fejlődési hasonlóságára a különböző fajokban, kézenfekvő volt, hogy a kutatók megpróbálkoztak maguknak a különböző eredtű géneknek az összeillesztésével is.

Ezen új technikák leírását adjuk ebben a fejezetben.

Rekombináns DNS

1973-ra kifejlesztették a gének összekapcsolásának technológiáját. Békából származó DNS fragmentumot az *E. coli* baktérium DNS-ébe ültették, ahol is a béka DNS funkcióképesen fentmaradt. Az ilyen hibrid molekulát (esetünkben béka és baktérium DNS-t tartalmazó molekulát) hívjuk ***rekombináns DNS*** molekulának. A rekombináns DNS

---

[1] Egyesek a mesterséges megtermékenyítést és az *in vitro* fertilizációt is a génsebészeti eljárások közé sorolják. Mi ezeket a 22. fejezetben külön tárgyaljuk.

molekula létrehozásában nem egyetlen faj kapcsolt vagy egymástól függetlenül öröklődő génjeinek a 4. fejezetben leírt újrarendezéséről van szó. A rekombináns DNS itt azt jelenti, hogy bármilyen eredetű, gyakran különböző fajokból származó DNS molekulákat mesterségesen kapcsolunk össze (és juttatunk be egy gazdaszervezetbe, ami leggyakrabban baktérium).

REKOMBINÁNS DNS-MOLEKULÁK ELŐÁLLÍTÁSA

A rekombináns DNS molekulák előállításában a DNS darabolására az enzimeknek egy olyan speciális osztálya szolgál, amelynek tagjai a kétszálas DNS molekulát meghatározott helyeken vágják el. Ezeket az enzimeket ***restrikciós endonukleázok***nak, vagy ***restrikciós enzimek***nek nevezzük. Baktériumokban meglehetősen elterjedtek. Természetes körülmények között, mintegy ollóként működve kettévágják a bakteriofág DNS molekuláját, megvédve ezáltal a baktériumsejtet a fertőzéstől, korlátozva ezáltal (*restrict* = korlátoz) azon fágok számát, amelyek az illető baktériumot megfertőzni képesek. A DNS molekula hasítását általában egy egyedi, 4-8 bázispár hosszúságú, ún. palindrom szekvenciánál végzik. Ugyanezen szekvencia metilációval történő módosítása a sejt saját DNS-ét megvédi, rezisztenssé teszi a saját restrikciós enzimével szemben. A különböző baktérium fajokból több száz különböző restrikciós enzimet izoláltak, melyek eltérő palindrom szekvenciákat ismernek fel.

Például az *Eco*RI nevű restrikciós enzim az alábbi 6 bp szekvenciát ismeri fel:

```
... 5' GAATTC 3' ...
... 3' CTTAAG 5' ...
```

és mindkét szálon a szomszédos G és A bázisok között hasítja a kovalens kötést. Miután a két hasítás közti 4 bázispárt összetartó hidrogén híd is felszakad, az alábbi lépcsős bevágás keletkezik:

```
... 5' GAATTC 3' ...          ... 5' G ...          AATTC 3'...
... 3' CTTAAG 5' ...   ⟶      ... 3' CTTAA ...          G 5'...
```

Az olyan kettősszálú DNS molekulát, amely az itt látható vagy ehhez hasonló egyszálú véggel rendelkezik, ***ragadós*** vagy ***kohéziós végű***nek hívjuk, mivel mindegyik molekulavégen négy párosítatlan bázis áll, melyek spontán párosodni képesek bármely rendelkezésre álló komplementer DNS szakasszal. Ez lehet akár ugyanannak a DNS fragmentumnak a vége amelytől elhasítottuk, vagy bármely más olyan DNS molekula vége, amelyet ugyanazzal a restrikciós enzimmel történt hasítással állítottunk elő.

DUPLICATES

Fontos belátni, hogy a két összekapcsolandó DNS fragmentum nem kell, hogy ugyanabból a sejtből, vagy ugyanabból a fajból származzon, hanem bármely eredetű, egymással komplementer végű két DNS fragmentum összekapcsolható egymással. A gazdasejt, amelybe a rekombináns DNS-t bejuttatjuk, leggyakrabban olyan, mutációkat hordozó *E. coli* baktérium, amelyet a bejuttatott DNS stabil megtartására alakítottak ki. Az *E. coli* kromoszómája cirkuláris kettős hélix DNS, amely mintegy négyezer polipeptidet kódol. Bizonyos *E. coli* törzsek ezen kívül olyan géneket is tartalmaznak, amelyek nem a baktérium kromoszómáján, hanem egy kis cirkuláris DNS molekulán az ún. ***plazmid***on helyezkednek el, s amelyek általában csak kevés gént hordoznak. A plazmidok kópiaszáma fajtánként változó, de általában sejtenként egy és néhány száz között lehet. Bizonyos plazmidok a rokon fajok elleni különféle toxin, míg mások antibiotikumok elleni rezisztencia géneket[2] hordoznak.

Az egyik legelső ***plazmid vektor***[3] a pBR322 jelű, amely a rekombináns DNS-sel dolgozók számára hosszú időn keresztül különösen fontos volt. 4363 bp-ból áll, s ezen belül mindössze egyszer fordul elő az *Eco*RI enzim által felismert palindrom szekvencia. Amennyiben az izolált és tisztított pBR322 plazmid DNS-t *Eco*RI enzimmel emésztjük, minden egyes cirkuláris DNS molekula egyetlen ponton hasad fel, s két ragadós egyszálú vég keletkezik. A gének összekapcsolásának döntő lépése, hogy az ilymódon linearizált plazmidot olyan idegen eredetű DNS fragmentumokkal keverjük össze, amelyeket ugyanazzal a restrikciós enzimmel (esetünkben *Eco*RI) állítottunk elő. Amikor a két DNS fragmentum összekapcsolódik, a plazmid egy olyan eszközzé válik, ami az idegen DNS sejtek közötti átvitelét teszi lehetővé.

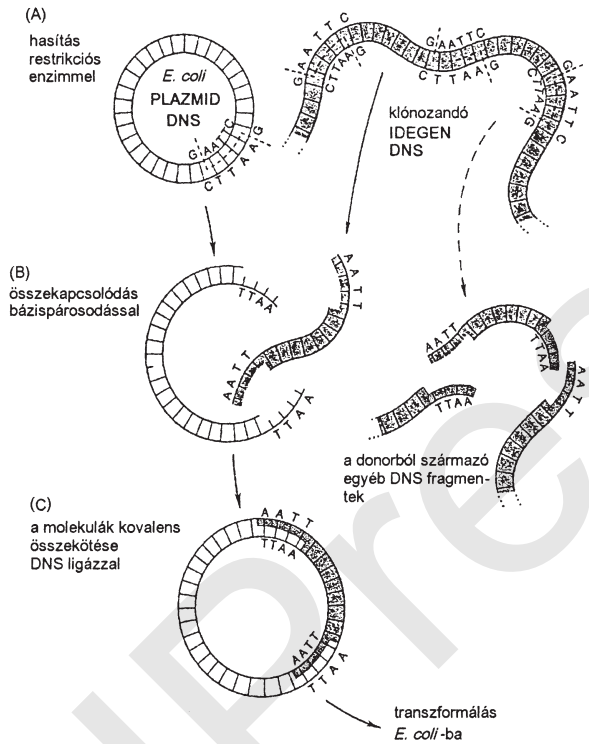
Ennek lépéseit az 18.1. ábrán mutatjuk be. Az emberi DNS-t sok-sok különböző méretű fragmentumra vágjuk. Ezek méretét a restrikciós enzim által felismert hasító helyeknek a genomiális DNS-en való elhelyezkedése határozza meg. Mivel bármely DNS fragmentum azonos valószínűséggel beépülhet a plazmidba, ezt a módszert *„shotgun"*[4] módszernek nevezik. A szál-összekötéssel helyreállított, s az idegen DNS-sel megnagyobbodott plazmid molekulát egy olyan *E. coli* törzsbe juttatjuk be, amely nem tartalmaz plazmidot. (Ehhez a recipiens baktériumot $CaCl_2$-dal kell kezelni, ami megváltoztatja a sejthatárt és lehetővé teszi, hogy a sejt plazmidot vegyen fel.)

---

[2] Az antibiotikumok elleni rezisztenciát kódoló gének orvosi szempontból különösen fontosak, mivel egy adott plazmid több különböző antibiotikum ellen is hordozhat ilyen géneket, amelyeket egymásnak átadhatnak.

[3] A vektor olyan – általában önálló replikációra képes – DNS molekula, amelybe a klónozandó idegen gént beültetjük, és azzal mint hordozó molekulával juttatjuk be a klónozáshoz használt gazdasejtbe.

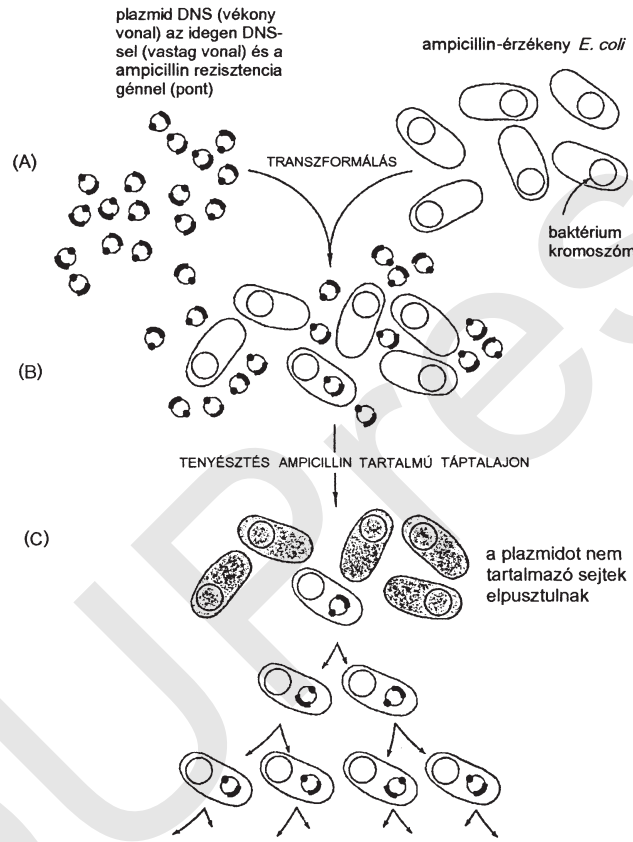
[4] A „shotgun" szó sörétes puskát jelent, s az elnevezés arra utal, hogy a sörétes puskával való vadászathoz hasonlóan a klónozás során a genom sok-sok apró részlete véletlenszerűen épül be a vektorba.



18.1. ábra. *Rekombináns plazmid vektor készítése.* (A) Egy kémcsőben az *E. coli*ból izolált plazmid DNS-t emésztjük *Eco*RI restrikciós enzimmel. Egy másik kémcsőben pedig a klónozandó idegen DNS-t (pl. emberi DNS) emésztjük ugyanazzal az enzimmel. Az enzim lépcsősen hasítja a DNS-t s így AATT bázissorrendű, ún. ragadós végeket hoz létre. (B) Ha a két, különböző eredetű DNS-t elegyítjük, a komplementaritás alapján humán DNS molekulák kapcsolódhatnak az *E. coli* plazmid DNS-hez. (C) Az így összekapcsolódott DNS molekulákat DNS ligázzal kovalensen összekötjük, a cukor és foszfát molekulák közötti foszfodiészter kötés kialakításával (ez a művelet a *ligation*, amit szál-összekötésnek fordíthatunk). A méretében megnövekedett hibrid plazmidot ezután *E. coli* sejtbe juttatjuk.

Mivel minden sejt, amely egy új plazmidot vesz fel, néhány ezer saját génnel rendelkezik, s csak néhány új gén jut be a plazmiddal, ezeket a sejteket nem hívhatjuk új fajoknak. A baktérium valójában a régi önmaga, azzal a különbséggel, hogy hordoz egy

kis darab idegen eredetű DNS-t, ami a plazmid DNS-sel együtt replikálódik, és néhány idegen RNS és polipeptid molekula szintézisét irányíthatja. Igen fontos, hogy az idegen DNS nem funkcionálhat a sejtben csak akkor, ha plazmidban vagy a kromoszómába integráltan helyezkedik el. Bármely nem integrálódott DNS fragmentumot a sejt nukleázai előbb-utóbb degradálnak.



18.2. ábra. *A plazmidot tartalmazó E. coli sejtek szelektálása.* (A) A plazmid az ampicillinnel szembeni rezisztenciáért felelős gént tartalmazza, így a plazmid tartalmú sejtek ampicillinnel szemben rezisztensek. A plazmidot nem tartalmazó sejtek ampicillin tartalmú táptalajon elpusztulnak. (B) A sejtek egy része felveszi a plazmidot. (C) Ampicillint tartalmazó táptalajon csak a plazmidot hordozó sejtek életképesek, s képesek szaporodni.

Hogyan tudja a kísérletező elkülöníteni ezeket a sejteket azon több millió sejttől, amelyek nem vettek fel plazmidot? Egy lehetséges megoldás, hogy olyan plazmiddal dol-

gozunk, amely egy antibiotikum, például az ampicillin elleni rezisztencia gént hordozza. Az idegen DNS-t és rezisztencia gént tartalmazó plazmidokat olyan *E. coli* sejtekbe juttatjuk be, amelyek nem rezisztensek az antibiotikumra. Végezetül a sejteket olyan táptalajon tenyésztjük, amely ampicillint tartalmaz, s ennélfogva csak azok a baktériumsejtek szaporodnak, amelyek az idegen DNS-t hordozó plazmidot felvették (18.2. ábra).

SEJTEK, MINT FEHÉRJE TERMELŐ MŰHELYEK

Ha egy DNS-fragmentum, amely egy plazmid molekulába van beépítve és azzal együtt replikálódik egy életképes *E. coli* sejtben, vagy amint a későbbiekben látni fogjuk, bármely más sejtben, akkor azt mondjuk, hogy az illető DNS darabot klónoztuk. A plazmidot gyakran klónozó vektornak, míg magát a rekombináns DNS molekula tiszta állapotban történő előállítását ***molekuláris klónozásnak*** nevezzük. A klón elnevezés itt *egyetlen E. coli* sejt utódait jelenti, amelyek egy adott DNS darab sok-sok példányát hordozzák. Mivel a baktériumok rendkívül nagy mennyiségben (pl. 50 köbméteres fermentor!) tenyészthetők, akár az idegen DNS, a róla szintetizálódó mRNS, akár annak transzlációs terméke, valamely polipeptid, jelentős mennyiségben előállítható további kutatás, vagy gyakorlati felhasználás céljából. Mindez egyetlen plazmidba beépített, egyetlen idegen DNS fragmentumból, melyet egyetlen *E. coli* sejtbe juttattunk.

Először egy emberi gén termékét, a szomatosztatint sikerült ilymódon *E. colival* előállítani[5].

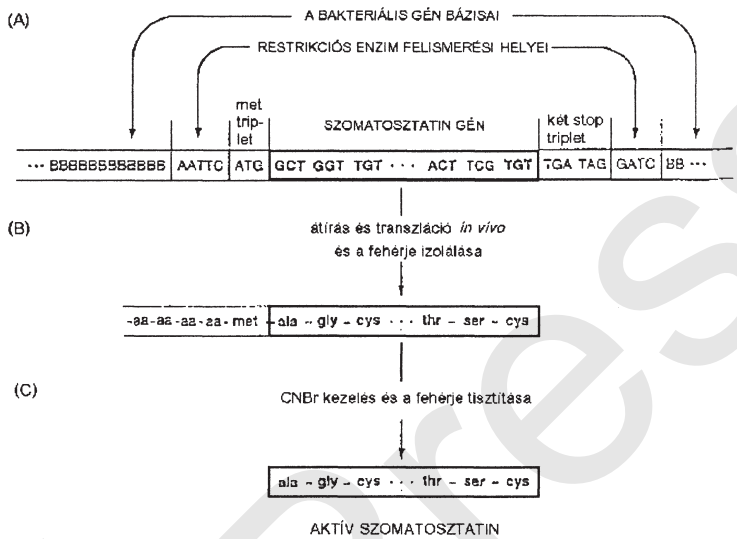
A genetikai kód és a szomatosztatin aminosav sorrendjének ismeretében a kutatók először a gén (egyik lehetséges) bázissorrendjét állapították meg. Ezután mesterségesen, az egyes nukleotidok megfelelő sorrendben való összekapcsolásával előállították a polipeptidet meghatározó kétszálú DNS molekulát. Az így kapott DNS szekvencia elé egy metionin tripletet (ATG), utána pedig két stop kodont (TGA és TAG) kapcsoltak (18.3A. ábra). Ezen 17 tripletet tartalmazó kódoló DNS kettős hélix két végéhez megfelelő ragadós végeket illesztve (ez esetben két különböző enzimfelismerő helyet használtak) a fragmentumot egy *E. coli* plazmidba ültették be. A plazmid tartalmú sejtekre antibiotikum rezisztencia alapján szelektálva előállították azt a klónt, amely a mesterséges gént tartalmazta. A mesterséges gén a sejtekben transzkripcióra és transzlációra került, mintha a baktérium saját génje lett volna.

Ebben az esetben a szomatosztatin egy másik fehérje végéhez kapcsolódva szintetizálódott, mivel a szomatosztatin gént egy bakteriális gén közepébe klónozták, a bakteriális génnel azonos leolvasási keretben (18.3B. ábra). Így a transzkripció a bakteriális gén promoterének segítségével történt. Az intakt szomatosztatint a fúziós fehérjéből

---

[5] A szomatosztatin egy 14 aminosavból álló oligopeptid, a hipotalamuszban termelődik, és a növekedési hormon kiáramlását akadályozza az agyalapi mirigyből.

cianogén bromidos kezeléssel lehet kinyerni, mivel az a polipeptid láncot szelektíven, a metionin után hasítja (18.3C. ábra). A szomatosztatin, mint az első humán polipeptid előállítása bakteriális rendszerben, megmutatta ennek az eljárásnak az óriási lehetőségeit.



18.3. ábra. *Biológiailag aktív humán szomotosztatin termeltetésének vázlata E. coliban.* A megadott szekvenciák közepéről 8 aminosavat kódoló triplet és a nekik megfelelő aminosavak nincsenek feltüntetve. (A) A szomatosztatint kódoló gént egy plazmidon lévő bakteriális génbe klónozták. A DNS kettős hélixnek csak az egyik szála van feltüntetve. Konvencionálisan ezt a szálat, amelynek szekvenciája megegyezik a mRNS szekvenciájával (kivéve hogy U helyett T van), kódoló vagy értelmes szálnak (*sense strand*) nevezzük. (Azt a szálat, amelyről a mRNS szintézise folyik templát szálnak vagy antiszensz szálnak nevezzük.) (B) A transzláció eredménye olyan fúziós fehérje, melyben a bakteriális gén aminosavaihoz (-aa-) kapcsolódva attól egy metioninnal elválasztva szintetizálódik a 14 aminosavból álló szomatosztatin. Ezt a fehérjét a szokásos fehérje tisztítási módszerekkel izolálják. (C) A CNBr (cianogén bromid), mely a fehérjéket a metionin után hasítja, a fúziós fehérjéből felszabadítja a humán szomatosztatint.

Ma már sok humán és állatgyógyászatban használatos fehérje természetű anyag előállítását végzik rekombináns DNS technikákkal, és minden bizonnyal még több ilyen megoldás születik a jövőben. Ilyen termékek pl. az inzulin a cukorbetegség kezelésére, növekedési hormon törpeség esetén, a VIII. véralvadási faktor a vérzékenységben, külön-

böző interferonok mint potenciális vírus- és tumor ellenes szerek, a szöveti plazminogén aktivátor vérrögök feloldására, stb. A rekombináns DNS technikák bőséges, megbízható forrást biztosítanak azoknak a nagy tisztaságú polipeptid termékeknek az előállításához, amelyek másképp nem, vagy csak korlátozott mennyiségben állnának rendelkezésre[6]. Ennek megvalósítására az utóbbi években számos profit-orientált biotechnológiai cég is alakult szerte a világon.

A humán inzulin előállítása rekombináns DNS technikákkal nagyon hasonló volt a szomatosztatin előállításához. Mesterségesen megszintetizálták az inzulin A génjét (18.4. ábra) és plazmidon bejuttatták *E. coliba*. Ugyancsak megszintetizálták az inzulin B génjét, és ezt is bejuttatták egy másik *E. coli* törzsbe. Ezután a megszintetizálódott polipeptidekből CNBr-dal külön külön felszabadították az inzulin A és B láncát, s azokat *in vitro* diszulfid hidakkal összekapcsolták.

A diszulfid hidak létrehozása a láncok között azonban meglehetősen rossz hatásfokú, ezért a kutatók olyan alternatív megoldást kerestek, amelyben a diszulfid hidak természetes úton jönnek létre.

Ennek megértéséhez tudni kell, hogy a humán inzulin gén egy 109 aminosavból álló polipeptidet kódol, amelynek a neve *preproinzulin*. A *pre* szekvencia tulajdonképpen szignál peptid (l. 12. fejezet), amely a RER felszínére irányítja az őt szintetizáló riboszómát. A *pro* (vagy összekötő) szekvencia pedig a megfelelő magasabbrendű szerkezet kialakulásában játszik szerepet. Ebből a preproinzulin molekulából vágódik ki azután az összekapcsolódott és megfelelő térszerkezetű, A és B láncokat tartalmazó aktív inzulin (18.4. ábra). Először (még a teljes molekula megszintetizálódása előtt) az amino terminális 23 aminosav hasad le (ez az. ún. prepeptid), (18.4B. ábra). Ezután a proinzulin molekula térszerkezete spontán kialakul, létrejönnek a diszulfid hidak, majd az A és B láncok közötti ún. C peptid is kihasad még a hasnyálmirigy β sejtjeinek intracelluláris membránrendszerén való áthaladás közben. (18.4C. ábra).

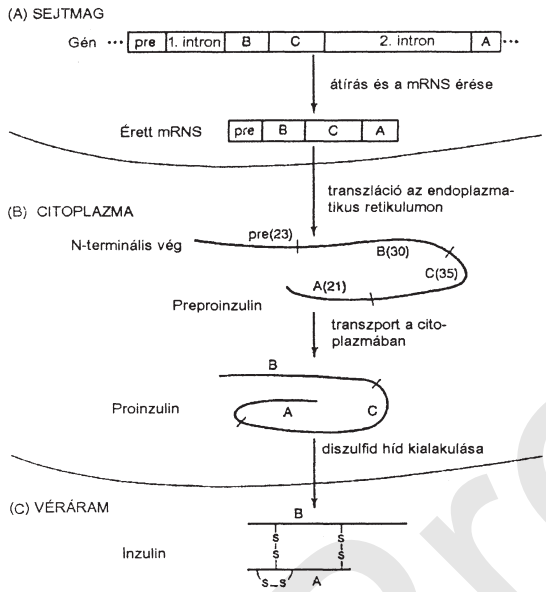
Azt a módszert választották, hogy a proinzulin molekula génjét klónozták *E. coli* plazmidba. Így a proinzulin molekulán belül a diszulfid hidak természetes körülmények között *in vivo* jöttek létre, amelyből a C peptid enzimatikusan felszabadítható.

Az emberi növekedési hormon rekombináns DNS technikával történő előállítása annyiban tért el a szomatosztatin és inzulin előállításától, hogy ebben az esetben nem mesterségesen szintetizált gént, hanem az agyalapi mirigyből származó mRNS-ről szintetizált cDNS-t[7] klónoztak. Ezt mindössze annyiban módosították, hogy a fehérje N-terminális végéről a jelszekvenciát eltávolították, és azt egy, a bakteriális transzlációban fontos metionin triplettel helyettesítették. Az így előállított szintetikus növekedési hormon annyiban tér el a természetes hormontól, hogy az N-terminális végén egy metioninnal hosszabb. Ez azonban nem befolyásolja az aktivitását, s ma már kizárólag ez használatos. Az USA-ban 1985-ben engedélyezték a rekombináns növekedési hormon alkalmazását. Ennek igen nagy jelentősége volt, mivel néhány hónappal korábban a tetemek agyalapi mirigyeiből származó növekedési hormon használatát vírusfertőzés miatt be kellett tiltani. A rekombináns növekedési hormon hiányában több ezer növekedési hormon hiányos beteg maradt volna törpe a megfelelő kezelés nélkül.

---

[6] Vegyük észre: itt sejten kívül működő molekulákról van szó. Intracelluláris feladatokat ellátó fehérjék helyükre juttatása – legalábbis ma még – nem megoldott.

[7] A cDNS = komplementer DNS (l. később).



18.4. ábra. *Az inzulin bioszintézise a hasnyálmirigy β sejtjeiben.* (A) A magon belül a 11. kromoszóma rövid karján lévő génről (mely két intront tartalmaz) szintetizálódik az érett mRNS. (B) Erről először egy preproinzulin molekula keletkezik. A zárójelben lévő számok az egyes szekvenciarészekhez tartozó aminosavak számát jelölik. A proinzulin molekulában (a C peptid kihasadása előtt) létrejön a fehérje harmadlagos szerkezete a diszulfid hidakkal. (C) Az inzulin végül a véráramba jut.

A nagyméretű 2332 aminosavból álló VIII. véralvadási faktor génjének klónozása a hemofíliások kezelésében jelent korszakos változást. Az 1960-as évek óta a betegséget vérplazmából izolált fehérjekoncentrátummal kezelték, ami rendkívül költséges. Emellett az így kezelt betegek gyakran megfertőződtek hepatitis vírussal és a megfelelő tesztek kidolgozásáig az AIDS vírusával. A rekombináns VIII. véralvadási faktor előállítása példátlanul nagy technikai kreativitást kívánt. Egy humán génkönyvtár szűrésével megállapították, hogy a gén 186 000 bp hosszú, 26 exonból áll, melyek együttes hossza mintegy 9000 bp. Végül sikerült klónozni az intronmentes gént.

A rekombináns DNS technikák egy másik alkalmazása a humán és állatgyógyászatban használatos vakcinák előállítása. Ilyenkor csak a felszíni antigének génjét klónozzák és a tiszta antigént termeltetik üzemi méretekben. Az ilyen vakcinák sokkal biztonságosabbak, mint az elölt vagy legyengített vírust tartalmazó oltóanyagok.

Az *E. coli*n kívül temészetesen más gazda-vektor rendszerek is használatosak rekombináns termékek előállítására. Az emberi véralvadási faktor génjét például szövettenyészetben fenntartott emlős sejtekben (kínai hörcsög) klónozták. Nagyon sok célra alkalmas a közönséges pékélesztő, a *Saccharomyces cerevisiae*, ami egyrészt könnyen tenyészthető mikroorganizmus, másrészt viszont eukarióta sejt, amelyben az intronkivágás, a hnRNS átszabási folyamatai végbemehetnek (l. 16. fejezet). Ún. ingázó (*shuttle*) vek-

torokat is kifejlesztettek már, amelyek mind *E. coli*ban mind élesztőben képesek replikálódni.

A GÉNSEBÉSZET ETIKAI PROBLÉMÁI

Sokan úgy gondolják, hogy a rekombináns DNS technikák rendkívül hasznosak az emberiség számára, s szilárd meggyőződésük, hogy a vele járó veszélyek beláthatók, felmérhetők és kezelhetők. Mások viszont úgy vélik, hogy az ezekkel járó egészségügyi és környezetvédelmi veszélyek túlságosan nagyok, és etikailag is megengedhetetlen a természet ily módon történő megváltoztatása, különösen ha ezzel az emberi reprodukciót is befolyásoljuk.

Tulajdonképpen a molekuláris biológusok voltak az elsők, akik ezeket az aggodalmakat megfogalmazták. 1973-ban a kutatók egy csoportja kezdeményezte, hogy az Amerikai Tudományos Akadémia foglalkozzon a rekombináns DNS kutatások potenciális veszélyeivel. Egy évre rá a Paul Berg Nobel-díjas által vezetett akadémiai bizottság bizonyos típusú rekombináns DNS kísérletek önkéntes felfüggesztését javasolta. Ez a tudósok által kibocsátott moratórium felhívás a tudomány történetében egyedülálló.

A kérdés megvitatására 1975-ben a kaliforniai Asilomarban tudósok és jogászok részvételével nemzetközi konferenciát tartottak, ahol kimondták, hogy a rekombináns DNS kutatások csak megfelelő biztonsági rendszabályok betartása mellett folytathatók. Ezen rendszabályok kidolgozásában az Asilomar Konferencia résztvevői illetve az amerikai *National Institute of Health* (NIH) kutatói működtek közre. Ekkorra már a társadalmi érdeklődés meglehetősen felfokozott volt, mivel vezető tudósok nyilatkoztak a sajtóban mind a kutatások szabályozásának szükségessége mellett, mind pedig ellene.

Ma már tudjuk, hogy az eredeti NIH szabályok túlságosan szigorúak voltak, s számos területen azóta többször is enyhítették azokat. A világon több ezer laboratóriumban folynak rekombináns DNS kísérletek, de eddig sehol sem merült fel az emberre nézve veszélyes következmény. A kutatók véleménye ma már az, hogy bizonyos rekombináns organizmusokkal való kísérletezés nem jelent nagyobb veszélyt mint ugyanazon faj nem rekombináns egyedeivel történő munka.

A vita azonban változatlanul tart, napjainkban elsősorban bizonyos, mezőgazdaságban használatos termékek környezetvédelmi hatásairól. Egy ilyen, rendkívül szenvedélyes vita alakult ki például, amikor egy rekombináns *Pseudomonas* törzset akartak tesztelni. Ez a baktérium, amely többek között a földieper levelein él, s a felületén található fehérje molekulák fagyponthoz közeli hőmérsékleten a jégkristályok kialakulásának a gócai. Ezért a kutatók egy olyan *Pseudomonas* törzset állítottak elő, amely ezt a felületi fehérjét nem termeli. Kísérletekben a földieper ültetvényt ezzel a baktériummal permetezve a növények fagyállóbbak lesznek, mivel a kipermetezett baktérium populáció kiszorítja a vad típusú populációt.

Rekombináns DNS technikák

Néhány további rekombináns DNS technika alkalmazásával mélyebb ismereteket nyertünk a színlátás, a Huntington chorea, a sarlósejtes anémia, a cisztikus fibrózis, a Duchenne-féle izomsorvadás, az Alzheimer betegség, a mániás depresszió, valamint általában az emberi jellegek öröklődéséről.

AZ ELEKTROFORÉZIS ÉS A RESTRIKCIÓS TÉRKÉPEK

Láttuk, hogy a nagy DNS molekulák restrikciós enzimmel történő emésztésével különböző, kisméretű DNS fragmentumokat kapunk. Ezek elválaszthatók és láthatóvá is tehetők ***gélelektroforézis*** révén. Elektroforézis során a DNS (vagy más) molekulák elektromos erőtérben vándorolnak egy gél állapotú anyagban. Mivel a DNS molekulák az alkalmazott pH-n (8,0-8,5) nukleotidonként egy negatív töltéssel rendelkeznek a foszfát csoportokon, ezért az anód irányába mozdulnak el. Vándorlási sebességük méretükkel arányos, minél kisebb a fragmentum, annál gyorsabban vándorol egy adott gélben.[8] Alkalmas körülmények között egyetlen bp különbség is reprodukálható módon kimutatható.

Egy ilyen gélelektroforézis eredménye látható a 18.5. ábrán. Tételezzük fel, hogy van egy 20 kbp hosszúságú DNS molekulánk. Hasítsuk ezt a molekulát *Eco*RI, és *Bam*HI enzimekkel külön-külön, illetve együttesen mindkettővel, és vigyük fel a gélre az ábrának megfelelően:

- 1. pálya: *Eco*RI emésztés
- 2. pálya: *Bam*HI emésztés
- 3. pálya: *Bam*HI + *Eco*RI kettős emésztés
- 4. pálya: emésztetlen DNS
- 5. pálya: molekulatömeg markerek, melyeknél az egyes fragmentumok mérete ismert[9]. Esetünkben ezekről feltételeztük, hogy méretük 2, 5, 7, 13, 18 és 20 kb.

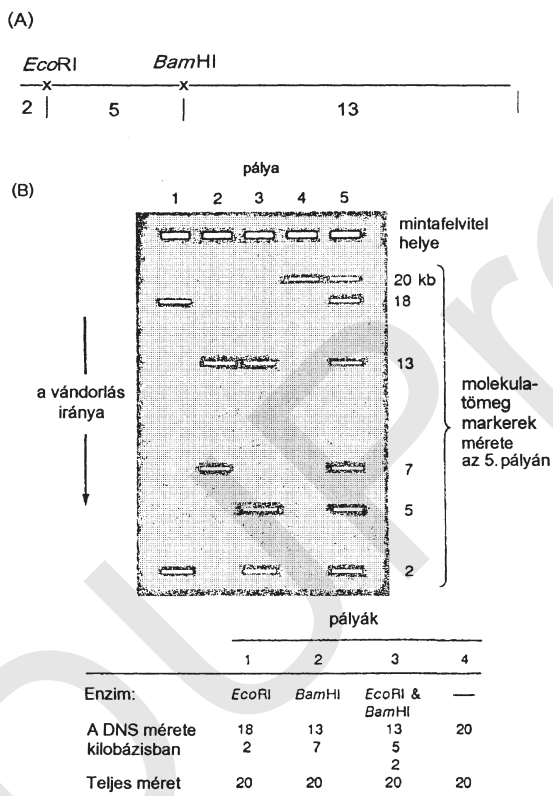
A kérdés mindig az, hogy hány enzimfelismerő hely található a DNS molekulában, és milyen távolságra vannak azok egymástól, azaz, milyen a restrikciós helyek térképe. Az *Eco*RI enzim (1. pálya) a DNS molekulát két, egy 2 és egy 18 kb nagyságú darabra

---

[8] A vándorlás sebessége a fragmentumok hosszának logaritmusával fordítottan arányos.

[9] Molekulatömeg standardként leggyakrabban a *Hind* III enzimmel emésztett λ fág DNS fragmentumait használjuk, melyek mérete 0,1 kb-tól 23 kb-ig terjed.

vágja. Ezeket restrikciós fragmentumnak nevezzük. Tehát a DNS molekulában egyetlen *Eco*RI felismerőhely van, valahol a molekula egyik végéhez közel. A 2. pálya azt mutatja, hogy a DNS molekulában ugyancsak egy *Bam*HI hasítóhely van, valahol közelebb a molekula közepéhez, mivel a keletkezett két fragmentum mérete 7 és 13 kb. Az, hogy az *Eco*RI hasítóhely a 7 vagy a 13 kb fragmentumban található-e a 3. pálya eredményéből dönthető el, amelyen a kettős emésztés eredménye látható. A 7 kb DNS fragmentum egy 2 és egy 5 kb fragmentumra hasadt, ami a 18.5. ábrán feltüntetett restrikciós térképnek felel meg.



Enzim:	*Eco*RI	*Bam*HI	*Eco*RI & *Bam*HI	—
A DNS mérete kilobázisban	18	13	13	20
	2	7	5	
			2	
Teljes méret	20	20	20	20

18.5. ábra. *DNS fragmentumok elválasztása agaróz gélen.* (A): egy 20 kbp DNS molekula hasítva *Eco*RI, és *Bam*HI restrikciós enzimekkel. (B): elektroforézis után ultraibolya fényben vizsgáljuk a fragmentumok hosszának mintázatát. A világos csíkok az etidium bromiddal festett DNS fragmentumoknak felelnek meg. Az 1-4. pályákon látható csíkok pozícióját az 5. pályán lévő, ismert méretű DNS fragmentumokéhoz hasonlítva az ismeretlen méretű fragmentumok mérete meghatározható.

A restrikciós enzimek felismerő helyeinek a bemutatottak szerint való térképezése a molekuláris genetikában szokásos, s az így nyert térkép a ***restrikciós térkép***, vagy ***fizikai térkép***, amely alapján bizonyos DNS fragmentumokat azonosíthatunk. Ezen kívül lehetőség van az illető DNS fragmentumnak a gélből való kivágására és tiszta formában való izolálására is. Az így nyert DNS fragmentumot aztán klónozhatjuk, vagy nukleotid szekvenciáját meghatározhatjuk.

DUPress

DNS SZEKVENÁLÁS

A szekvencia meghatározás azt jelenti, hogy egy egyszálú DNS molekulában meghatározzuk a DNS-t felépítő nukleotidok sorrendjét. Az egyik erre szolgáló eljárást Sanger[10] dolgozta ki. A módszer, amelyet ***didezoxi szekvenálás***nak is neveznek, azon alapul, hogy a szekvenálandó DNS szál komplementer szálának *in vitro* szintézisekor a DNS-ben szokásos dezoxi-ribonukleotidok mellett ún. 2'-3'-didezoxi-nukleotidokat is beépít a növekvő DNS láncba. Mivel ez a nukleotid-analóg nem tartalmaz hidroxil csoportot a 3'-szénatomon, amennyiben beépül, a lánc további növekedését megakadályozza, azaz terminációt okoz.

Szekvenálás alkalmával négy párhuzamos reakciót csinálunk, melyeket G, C, A és T betűkkel jelölünk. Minden egyes reakcióban azonos mennyiségű, egyszálú szekvenálandó DNS-t mint templátot, DNS polimerázt és a négy normál 2'-dezoxi-nukleotidot mérünk össze. Az utóbbiak közül egy vagy akár több is radioaktív. A négy normál dezoxi-nukleotid mellett, amely minden csőben azonos, a G jelű csőhöz alacsony koncentrációban didezoxi-guanozin-trifoszfátot, a C jelű csőhöz alacsony koncentrációban didezoxi-citidin-trifoszfátot, stb. is adunk. A DNS replikációja során, amikor az egyes bázisok beépülnek, általában a dezoxi-nukleotidok épülnek be, mivel ezeknek a koncentrációja lényegesen nagyobb, mint a didezoxi-nukleotidoké, ami egyúttal azt is jelenti, hogy a DNS szintézise tovább folytatódhat. Néha azonban a didezoxi-nukleotid fog beépülni, ami a replikáció terminációját eredményezi. Könnyű belátni, hogy véletlenszerűen, az A jelű csőben minden egyes timinnél, a T jelű csőben minden egyes adeninnél stb. meg fog történni a termináció. Példaként álljon itt a következő szekvenálandó DNS molekula:

```
3' ATAGGCTATCCCTT.... 5'
```

A, G, C és T jelölje a normál nukleotidokat, míg a megvastagított **A** a didezoxi-analógot.

Replikáció során az A jelű csőben az alábbi ötféle méretű DNS molekula szintetizálódik:

```
1.      3' ATAGGCTATCCCTT.... 5'
        5' TA 3'

2.      3' ATAGGCTATCCCTT.... 5'
        5' TATCCGA 3'

3.      3' ATAGGCTATCCCTT.... 5'
        5' TATCCGATA 3'

4.      3' ATAGGCTATCCCTT.... 5'
        5' TATCCGATAGGGA 3'

5.      3' ATAGGCTATCCCTT.... 5'
        5' TATCCGATAGGGAA 3'
```

---

[10] Sanger azon kevés kutatók közé tartozik, aki két Nobel-díjat is nyert. Az elsőt a fehérjék aminosavsorrendjének, a másodikat pedig a DNS nukleotid sorrendjének meghatározására kidolgozott módszeréért. Az utóbbit megosztva kapta Gilberttel és Paul Berggel. (Az utóbbi a rekombináns DNS technikák kidolgozásában játszott úttörő szerepet.)

DUPLICATE

Ha a csőben keletkező duplaszálú DNS molekulát denaturáljuk, a teljes hosszúságú DNS molekula mellett a fenti öt adeninre végződő fragmentum is jelen lesz.

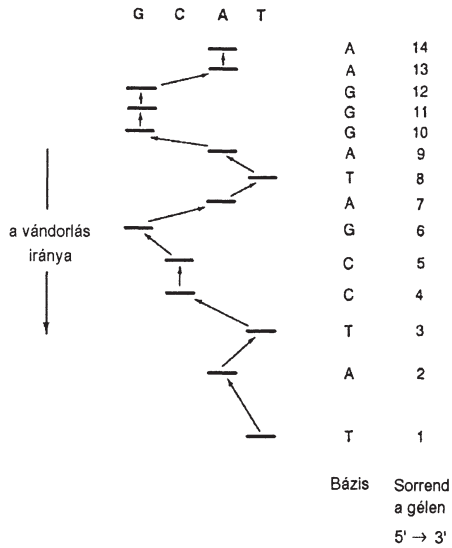
A fentihez hasonló módon a G, C és T jelű csövekben is megszintetizáljuk az összes különböző méretű, guaninra, citozinra és timinre végződő DNS fragmentumot. A négy cső együttesen tehát tartalmazza az összes lehetséges különböző méretű DNS molekulát: 1, 2, 3 stb. nukleotidtól egészen a templát teljes hosszáig, de legalábbis néhány száz bp-ig. Ezek a fragmentumok azután elektroforézissel elválaszthatók egymástól.

A DNS fragmentumok elválasztása egy nagyméretű (legalább 40 cm hosszú) és rendkívül vékony (0,2–0,4 mm), két üveglemez közé öntött poliakrilamid gélen történik. A négy párhuzamos reakcióelegyet (G, C, A, T) közvetlenül egymás melletti pályákra visszük fel, majd igen magas feszültséggel (2000 V) elektroforetizálunk. Az egyes fragmentumok a gélben méretüknek megfelelő sebességgel vándorolnak. A legrövidebb vándorol leggyorsabban, amit az 1. pozícióban levő nukleotidnak nevezünk, amint az a 18.6 és 18.7. ábrán tovább követhető.

Egyetlen gélről mintegy 400–500 bp hosszúságú szekvencia olvasható le. A többi csík túlságosan közel van egymáshoz, s így sorrendjük már nem dönthető el (l. 18.7. ábra). A komplementer szál szekvenálásával a szekvencia helyessége ellenőrizhető. Hosszabb DNS darabok szekvenciája rövid, egymással átfedő szakaszokból határozható meg.

A DNS szekvenálás ma már olyan egyszerű és hatékony eljárás, hogy a fehérjék aminosav sorrendjét is egyszerűbb és gyorsabb a fehérje génjének szekvenálásával meghatározni. (Ma már pl. a HLA tipizálást is DNS alapon végzik, nem az egyes antigének meghatározásával, l. 7. fejezet.) Ezt az utat választották két X kromoszómához kötötten öröklődő betegség esetében is. Az egyik a hemofília A, amelyben a géntermék a VIII. véralvadási faktor, illetve a krónikus granulomatózis (*chronic granulomatous disease, CGD*), amelyben a géntermék ismeretlen volt. Az utóbbi esetben a fagocitáló fehérvérsejtek anyagcsere defektusa miatt a betegek ismételten súlyos bakteriális fertőzésekben szenvednek. A gént, amely a Duchenne-féle izomsorvadás génjéhez közel helyezkedik el, meglehetősen körülményesen, de klónozták (l. később), és jelenleg a géntermék fehérjét tanulmányozzák.

Bizonyos más betegségekért felelős gének és az általuk meghatározott fehérje vizsgálata ugyancsak folyamatban van. Így például sikerült megfelelő RFLP marker alkalmazásával a Huntington chorea génjét lokalizálni (a 4 kromoszóma rövid karjának végére). Ezen gén lokalizálásának, illetve a gén azonosítására szolgáló próbának az ad különös jelentőséget, hogy a betegséget egy dominánsan öröklődő, csaknem 100% penetranciájú gén okozza, mely a gént hordozókban 35-42 éves korban manifesztálódik. (A géngyakoriság 1:20000.) Az ilyen gének gyakorisága a populációban viszonylag magas maradhat, mivel kései kifejeződése a reprodukciót nem akadályozza.

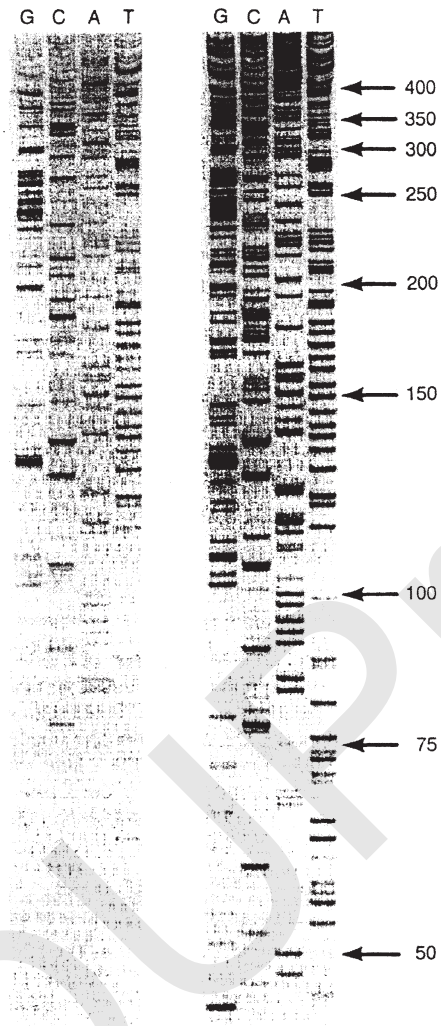


18.6. ábra. *Egy didezoxi szekvenáló gél autoradiogramjának vázlata.* A négy párhuzamos függőleges pályán a különböző méretű, sorrendben G, C, A és T bázisokra végződő DNS fragmentumok pozíciója van feltüntetve. A legrövidebb a T pályán lévő, egyetlen bázist tartalmazó T, az A pályán lévő AT dinukleotid, és így tovább. Az ábrán megadott módon, a nyilaknak megfelelően haladva a templáton szintetizálódott (azzal komplementer) új szál szekvenciája leolvasható. A csíkok azért sötétek, mert a szintézis során a beépített nukleotidok közül egy vagy több is radioaktív, ami ha a gélt röntgen-filmmel lefedjük, azon feketedést okoz. A rajz tehát az előhívott röntgen-film képe (= ***autoradiogram***).

A cisztikus fibrózis (géngyakoriság bizonyos populációkban 1:2500) génjének lokalizációját is hasonló elvek alapján sikerült meghatározni, majd speciális technikák, a *„chromosome walking"* (sétálás a kromoszómán) és *„chromosome jumping"* (ugrálás a kromoszóma mentén) segítségével a gént klónozták is. A gén szekvenálásával sikerült a génterméket is azonosítani, ami egy membránfehérje, amely a klorid ionok membrántranszportjában játszik szerepet. Ugyancsak megállapították, hogy az esetek átlagosan mintegy 70, de populációnként változó százalékában (30% Dél-Európában és 95% Dániában) a betegséget ugyanaz a 3 bp delécióját (s egyetlen fenilalanin kiesését) jelentő mutáció eredményezi. Annak ellenére, hogy a maradék mintegy 30%-ért hozzávetőleg 60 különböző mutáció felelős, a cisztikus fibrózis molekuláris genetikai diagnosztizálása felbecsülhetetlen értékű.

A DNS szekvenálás fejlesztésében a következő lépés a szekvenálás automatizálása volt. Ez egyúttal megkívánta az adatok gyűjtésében, tárolásában, kezelésében és analízisében új, hatékony számítógépes programok és nagy teljesítményű komputerek használatát is. (Az emberi genom 3 milliárd bázispárjának oldalanként 6000 leütéssel történő legépelése pl. mintegy 500 000 oldalon lenne lehetséges.[11])

[11] Összehasonlításként, e jegyzet oldalain átlagosan kb. 3000 karakter, ill. szóköz található.



18.7. ábra. *Egy didezoxi szekvenáló gél autoradiogramja.* A bal oldali kép 2 óra, a jobb oldali 6 óra expozíció után készült. A számok egy ismert kiindulási ponthoz viszonyítva az egyes bázisok pozícióját jelzik. Erről a gélről 375 bp volt leolvasható. Gyakorlásképpen olvassák le a 100-110 bp közötti szekvenciát, ami ACGAGCCGGAA.

Ezen új technológia felhasználásával az elmúlt években már nagyobb genetikai programok indítása is lehetséges volt. Ilyenek a különböző élőlények teljes genomjának szekvenálására szerveződött programok, mint például az *E. coli*, a *Saccharomyces cerevisiae* illetve a humán genom projekt (*Human Genome Program,* a továbbiakban HGP). Ezeknek a genetikai programoknak a hasznossága a humán gyógyászatban (az egyes öröklődő betegségek természetének, az öröklődés mechanizmusának megértésében, a diagnosztikában, a rákkutatásban), továbbá gazdasági haszna a mezőgazdaságban nyilvánvaló. Ezen programok hasznossága mellett azonban máris felmerülnek kételyek ill. az adatok bizalmas kezelésének igénye is. Ilyen például hogy ki juthasson (egészségügyi intézmények, szervezetek) ill. ki ne juthasson (biztosítók, munkaadók, stb.) ezeknek az adatoknak a birtokába.

1995-ben közölték a *Haemophilus influenzae*[12] genomjának teljes szekvenciáját, ma még talán teljességében be sem látható távlatokat nyitva a molekuláris genetikában.

[12] A gyermekkori akut bakteriális agyhártyagyulladás kórokozója.

Ez volt az első élőlény, amelynek a teljes genomja ismertté vált. 1996-ra pedig a *Saccharomyces cerevisiae* genomjának – 17 kromoszómája van – szekvenálása is befejeződött.

GENOM PROJEKTEK

A különböző rekombináns DNS technológiák (nagy DNS fragmentumok klónozása, térképezése, a DNS szekvenálás automatizálása, szekvenciaadatok komputeres feldolgozása, stb.) gyors fejlődése megnyitotta az utat egy sor élőlény genomi szekvenciájának meghatározásához. Ma már néhány modell élőlény (*E. coli, Saccharomyces cerevisiae, Caenorhabditis elegans, Drosophila melanogaster,* egér) mellett több mint 100 ipari vagy egészségügyi szempontból fontos ősbaktérium, eubaktérium, gomba és magasabbrendű eukarióta élőlény genomi szekvenciája ismert. Ebben a sorban a legnagyobb és legjelentősebb a humán genom projekt befejezése. A humán genom szekvenálása és a szekvencia ***annotáció***ja[13] befejeződött, de következményei, hatása a jövő orvostudományára ma még beláthatatlan.

A genom projektek számos hasznát azonban már ma is tisztán látjuk. A patogén mikroorganizmusok genomjának ismerete pl. új vakcinák előállítását segítheti. A genomi szekvenciák ismerete általában segítheti a betegségek, az egyedfejlődés, az öregedés és más biológiai folyamatok megértését. Ezek végső soron az élővilág s annak evolúciós történetének megértését is előbbre viszik.

A genomok ismerete új kérdéseket is felvet. Az egyes genomok összehasonlítása pl. azt mutatta, hogy az ősbaktériumok replikációja és transzkripciója inkább az eukariótákhoz, míg metabolizmusuk, s metabolikus génjeik inkább a baktériumokhoz hasonlítanak. Az ősbaktériumok genomjának mintegy fele egyedi, csak az ősbaktériumokra jellemző. Azonban sem az ős-, sem a valódi-baktériumok genomja nem tartalmaz az aktin alapú citoszkeleton fehérjéinek génjeihez hasonló géneket, ami az rDNS szekvencia adatokkal egyetemlegesen arra utal, hogy az eukarióta sejt kialakulásában ma még nem azonosított élőlények is szerepet játszottak.

A genomi szekvenciák összehasonlítása és analízise szintén lehetségessé vált. A *H. influenzae* baktériumban pl. 1709 fehérje kódoló szekvencia található, amelyek 1247 egyedi fehérjét, és 178 fehérje családot kódolnak. Ezeknek a fehérje családoknak a tagjai paralógok, olyan homológok, amelyek egy közös ősi gén duplikációjával, majd az azt kö-

---

[13] Annotáció: egy konkrét, ismert, vagy csak feltételezett gén azonosítása a genomi szekvenciában. Ennek során azonosítják pl. az exonok és intronok pontos helyét a génben, a gén fehérje termékének aminosav sorrendjét és annak feltételezett funkcióját. Mindezek az adatok ma már az internetes adatbázisokban hozzáférhetők.

vető divergenciával keletkeztek. A *H. influenzae* „core proteom" (az adott organizmus genomjában kódolt egyedi fehérjéket és a fehérje családokat jelenti, azaz 1247+178= 1425) 1425 fehérjét tartalmaz.

Az eukarióták proteomja lényegesen nagyobb. Az élesztő 6241 potenciális fehérje kódoló szekvenciájából 4383 a core proteom fehérjéinek száma. Ugyanezek a számok a *C. elegans* esetében 18424 és 9453, a gyümölcslégy esetében pedig 13601 és 8065. Igencsak meglepő, hogy a rendkívül komplex soksejtű gyümölcslégy, amely idegi szabályozással, szövet és szervrendszerekkel rendelkezik, s igen bonyolult egyedfejlődésen megy keresztül, csak mintegy kétszer annyi fehérjével rendelkezik, mint az élesztő.

Ha az élesztő, a *C. elegans* és a gyümölcslégy fehérje szekvenciáit összehasonlítjuk, azt tapasztaljuk, hogy közöttük igen sok a nagy fokban hasonló fehérje. Ezeket ortológoknak nevezzük, melyek olyan homológok, amelyek egy közös gén leszármazottjai, melyek a törzsfejlődés során megőrizték hasonlóságukat. Az élesztő gének 41%-a rendelkezik ortológgal gyümölcslégyben, s mintegy 38%-a *C. elegansban.* Ami még ennél is érdekesebb az az, hogy az élesztő fehérjék 37%-ának, a *C. elegans* fehérjék 34%-ának és a gyümölcslégy fehérjék 39%-ának van ortológja az emlősökben. Ez a hasonlóság számos esetben funkcionális konzerváltságot is jelent, pl. számos humán gén képes a megfelelő élesztő mutációk komplementálására. Ezek között számos szignál transzdukciós és sejtciklus szabályozó gén is található.

Ezen modell organizmusok tanulmányozása tehát az emberi betegségeket okozó gének tanulmányozásában, működésük megértésében lehet hasznos.

FUNKCIONÁLIS GENOMIKA

A genomi szekvenciák megismerése egy új genetikai megközelítési módot, a funkcionális genomika-i megközelítést tette lehetővé. Ez a gének expressziójának egyidejű vizsgálatát jelenti, ami az egyedfejlődés stádiumától, a környezeti tényezőktől stb. függ, bizonyos gének koordináltan kerülnek vagy nem kerülnek expresszióra, illetve expressziójuk mértéke változik.

Ezt az eljárást a DNS chipek[14] (*microarray*-k) alapozták meg, amelyek egy mikroszkópi tárgylemezen rögzítve 10 000 – 100 000 egyedi DNS szekvenciát tartalmaznak, s amelyekhez pl. különböző körülmények között növesztett, különböző környezeti hatásoknak kitett, vagy különböző egyedfejlődési stádiumban lévő sejtekből származó RNS-t hibridizálunk.

---

[14] A chip elnevezés a komputeres analógián alapszik és kis méretére, ill. nagy információ tartalmára utal.

Kétféle chip használatos. Az egyiken *in situ* szintetizált oligonukleotidok, a másikon pedig duplaszálú DNS denaturált fragmentumai vannak rögzítve, amelyek tipikusan a potenciális fehérje kódoló szakaszok PCR reakcióban felszaporított kópiái (pl. cDNS szekvenciák). Az egyes DNS szekvenciák/gének elhelyezkedése a mikroszkópi tárgylemezen ismert.

Egy ilyen analízist mutat be a 18.8. ábra. Az ábra jobb felső sarkában a chip több ezer rögzített DNS vagy oligonukleotid foltjából 6 látható. Ezekhez hibridizálják a vizsgálati és kontrol mintákból származó mRNS populációról reverz transzkripcióval készített és különböző színű (vörös és zöld) fluoreszcens festékkel jelölt cDNS molekulák elegyét. A hibridizáció eredménye az ábra középső és alsó részén látható. Mivel a kontroll és a vizsgálati mintákról szintetizált jelölt cDNS elegyével hibridizálunk, s a hibridizáció kompetitív, a megkötött vörös és zöld molekulák száma arányos ezen molekulák elegybeni koncentrációjával. Azaz ha a 2. vizsgálati mintában egy bizonyos gén expressziója lényegesen meghaladja ugyanazon génnek a kontroll 1. mintában lévő expresszióját, akkor a megfelelő foltban több vörös DNS molekula kötődik, míg ellenkező esetben a megkötött zöld molekulák lesznek túlsulyban. Hibridizáció után az egyes foltokban megkötött jelölt molekulák mennyiségét konfokális microarray leolvasó berendezésben detektáljuk. Ha egy gén expressziója a 2. mintában magasabb szintű, a folt színe vörös, ha az 1. mintában magasabb, akkor zöld, közel azonos expresszió esetén pedig sárga. Íly módon nagyszámú individuális gén relatív expressziója vizsgálható egyetlen méréssel.

PROTEOMIKA

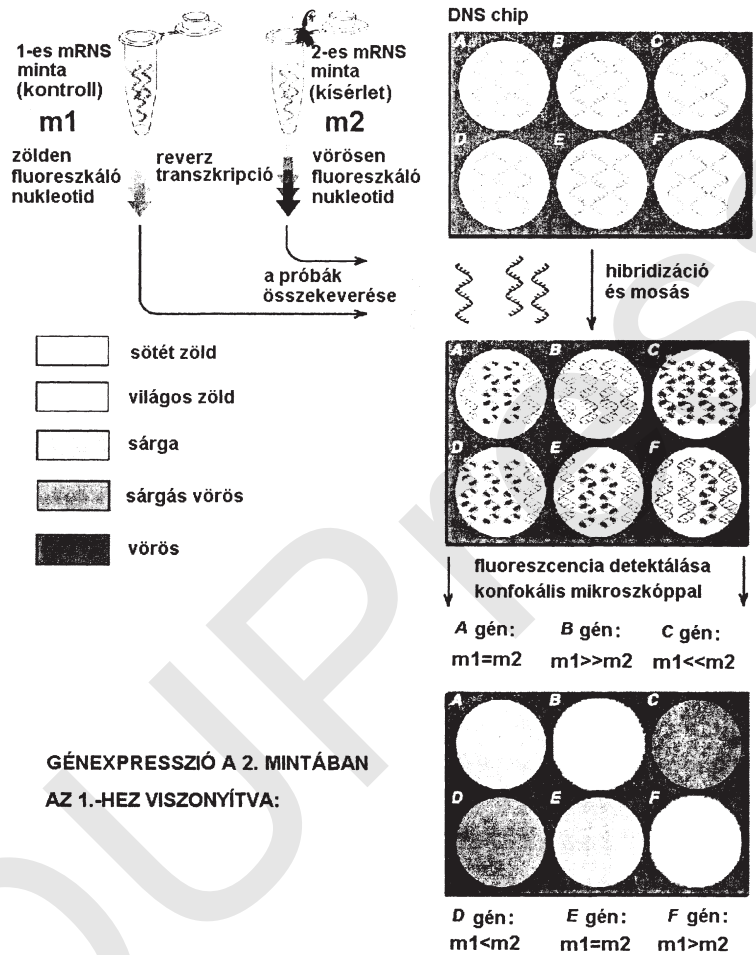
Egy élőlény összes fehérjéjét tekintjük az adott élőlény proteomjának. Ma már nem csak az egyes individuális gének kifejeződését tudjuk vizsgálni, hanem az egyes individuális fehérjék meglétét is. Ez nem feltétlenül felel meg a gének transzkripcióját követő génexpressziós profilnak.

KLÓNTÁR (GÉNKÖNYVTÁR, GÉNBANK) KÉSZÍTÉSE

Ha a kutatók egy gént kifejeztetni, vagy szekvenálni akarnak, a megfelelő DNS szakaszt általában *E. coli*ban klónozzák. Felmerül a kérdés, hogy hogyan juthatunk a klónozandó génhez. Néha, amint azt az inzulin esetén is láttuk (elsősorban kisméretű gének esetében) a gén mesterségesen megszintetizálható az aminosav sorrend ismeretében. Vannak ezen kívül egyéb módszerek is, mint például a ***génbankok készítése*** és ***a keresett szekvencia kikeresése*** (*screening*). Elvben ez a módszer lehetővé teszi pl. a

DUPRES

humán genomból bármely génnek az izolálását a teljes genomot reprezentáló DNS fragmentumok halmazából.



18.8. ábra. *A DNS chipek működésének elve.* Az A-F a mikroszkópi lemezen rögzített DNS foltokat reprezentálja. Ezekhez hibridizáljuk a celluláris mRNS reverz transzkripciójával előállított, fluoreszcensen jelölt DNS mintáinkat. A kompetitív hibridizáció eredményeként a megkötött vörös és zöld jelölés mennyisége arányos a megfelelő mRNS molekulák relatív mennyiségével az egyes mintákban. A mikroszkópi kiértékelés során a vörös szignál a 2. mintában történő relatíve magas szintű expressziót, zöld szignál az 1. mintában való relatíve magas expressziót jelent, míg a sárga szín a közel azonos szintű expresszió jele.

DUPLICATE

Egy ilyen génkönyvtár olyan baktériumsejtvonalak (klónok) millióiból áll, amelyben minden egyes klón tartalmaz egy emberi DNS darabot. Ha a genom minden része, összes szekvenciája legalább egyszer előfordul valamely klónban, akkor a génbank teljes. Mivel plazmidokban a klónozható DNS fragmentum mérete túlságosan kicsi (általában 5-10 kb), ezért a klónozást inkább ***bakteriofág*** (vagy egyszerűen fág) ***vektorok***ban végzik. A fágok könnyen szaporíthatók, fenntarthatók, tárolhatók, stb. A humán genomot mintegy 1 millió ilyen klón képes reprezentálni.

A leggyakrabban az *E. coli*t fertőzni képes λ fág vektor származékait használjuk. A λ fág az *E. coli* sejt felületén megtapadva, mintegy injektálja a sejtbe a fág DNS-ét (18.9. ábra). Ezután a sejt saját nukleinsav és fehérje szintézise leáll, s a sejt a fág DNS-ének és fehérjéinek szintézisét végzi. Az így felhalmozódott fág alkotórészekből a sejten belül nagyszámú fertőzőképes fág jön létre, melyek a baktériumsejt szétesése (lízise) után a sejtből kiszabadulnak, s új fertőzési ciklusban vehetnek részt.

A λ fág 50 kb-os genomjából mintegy 20 kb a fent leírt s a 18.9A. ábrán bemutatott életciklusban nem esszenciális. Ahhoz azonban, hogy a fág DNS a sejtben a fágfejbe bepakolódjon, a mintegy 50 kb genom méret fontos. A fág-vektorokban ennélfogva a 20 kb nem esszenciális régió helyettesítésével ilyen méretű idegen eredetű DNS klónozható. Ez a méret egyébként megfelel egy tipikus emberi génnek, beleértve az intronokat, exonokat és a gén közvetlen környezetében lévő szekvenciákat is.

A részletek elhagyásával az alábbiakban bemutatjuk az emberi λ klóntár készítésének lépéseit, amelyet, mivel az egyes fragmentumok beépítése a vektorba véletlenszerű, a nemzetközi szakirodalomban „*shotgun*" (sörétes puska) módszernek neveznek. Az így elkészített klóntár az ún. genomiális klóntár.

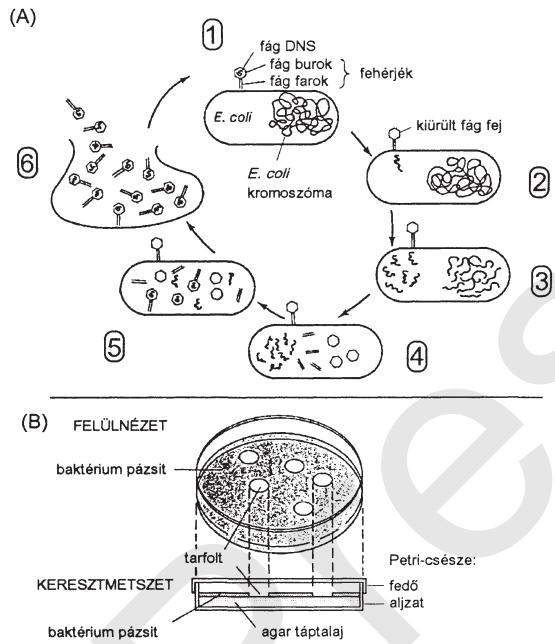
1. Hasítsuk a kromoszómális DNS-t alacsony koncentrációjú restrikciós enzimek elegyével. Ilyenkor az enzimek véletlenszerűen, csak a restrikciós felismerő helyek némelyikénél hasítják a DNS-t. Ugyanannál a felismerő helynél az egyik molekulában hasítottuk, a másikban nem a DNS molekulát, s ily módon egymással átfedő DNS fragmentumokat állítottunk elő. Mint később látni fogjuk, ez nagyon fontos a „kromoszómán történő sétálás"-hoz.

2. Izoláljuk az emésztett DNS-ből a 20 kb-nyi fragmentumokat, vagy géleletroforézissel, vagy sűrűségi gradiens centrifugálással. Az utóbbi esetben a DNS fragmentumok a szaharóz koncentráció-gradiensen történő centrifugálás során a méretüktől függően különböző rétegekben helyezkednek el. Ezt követően kezeljük a DNS fragmentumokat *Eco*RI metilázzal, amely a DNS-t rezisztenssé teszi az *Eco*RI restrikciós enzimmel szemben.

3. Speciális, az egyszálú DNS-re specifikus exonukleázokat használva emésszük le a 20 kb fragmentumok túlnyúló egyszálú végeit. Az így létrehozott tompa (*blunt*) végekhez kapcsoljunk hozzá mesterségesen szintetizált, ugyancsak tompa végű ún. linker DNS fragmentumokat, amelyek 10 bp hosszúak és szekvenciájukban *Eco*RI retrikciós enzim felismerő hely van. Végezetül emésszük a DNS fragmentumokat *Eco*RI enzimmel, ami olyan molekula populációt eredményez, melyben minden egyes fragmentum végén az *Eco*RI által létrehozott ragadós vég lesz.

4. λ fág DNS-ből *Eco*RI enzimmel hasítsuk ki és távolítsuk el a nem esszenciális, a fág fizikai térképének közepére eső régiót, s kapcsoljuk össze (ligáljuk) a humán ge-

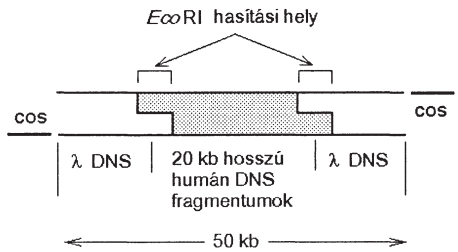
nomból készített 20 kb fragmentumokkal. Ennek eredményeként az alábbi szerkezetű hibrid molekula populációt nyerjük (18.10. ábra):



18.9. ábra. *Az E. coli λ fágjának használata klóntár készítésére. (A) A fág életciklusa.* ① A fág a baktérium felületén megkötődve mintegy ② injektálja a DNS-ét a sejtbe. ③ A sejten belül a fág DNS replikációja, ④ s a fág (fej és farok) fehérjéinek szintézise folyik. ⑤ Utána a fág DNS és fehérje alkatrészei összeszerelődnek. A sejt saját DNS-ét a fág nukleázai lebontják. ⑥ Körülbelül 30 perccel a fágfertőzés után a sejt szétesik, és kiszabadul a több száz újonnan keletkezett fág részecske. A fág mérete (0,1 μm) a baktérium méretéhez (2 μm) képest felnagyított. (Egy lehetséges másik életciklus, amikor is a fág DNS integrálódik a baktérium genomba, s nem okozza a baktérium sejt pusztulását az ábrán nincs feltüntetve.) *(B) Fágok kimutatásának módszere.* A fágok detektálása és számlálása összefolyó *E. coli* tenyészetre (pázsitra) való szélesztéssel történik. Az egybefüggő *E. coli* gyepen minden egyes fágnak egy ún. tarfolt (plakk) felel meg, mivel itt az egymást követő fágfertőzések következtében a sejtek egy bizonyos területen belül elpusztulnak (lizálnak).

5. Az így létrehozott hibrid DNS molekulákat, melyeknek a mérete megfelel a λ fág mintegy 50 kb-nyi genomjának, mesterségesen, *in vitro* pakoljuk be fág fejekbe. Ezt az

eljárást hívják ***in vitro pakolás***nak.[15] Ennek eredményeként a 18.10. ábrán látható szerkezetű, a *cos* régiók által összekapcsolódó lineáris óriás molekulát (*concatemer*) kapjuk. Ha mintegy 1 millió ilyen klónt készítünk, akkor annak a valószínűsége, hogy a teljes humán genomot reprezentálja a klóntárunk, igen nagy, 0,99. Ez egyúttal azt is jelenti, hogy igen sok genomi rész nem csak egyetlen, hanem több példányban is előfordul a génkönyvtárunkban.



18.10. ábra. *A fággal való klónozáskor kapott concatemer egyetlen, cos régiók által határolt egysége.*

6. Végezetül a mintegy 1 millió különböző DNS fragmentumot tartalmazó fágot szaporítsuk el *E. coli* pázsitra való szélesztéssel, a 18.9B. ábrán bemutatott módon. Egyetlen Petri-csészén mintegy 10 000 egyedi fág klónnak megfelelő tarfolt is elszaporítható és tárolható. Tárolhatjuk azonban a klóntárat oly módon is, hogy az összes Petri-csészéről egybemossuk a fágfoltokat egyetlen lombikba. Mindenképpen elmondhatjuk azonban, hogy a klóntárunkban a humán genom minden génje megtalálható egy vagy akár több fág-részecskében is.

A kutatók többféle humán klóntárat szerkesztettek. Ha, mint a fenti példában is a kiindulás valamilyen sejttípusból (májszövet, spermium, fehérvérsejt, vagy magzati szövetdarab) származó kromoszomális DNS, a klóntár tartalamazza a sejtben lévő, a fajra jellemző teljes genetikai állományt (az összes struktúrgént intronokkal, regulátor szekvenciákat, pszeudogéneket, ismétlődő DNS szekvenciákat, stb.), annak megfelelő arányban, ahogy a sejtmagban is találhatók. Ezt nevezzük ***genomiális klóntár***nak.

Az ún. ***kromoszómaspecifikus klóntár*** egyetlen humán kromoszómából származó DNS fragmentumokat tartalmaz.

Ehhez az egyes kromoszómákat az ún. áramlási citometria módszerével izolálják. Ha ugyanis a metafázisban lévő sejteket feltárják, és egy fluoreszkáló festékkel a kromoszómákat megfestik, akkor az egyes kromoszómák a méretük és bázisösszetételük által meghatározott mennyiségű festéket fognak megkötni, s ennek megfelelően kromoszómánként eltérő lesz a fluoreszcenciájuk. Az így megfestett kromoszómákat megfelelő hígításban (hogy adott térfogatban csak egyetlen kromoszóma legyen) egy fluoreszcencia detektor előtt vezetik el, amely a kibocsátott fluoreszcencia alapján az egyes

[15] Az *in vitro* pakolás módszere azt jelenti, hogy fertőzőképes fág részecskéket hozunk létre a fág kapszid fehérjéje és a fág *cos* régiói által határolt mintegy 50 kb ún. *concatemer* DNS-ből. *In vitro* pakolással bármely 50 kb DNS molekula fág fejbe pakolható, amelynek a két végén a λ fág 12 bp hosszú *cos* (cohesive) régiója található. Az olyan plazmidot, melyben ez a régió megtalálható, s melyet fág fejbe pakolva juttatunk az *E. coli* sejtbe, *cosmidnak* nevezzük.

kromoszómákat tartalmazó csöppecskéket más-más gyüjtőedénybe vezeti. Ily módon mintegy 12 óra alatt kb. 90%-os tisztaságú, klónozáshoz elegendő mennyiségű (néhány millió példány) kromoszómapreparátum nyerhető.

A klóntárak harmadik formája, amikor is a klónozott DNS-t mRNS reverz transzkriptázzal történő átírásával készítjük. Ily módon először egy RNS-DNS hibrid molekulát kapunk, majd az RNS eltávolítása után a visszamaradt egyszálú DNS-t kétszálúvá egészítjük ki. Ezt a DNS-t, utalva arra, hogy a mRNS komplementereként állítottuk elő, komplementer (*complementary*) vagy cDNS-nek, az így előállított klóntárat pedig ***cDNS klóntár***nak nevezzük. Az, hogy ebben a klóntárban milyen gének és milyen arányban fordulnak elő, attól függ, hogy a felhasznált sejtben milyen mRNS molekulák találhatók. Mivel minden egyes szövet meghatározott specifikus funkcióval rendelkezik, s sejtjei az illető szövetre jellemző mRNS és fehérje molekulákat termelnek, a különböző eredetű cDNS klóntárak által tartalmazott gének nagyon eltérőek egymástól. Egyben azonban közösek, nevezetesen hogy a cDNS klóntárban a gének már intronmentesek, mivel azok a mRNS érése során kivágódtak.

SZEKVENCIÁK KERESÉSE A KLÓNTÁRBAN[16]

Az így leírt módon előállított génbankban az általunk klónozni kívánt gén megtalálása ahhoz hasonló, mint amikor egy tűt akarunk megkeresni egy szénakazalban. A tű megtalálása elég esetleges, a kutatók azonban semmit sem bíznak a véletlenre; erre a célra ***radioaktív próbák***at (vagy más módon jelölt próbákat) használnak, amelyek egyfonalú, a keresett génnel komplementer DNS molekulák. A próbát, ami pl. radioaktív foszfort (^{32}P) tartalmaz, hibridizálják a klóntár klónjainak denaturációval ugyancsak egyszálúvá tett DNS-éhez. Ahhoz, hogy a próba egy klón DNS-éhez hibridizáljon, nem szükséges a próba és a klón közötti 100%-os homológia, és tulságosan hosszú homológ szakaszok sem. Az illető klón kiválasztása a génbankból tehát a megfelelő próbán múlik.

Bizonyos esetekben a próba készítésére egyes specializált sejtekből előállított cDNS-t használhatunk. A retikulocitákban (éretlen vörösvérsejtek) például az összes mRNS 95%-a globin mRNS, így a retikulocitákból származó mRNS globin gén-próbák előállítására alkalmas. (A próbák úgy tehetők radioaktivvá, hogy egyes nukleotidjait radioaktiv atomot (pl. ^{32}P-t) tartalmazó nukleotidra cseréljük.

A próba előállításának másik módja, hogy a gén által meghatározott fehérje néhány (5-10) aminosavnyi szekvenciája alapján egy rövid (15-30 bp) jelölt oligonukleotidot szintetizálunk. Ezt hívjuk ***oligonukleotid próbá***nak. Ha egy emberi fehérje aminosav

---

16 A szakirodalom erre a műveletre általában a „szűrés" [*screening*] kifejezést használja.

szekvenciája nem ismeretes, próba készítéshez használhatjuk más fajokból származó ugyanazon funkciójú fehérjék aminosav szekvenciájából a leginkább konzervatív részeket is. (Ez, és a genetikai kód degeneráltsága természetesen okoz némi bizonytalanságot a szekvencia pontosságát illetően.) Ez a bizonytalanság csökkenthető, ha az oligonukleotidot az illető faj ismert kodonhasználata alapján tervezzük. Ugyancsak megoldást jelenthet, ha nem egyetlen oligonukleotidot használunk, hanem a bizonytalan pozíciókban több, egymástól eltérő szekvenciájú nukleotidok elegyét. Ilyen, 12 aminosav szekvenciáján alapuló 36 bp hosszúságú oligonukleotid próba felhasználásával izolálták pl. a VIII. véralvadási faktor génjét egy genomiális klóntárból. Bár a használt próba, mint utólag kiderült, 6 nem komplementer bázist is tartalmazott, a hibridizációja a klón kiválasztásához megfelelő volt.

Ha feltételezzük, hogy rendelkezünk β-globin gén izolálásához szükséges próbával, a génbank szűrése a következőképp történik:

1. Szélesztjük a fág génbankot *E. coli* pázsiton oly módon, hogy Petri-csészénként néhány ezer tarfoltot kapjunk (18.9. ábra).

2. Lefedjük a lemezeket nitrocellulóz membránnal néhány percre, hogy minden fág tarfoltból fágok tapadjanak a membránra. Ezt megismételjük további lenyomatok (replikák) készítése céljából. A 18.11. ábrán két ilyen replikát mutatunk, melyeken a membránok orientációja is jelölve van[17].

3. Megfelelő kezeléssel a filteren lizáljuk a fágrészecskéket, denaturáljuk a DNS-t és az egyfonalas DNS-t kötjük a membránhoz (*in situ*, azaz úgy, hogy közben az egyes tarfoltokból származó DNS az eredeti helyén maradjon).

4. Az így nyert filtereket alkalmas körülmények között a jelölt próbával inkubáljuk. Ekkor a próba kötődni fog a membránon lévő komplementer DNS-hez. Ezután lemossuk a feleslegben lévő, nem kötődött próbát.

5. A filtert lefedjük röntgen-filmmel és 1-2 napig exponáljuk.

6. Ha a film előhívása után a filmen fekete foltot kapunk, az azt jelenti, hogy az eredeti tarfoltnak megfelelő fágban olyan beépített DNS van, ami a β-globin génnek legalább egy részét tartalmazza. Ezt a fágot azonosítjuk az eredeti („mester") lemezen, s elszaporítjuk *E. coli*ban akár az illető DNS szekvenálásához, akár más célból.

SOUTHERN TRANSZFER ÉS A SZÍNLÁTÁS MOLEKULÁRIS GENETIKÁJA

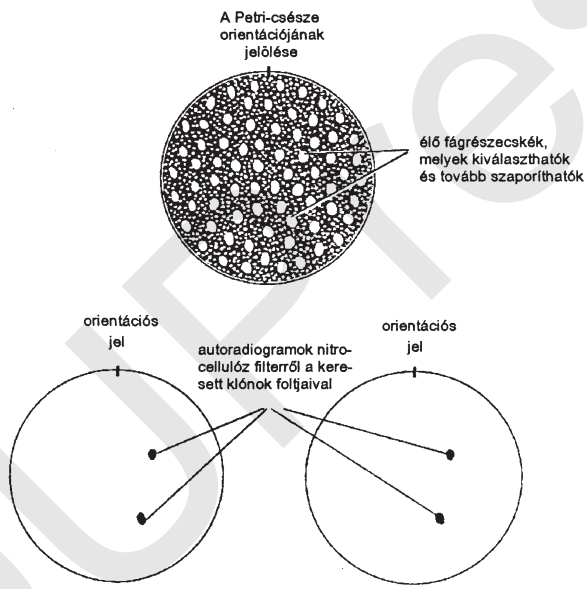
Mint ismeretes, a színlátás a retina csapjainak három típusán alapul (l. 2. fejezet). Ezek ingerküszöbe viszonylag magas, azaz csak intenzív megvilágításnál működnek, s a vörös, zöld ill. kék fényre érzékenyek. Mindegyikben egy kissé eltérő, fehérjéből és retinálból álló pigment van (a retinál mint prosztetikus csoport a kromofor), melyek széles hullámhossz tartományban abszorbeálják a fényt, s az elnyelési maximumuk sorrendben 560, 530 és 420 nm. (Bár az 560 nm a sárgás fénynek felel meg, csak ezek a

[17] A replika készítés olyan eljárás, melynek során egy Petri-csészében, szilárd táptalajon nőtt mikroba telepeit – leggyakrabban steril bársony korongot a Petri csészére nyomva – úgy oltjuk át másik Petri csészére, hogy a kinövő telepek egymáshoz viszonyított elhelyezkedése azonos maradjon. Így, egy valamilyen szempont szerint kiválasztott telep a két Petri-csészében beazonosítható.

sejtek érzékenyek a vörös fényre.) Egy negyedik pigment, a rodopszin, a retina pálcikáiban található. Ez már egyetlen fotonnal is ingerelhető. Ez felelős a fekete-fehér látásért és mivel igen érzékeny, a szürkületi látásért is. Gyenge megvilágításnál a csapok nem működnek, s így a tárgyakat fekete-fehérnek ill. szürkének látjuk.

A színlátásért felelős három pigment génjét a szarvasmarha rodopszin egy pentapeptidjének aminosav-sorrendjét ismerve sikerült izolálni. Vágóhídi szarvasmarhából nyert szemek retina sejtjeiből cDNS klóntárat állítottak elő. Ezt a klóntárat szűrték a marha rodopszin aminosav szekvenciája alapján szintetizált radioaktív ***oligonukleotid próbá***val. A klóntár fág vektorban készült, s a próba használatával azonosítottak négy tarfoltot, melyek a próbával komplementer DNS-t tartalmaztak. Ezek a különböző fág klónok a marha rodopszin gén mintegy 1 kb-nyi DNS szakaszait tartalmazták.

Meghatározták, hogy az emberi rodopszin gén 90%-ban homológ a szarvasmarha génnel.



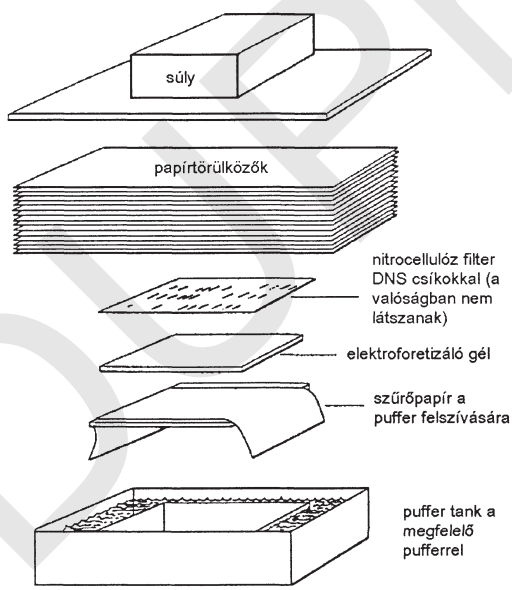
18.10. ábra. *Fág klóntár szűrése.* A felső Petri-csészén az *E. coli* pázsitot láthatjuk, a rajta lévő tarfoltokkal (plakkok). Minden egyes tarfolt egyetlen, genomiális DNS darabot is tartalmazó fágból származik. A két alsó kör a fenti Petri-csésze replikázása után nyert nitrocellulóz filterek autoradiogramja. A replikákon a fág részecskéket *in situ* lizálták, a DNS-t a filteren rögzítették, s hibridizálták a β-globin gén radioaktív próbájával. A nem kötődött próba lemosása után autoradiográfiával azonosították a próbával komplementer DNS szekvenciát tartalamzó klónokat. A két fekete folt az autoradiogramon tehát olyan fágfoltoknak felel meg, amelyekben a fágrészecskék a β-globin gén egy részét, vagy valamely nagyon hasonló gén egy részét (pl. delta globin) tartalmazzák. A folt pozíciójából az eredeti Petri-csészén az élő fágot tartalmazó plakk kikereshető.

DUPress

A gének szekvenálása és a négy fehérje aminosav sorrendjének megállapítása után összehasonlították a négy látási pigment fehérjéinek aminosav sorrendjét (18.1. táblázat). A vörös és zöld színre érzékeny pigmentek majdnem azonosak, hiszen aminosavaik 99%-a azonos, vagy hasonló karakterű. Mindkettő lényegesen kevésbé hasonló a rodopszinhoz és a kékre érzékeny pigmenthez. Ez a hasonlóság, s az az ismert tény, hogy a két pigment (a vörös és zöld-érzékeny) génje az X kromoszómán egymáshoz közel helyezkedik el arra utal, hogy a két gén viszonylag nem régen (ez természetesen evolúciós értelemben értendő), egyetlen közös ősből génduplikációval keletkezett.

18.1. táblázat. *A négy humán látási pigmentfehérje azonosságának, illetve homológiájának a foka százalékban.*

	Rodopszin	Vörös	Zöld	Kék
Rodopszin	100	40	41	42
Vörös	73	100	96	43
Zöld	73	99	100	44
Kék	75	79	79	100

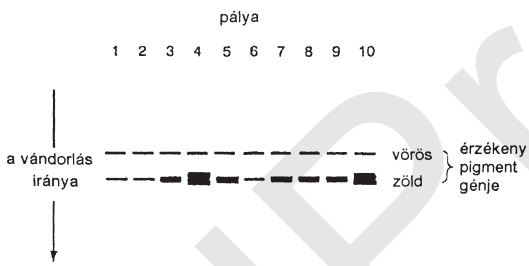


18.12. ábra. *A Southern-transzfer összeállítása.* A módszert, amelyet kidolgozójáról neveztek el, az egyik leggyakrabban alkalmazott molekuláris biológiai technika. A puffer-tankban lévő puffer a belenyúló szűrőpapíron keresztül a gél és nitrocellulóz filter fölött elhelyezett papírtörülközők szívó hatására folyamatosan áramlik felfelé, ezzel a gélből a denaturált DNS-t mintegy átmossa a filterre. A filter DNS-kötő affinitása nagy, így azt megköti. Később a DNS-t a filterhez kovalensen is rögzítik. (Az áttekinthetőség kedvéért az egyes részek egymástól távol vannak feltüntetve.) Szójátékként azt a transzfer technikát, amelyben hasonló módon RNS-t kötnek filterhez, Northern-transzfernek, amelyben pedig fehérjét, Western-transzfernek nevezik.

DUPress

Igen meglepő felfedezés volt, hogy a zöldérzékeny pigment génje normális színlátású férfiben egy, két, vagy három példányban is előfordulhat. Ezt a 18.13. ábrán bemutatott módon bizonyították. Egyes férfiakban a zöldérzékeny génnek megfelelő intenzívebb csíkok, melyek több génkópiának felelnek meg, valószínűleg ***egyenlőtlen átkereszteződés (egyenlőtlen/inekvális crossing over***) következményei (18.14A és B. ábra).

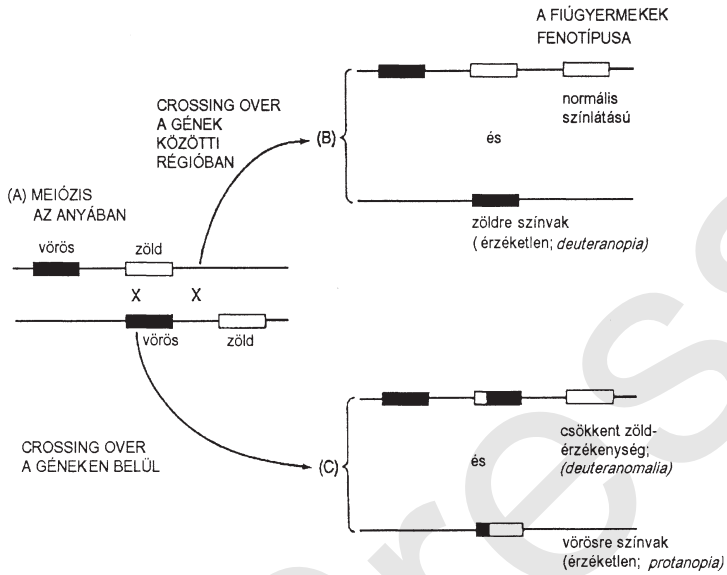
Az abnormális színlátás és annak molekuláris genetikai háttere közötti összefüggés vizsgálata céljából 25 vörös-zöld színtévesztőből származó DNS-t analizáltak. A legtöbb esetben a normális színlátásúakétól nagyon eltérő hibridizációs mintázatot kaptak, ami arra utal, hogy a vörös-zöld színtévesztés nem specifikus pontmutáció, hanem valószínűleg a 18.14C. ábrán ábrázolt, a genom nagyfokú átrendeződésével járó egyenlőtlen crossing over következménye. Hibrid gének (egy részük a vörös, másik részük a zöld érzékeny pigment-génből származik) vizsgálatából úgy tűnik, hogy a géneken belül bizonyos alrégiók felelősek a pigmentek fényérzékenységi spektrumáért, s ennek megfelelően a színlátásért, illetve annak hiányosságáért.



18.13. ábra. *Egy Southern-hibridizáció eredményét ábrázoló autoradiogram sémája.* 10 normál látású férfiből nyert DNS-t (a) emésztettek *Eco*RI enzimmel, (b) a DNS-t gélelektroforézisnek vetették alá, (c) denaturálták, majd egy filterre vitték át és (d) egy olyan radioaktív próbával hibridizálták, amely a vörös és zöld színekre érzékeny pigmentek génjeivel egyaránt komplementer. A felső hibridizációs szignálok a vörösre érzékeny pigment génjének, az alsó szignálok pedig a zöld színre érzékeny pigment génjének felelnek meg. A felső csíkok vastagsága és intenzitása azonos, míg az alsó csíkoké jelentősen eltérő. A három különböző vastagságú és intenzitású alsó csík egy (1, 2 és 6 pálya), két (3, 5, 7, 8, és 9 pálya), ill. három (4 és 10 pálya) példányban meglévő zöldre szenzitív pigmentet kódoló génnek felelnek meg.

Nathans és mtsai ugyancsak Southern-hibridizációt használtak a vörös és zöld színekre érzékeny pigmentek génjei pontosabb lokalizációjának meghatározására az X kromoszómán. Olyan X kromoszómák DNS-ének vizsgálatával, amelyek különböző nagyobb régiókra deléciósak, megállapították, hogy a vörös-zöld színlátásért felelős gének az X kromoszóma hosszú karjának végéhez közel helyezkednek el. (A kék színre érzékeny pigment fehérje komponensének génje autoszomális lokalizációjú.)

DuPress



18.14. ábra. *Az X kromoszómák közötti egyenlőtlen crossing over eredménye.* (A) Meiózis egy nőben, amikor a homológ X kromoszómák párosodása szinapszis során nem megfelelő. A normális zöld-érzékeny pigment gén (üres téglalap) egy normális vörös-érzékeny pigment génnel (fekete téglalap) párosodott. Két lehetséges *crossing over* van ábrázolva (x). Egyik a kódoló régiókon kívül esik, a másik pedig azokon belül (génen belüli crossing over). (B) Az a fiúgyermek, aki a felül ábrázolt X kromoszómát örökli, normál színlátású lesz, bár két zöld-érzékeny pigmentet kódoló génnel rendelkezik. Az a fiúgyermek, aki az alul látható X kromoszómát örökli, zöld-érzékeny pigmentet kódoló génnel nem rendelkezik, s színvak (deuteranop) lesz. (C) A nem allél gének közötti átkereszteződés következményei. Az a fiúgyermek, aki a felső X kromoszómát örökli, feltehetően azért lesz a zöld szinre csökkent érzékenységű (deuteranomál), mivel a retina csapjainak egy részében a hibrid (zöldre illetve vörösre érzékeny pigmentek génjének egy-egy részletét tartalmazó) gén hatására nem egészen normális fehérje keletkezik, ami csökkent zöld-érzékenységet eredményez. Azok a fiúgyermekek, akik az alsó X kromoszómát öröklik, a vörös szinre érzéketlenek lesznek (protanop), mivel vörösre érzékeny pigmentjük nem termelődik. (A hibrid génről ugyanis normális zöldérzékeny pigment termelődik.)

DRPress

Genetikai markerek – DNS-markerek

Genetikai markernek tekinthető minden egyedek közötti DNS szekvencia-különbség v. eltérés, amely öröklődik, s valamilyen módon kimutatható az egymást követő nemzedékekben. Genetikai marker[18] lehet pl. egy mutáns gén. A klasszikus genetikában ennek a génnek az expressziója (v. annak hiánya) képezi a genetikai analízis alapját. A modern molekuláris genetikában bármilyen DNS szekvencia-különbség lehet genetikai marker. Ezek többnyire nem okoznak semmilyen fenotípusos eltérést, v. tünetet, de lehetővé teszik betegségekért felelős gének azonosítását, klónozását és tanulmányozását.

Azokat a genetikai markereket, melyeket a direkt DNS-vizsgálat révén derítenek fel, ***DNS-markerek***nek nevezzük. A DNS-markerek azért fontosak a genetikában, mert ahhoz hasonló szerepet töltenek be a végeláthatatlannak tűnő DNS szekvencia mentén, mint a kilométerkövek és a jelzőtáblák az országúton. Segítségükkel meg lehet határozni a gének és más fontos szekvenciák pontos helyét, helyzetét a kromoszómán. A DNS markereket gyakran azonosak bizonyos ***DNS polimorfizmus***okkal. Polimorfizmusról akkor beszélünk, ha egy génnek vagy DNS-szakasznak két vagy több változata fordul elő a populációban viszonylag gyakran (ami legalább 1%-ot jelent). Ezeknek a kimutatása modern molekuláris genetikai módszerekkel (mint pl. a restrikciós analízis, Southern-hibridizáció, polimeráz láncreakció, DNS szekvencia meghatározás) történik. A DNS polimorfizmusoknak számos, különbözőképpen kimutatható és más-más nevet viselő válfaja ismert.

SNP

Az SNP (*Single Nucleotide Polymorphism,* kiejtése: sznip) egyetlen nukleotid különbséget jelent a DNS szekvencia meghatározott helyén. Pl. egy bizonyos DNS molekula T-A bázispárt tartalmaz egy meghatározott helyen, míg adott populációban más egyének DNS-ében C-G bázispár található ugyanazon a helyen. Ezt a különbséget nevezzük SNP-nek. Két „allél"-ról is beszélhetünk ebben az esetben, melyek három különböző genotípust alkothatnak: Egy egyén lehet homozigóta T-A, homozigóta C-G, vagy heterozigóta, egyik kromoszómáján T-A, a másikon C-G fordul elő. Az „allél" kifejezést

[18] Bizonyos szempontból hasonló a marker kromoszóma fogalma, ami megváltozott és/vagy számfeletti kromoszómát jelent, s jellemző pl. egy adott daganattípus sejtjeire (l. 11. fejezet). Fontos különbség viszont, hogy a marker kromoszóma nem feltétlenül öröklődik hiszen igen ritkán kerül be a csíravonal sejtjeibe.

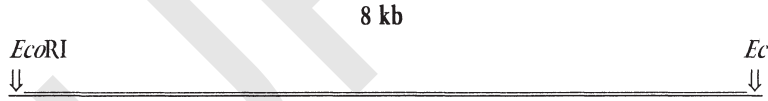
DUPLÁS

azért áll idézőjelben, mert itt nem a tradícionális génváltozat értelemben használjuk[19]. Ilyen polimorfizmus nem csak kódoló szekvenciákban lehet jelen, hanem 500-1000 bázispáronként előfordul a nem-kódoló DNS-ben. Kódoló DNS-ben valamivel ritkábban, 1000-3000 bázispáronként található SNP. A SNP-ket adatbankokban gyűjtik össze. Eddig 300 ezret azonosítottak a humán genomban.

RESTRIKCIÓS FRAGMENTUM-HOSSZ POLIMORFIZMUS (RFLP)

Bár az SNP-k túlnyomó részét DNS-szekvencia meghatározással azonosították, azok, amelyek egy restrikciós hasító helyen belülre esnek, ***Southern-hibridizáció*** módszerével is kimutathatók. Tételezzük fel ismét, hogy az esetek egy részében T-A, míg másik részében C-G pár fordul elő egy adott helyen, amely az *Eco*RI restrikciós enzim felismerési szekvenciáján (5'GAATTC3') belülre esik. Akkor, ha a T van jelen a szekvenciában, az enzim elhasítja azt és két DNS fragmentumot hoz létre (mivel hasít egy jobbra és egy balra stabilan meglevő helyen is):

Ha viszont C van az SNP-ben, az így létrejövő GAACTC szekvenciát az *Eco*RI nem képes hasítani, így egyetlen fragmentumot kapunk kettő helyett:



Azt az SNP-t amely megszüntet, vagy létrehoz egy restrikciós hasítóhelyet, ***restrikciós fragmentum-hossz polimorfizmusnak (RFLP)***[20] nevezzük. Ezek az összes SNP-nek csak tört részét képezik.[21] Amit ma polimorfizmusnak (SNP-nek) neve-

---

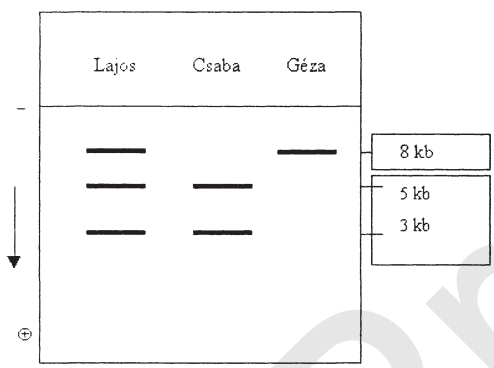
[19] A DNS polimorfizmusok vizsgálatánál a lokusz és allél fogalmakat kiterjesztjük a nem-kódoló szekvenciákra!

[20] *Restriction Fragment Length Polymorphism.*

[21] Az RFLP fogalma hamarabb született meg, mint az SNP-é. Kezdetben nem volt annyi szekvencia-adat a kutatók kezében, hogy azokat az SNP-ket is megtalálják, amelyek nem változtatnak a restrikciós hasítási képen. Nem tartoznak az SNP-k, így az RFLP-k körébe, tehát nem tekinthetők polimorfizmusoknak a génmutációk, melyek restrikciós hasítóhelyet érintenek (pl. sarlósejtes vérszegénység). Ennek ellenére előfordul szakmai körökben is, hogy az utóbbiakat RFLP-nek nevezik.

DUPress

ünk, az tulajdonképpen egy sok generációval ezelőtt bekövetkezett mutáció, ami egy új allélt hozott létre. Ez, mivel nem volt hátrányos, elterjedhetett a populációban, s ma már nem ritka. Az egyik allélt hasítja az enzim, a másikat nem. Mivel az RFLP megváltoztatja a DNS fragmentumok számát és méretét, Southern hibridizációs kísérlettel kimutatható, ha rendelkezésre áll egy jelölt próba, mely ezen régió DNS-évei komplementer. A kísérlet során mindkét vizsgált személy DNS-ét emészteni kell *Eco*RI-gyel, majd gélelektroforézist kell végezni. A gélben levő DNS-t denaturálás után át kell vinni nitrocellulóz filterre – mintegy lenyomatot készítve a gélről. A filterhez kötött egyfonalas DNS-t ezután jelölt nukleinsav próbával hibridizálják, majd autoradiográfiát végeznek:



Képzeljük el, hogy egy populációban az emberek egy része a Csabára jellemző mintázatot, másik része a Gézára jellemző mintázatot mutatja. Egy harmadik része mindkét mintázatot mutatja, heterozigóta. (Másokban lehet a mintázat az említettektől különböző, ha pl. egy másik *Eco*RI helyet érintett a mutáció.) Az olyan lokuszt, amely számos különböző változatban van jelen ***polimorf***nak, magát a jelenséget ***polimorfizmus***nak nevezzük. S mivel jelen példában a restrikciós fragmentumok hosszának polimorfizmusát vizsgáljuk, ezért kapta a restrikciós fragmentum hossz-polimorfizmus nevet.

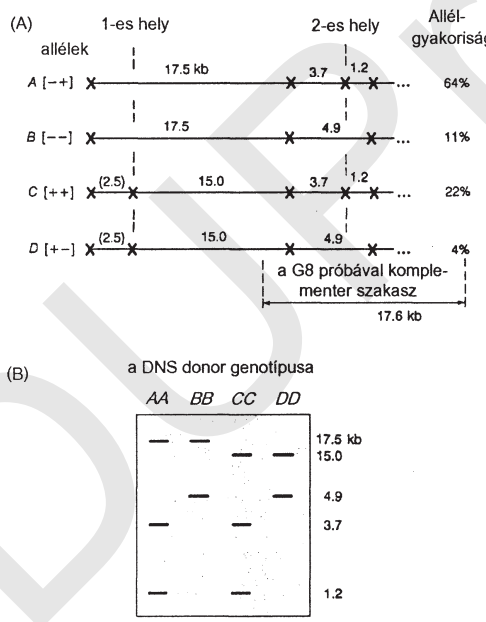
Minden RFLP-t okozó mutáció egy olyan genetikai lokuszt jelent, melynek két ***kodomináns*** allélja laboratóriumi vizsgálattal (Southern-hibridizációval) kimutatható. A szituáció hasonló ahhoz, amikor vércsoportot határozunk meg, vagy egy enzim jelenlétét, hiányát vagy variánsait mutatjuk ki elektroforézissel, s ebből következtetünk az adott lokusz állapotára, a genotípusra. Mivel RFLP-t mutató helyek véletlenszerű eloszlásban az egész humán genomban előfordulnak, nagyon jól használhatók a géntérképezésben.

HUNTINGTON CHOREA ÉS SARLÓSEJTES ANÉMIA

A Huntington chorea középkorúakban jelenik meg, progresszíven fokozódó izomrángásokkal, mentális zavarokkal jár, és halálhoz vezet. Az érintettek létrehozzák utódaikat, még mielőtt a tünetek megjelennének, ezért gyermekeik abban a tudatban élhetnek, hogy 50% esélyük van arra, hogy ők is megbetegszenek. A 80-as években kutatók meg-

állapították, hogy a ***Huntington chorea***[22] (HC) autoszomális domináns génje egy RFLP-vel kapcsoltan helyezkedik el a 4. kromoszóma hosszú karjának vége közelében. A betegség kutatói azt remélik, hogy a vizsgálatok közelebb visznek a korai diagnózishoz és a kezelés megoldásához. Ez utóbbi remény máig sem teljesült, ugyanakkor a történet tanulságos betekintést ad a génkutatás módszertanába.

A Huntington chorea kapcsoltsága RFLP markerekkel. A kutatók olyan családokat vizsgáltak, melyekben a HC előfordult. A családtagok fehérvérsejtjeiből származó DNS-t *Hin*dIII restrikciós enzimmel emésztették, majd Southern-hibridizációs kísérletben – a humán genom egy-egy klónozott fragmentumát használva próbának – hibridizáltak. Arra számítottak, hogy a sok véletlenszerűen kiválasztott próba között lesz olyan, amely különböző hibridizációs mintázatot ad a betegek és egészségesek DNS-ével. Más szóval olyan RFLP-t kerestek, amely kapcsoltan öröklődik a betegséget okozó génnel. A kísérletek sikerrel jártak, megtalálták azt a próbát (G8), amellyel a betegséggel kapcsoltan öröklődő RFLP-t tudtak kimutatni. Amint az a 18.15. ábrán látható, az RFLP régió két restrikciós helyet foglal magába, melyek 18,7 kb távolságra vannak (1-es és 2-es hely). A négy különböző allél (v. haplotípus) mindegyike elég nagy gyakorisággal fordul elő a populációban, így a térképezéshez szükséges heterozigóták is elég gyakoriak. Mivel 1 térképegység embernél körülbelül 1000 kb-nak felel meg, a két *Hin*dIII hely közötti crossing over gyakorisága igen alacsony (~0,02%).



18.15. ábra. *Restrikciós fragmentum-hossz polimorfizmus Huntington chorea-nál.* (A) Az ábrán a 4. kromoszóma G8 próbával hibridizáló régiója van feltüntetve. Két *Hin*dIII hasítóhely (1-es és 2-es hely) megléte vagy hiánya négyféle allélt hoz létre (*A, B, C* és *D*). Az ábrán x jelöli a restrikciós hasítóhelyeket. A *C* allél esetén 5 hasítóhely van a régióban, a többi allélnél vagy az 1-es, vagy a 2-es, vagy mindkettő hiányzik. Az allélek jele után zárójelben az 1-es és 2-es helyek hasíthatósága (+) vagy nemhasíthatósága (–) szerepel. Jobb oldalon az allélek előfordulási gyakorisága olvasható.

(B) A Southern - hibridizációval kapott autoradiogram mintázata négy homozigóta esetén. A 2,5 kb fragmentum, amely *C* és *D* allélnál is jelen van, nem látható, mert nem hibridizál a próbával.

[22] Az angol szakirodalomban Huntington disease (HD).

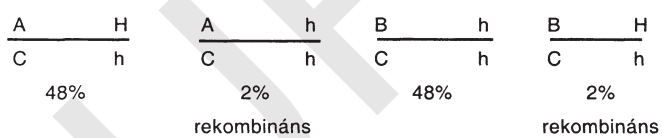
DUPLICATE

Egy vizsgált ámis családban (l. 20 fejezet) a HC mindig az *A* alléllel asszociáltan fordult elő és *crossing over*t nem tudtak kimutatni. Az *A* allél és a betegség következetesen együttes előfordulása akkor várható, ha (1) a család érintett tagjai mind ugyanannak a közös ősnek az egyenes leszármazottai, akiben a HC mutáció megtörtént és ha (2) a kapcsoltság az RFLP helye és a gén között szoros. Egy sokkal nagyobb, 3000 embert magába foglaló venezuelai mintában a betegség mindig a *C* alléllel asszociáltan fordult elő, s itt sem találtak *crossing over*t. Később kimutatták, hogy az RFLP kb. 4 térképegységnyire van a géntől.

A kutatók ezt követően azt tűzték ki célul, hogy (1) a génhez közelebb elhelyezkedő RFLP helyeket találjanak, hogy nagyobb biztonsággal lehessen a HC gént kiszűrni még a tünetek megjelenése előtt, és hogy (2) klónozzák a betegség kifejlődéséért felelős gént. A tünetmentes, de veszélyeztetett családtagok számára ugyanis a G8 próbával történő analízis nem ad teljes bizonyosságot. Először is, a vizsgálat nem informatív, ha a HC szülő homozigóta az RFLP-helyre nézve, pl. ha két *A* allélje van, mivel ilyenkor a HC gént nem lehet kötni egyik kromoszómához sem. Más esetben a vizsgálat informatív, de nem elég precíz. Vizsgáljuk meg ezt egy példán. Írjuk fel egy jelleghordozó (beteg) és egy egészséges személy házasságát. Ha *A*, *B* és *C* jelöli az RFLP alléleket, *H* jelöli a HC gént, *h* pedig a normál allélt és 4% a rekombinációs gyakoriság, akkor előfordulhat a következő eset:

HC-ban szenvedő szülő x egészséges szülő

Gyermekeik genotípusa négyféle lehet:



Az *A* allélt hordozók 48/50-ed része vagyis 96%-a hordozza a *H* allélt is, de 2/50 részben (4%-ban) a HC előrejelzése téves lesz, mivel a *H* allél crossing over révén *h*-ra cserélődött. Ugyanakkor a *B* allélt hordozók nagy valószínűséggel a normál *h* allélt hordozzák, de a kedvező megállapítás, hogy az illető mentes a *H* géntől, az esetek 4%-ában téves lesz. Bár a tévedés valószinűsége nem nagy, a 4%-os hibalehetőség ilyen súlyos betegségnél ösztönzi a további kutatást a génhez közelebb elhelyezkedő RFLP marker keresésére.

DUPress

A génhez közelebbi marker keresésére alkalmas módszer a ***„sétálás a kromoszómán"***[23].

A meglevő G8 próbát felhasználva szűrnek[24] egy humán génbankot. Így izolálni lehet olyan klónokat, amelyek átfednek a G8 szekvenciával, de tartalmaznak egy másik régiót, ami a G8 szekvencia és a keresett gén közé esik. Utóbbit használva próbaként újabb klónt lehet izolálni, amely a génhez még közelebb eső szekvenciákat tartalmaz, és így tovább. A szükséges lépések száma attól függ, mekkora klónozott fragmentumokat tartalmaz a génbank. Az adott esetben a 4 térképegység 4000 kb-t jelent. Mivel egy λ fág génbank 20 kb méretű klónozott fragmentumokat tartalmaz, 200 lépést venne igénybe ennek a távolságnak az áthidalása. Ha azonban a klónozott fragmentumok méretét 200 kb-ra növeljük, a lépések száma ezzel arányosan csökkenthető. Ha rendelkezésre áll is egy teljes bizonyosságot nyújtó próba, mivel a betegség tüneti kezelésére sem nagyon van lehetőség, már maga a vizsgálat elvégeztetése is nehéz, felelősségteljes döntés. Ha pl. egy családtag nem akarja tudni mit tartogat számára a jövő, közvetlen hozzátartozóitól meg lehet-e tagadni az információt, amihez joguk van? A példából is látható, hogy a modern genetikai módszerek alkalmazása milyen természetű emberi, társadalmi, etikai, jogi problémákat vethet fel.

Legújabb eredmények. A HC gént 60 kutató sokéves erőfeszítése révén sikerült klónozni, anélkül, hogy funkciójáról vagy a fehérjetermékről előzőleg tudtak volna valamit. A gén a 4. kromoszóma rövid karján helyezkedik el, 210 kbp hosszúságú és egy nagy, 348 kD méretű fehérjét kódol, melyet *huntingtin*-nek neveztek el. A gén DNS-szekvenciájának meghatározása révén kiderült, hogy annak egy bizonyos (fehérjekódoló) szakaszán – egészséges embereknél is – egy bázishármas (CAG) 11-34 példányban közvetlenül egymás után ismétlődik. Ez a fehérjében egymás melletti glutaminokat kódol. Az ismétlődések száma nem stabil, egyik generációról a másikra növekedhet (ritkábban csökkenhet is). Megfigyelték, hogy HC-ban szenvedőknél az ismétlődések száma 42, vagy ennél több. Úgy tűnik, hogy ez az a határérték, melynél nagyobb számú ismétlődés Huntington chorea-t eredményez.

Valamely rövid ismétlődő szekvencia példányszámának növekedése, amit ***DNS-expanzió***nak neveznek, tulajdonképpen a mutáció egy sajátos formája ***triplet expanziós mutáció***), melynek szerepét más öröklődő betegségeknél (fragilis X szindróma, miotóniás disztrófia) is igazolták. Ezekre az öröklődő betegségekre jellemző, hogy a generációk során a kezdet egyre korábbra tevődik, a lefolyás pedig egyre súlyosabb. Ezt a jelenséget, melyet ***anticipáció***nak neveznek, az orvostudomány a múlt század óta ismeri. A DNS-expanzió során felszaporodó „felesleges" DNS egyre inkább károsítja az adott fehérje biológiai funkcióját, s ez magyarázhatja az egyre súlyosbodó tüneteket. A HC gén és benne a mutáció pontos azonosítása megteremtette a prenatális diagnózis lehetőségét. Ugyanakkor ne feledjük: új mutációk – negatív családi anamnézis mellett – mindig jelentkezhetnek. Ilyen szempontból nézve a férfiak ivarsejtjei a veszélyeztetettebbek: a spermiogenezis során sokkal többször lejátszódó DNS replikáció nagyobb lehetőséget teremt az

---

[23] *Chromosome walking.*

[24] Jelentése itt: hibridizációval átvizsgálnak.

említett expanzióra. Értelemszerűen: az idősebb apák gyermekeinek nagyobb a kockázata. Ez természetesen általában is igaz, nem csak a HC esetében.

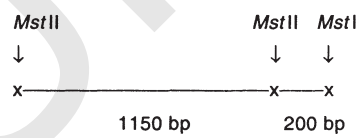
Egy másik betegségre, a ***sarlósejtes anémiá***-ra teljes bizonyosságot adó vizsgálat áll rendelkezésre. Sajnos, ennél a kórképnél is igen korlátozottak a terápiás lehetőségek, de a szülőnek rendelkezésére áll a prenatális diagnózis és érintett magzat esetén az abortusz lehetősége. A vizsgálat azért 100%-os megbízhatóságú, mert a felhasznált restrikciós felismerőhely nemcsak hogy a génen belül helyezkedik el, de átfed azzal a kodonnal, amelynek megváltozása mutáns polipeptidet eredményez.

Az *Mst*II restrikciós enzim, amit ebben a vizsgálatban használnak, a következő szekvenciát hasítja (az ábrán N és N′ bármely bázispárt jelenthet):

⇓
GGANTCC
CCTN′AGG
⇑

A *normális* β-globin génben ez a 7 bázispár kódolja az 5., a 6. és részben a 7. aminosavat:

*Mst*II felismerőhelyek természetesen vannak máshol is. A balra és jobbra eső legközelebbi hely pozícióját mutatja az alábbi vázlat:

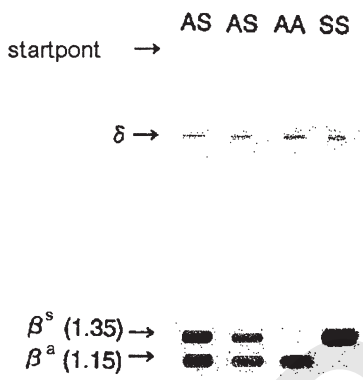


Normális magzatból származó DNS *Mst*II emésztésével a fenti két fragmentum keletkezik, természetesen sok más fragmentum mellett. Southern-hibridizációs kísérletben a megfelelő próbával az 1150 bp-os fragmentum kimutatható (a 200 bp-os nem, mivel ezzel nem hibridizál a próba).

Sarlósejtes anémiában a 6. aminosav kodonjában történt T→A mutáció következtében glutaminsav helyett valin épül be a β-globin láncba. A megváltozott szekvenciát az *Mst*II nem képes hasítani, így az autoradiogramon 1150 bp hosszúságú fragmentum helyett 1350 bp hosszúságú fragmentum mutatható ki (18.16. ábra). A vizsgálathoz ele-

DUPress

gendő néhány μg DNS, ami a magzatvízben található sejtekből, v. chorionboholy mintából izolálható. A vizsgálat még korszerűbb (PCR) verziójához elegendő 20 ng DNS is (l. alább). A restrikciós enzimek tehát nemcsak géntérképezésre, hanem prenatális diagnosztikában is használhatók.



18.16. ábra. *Southern hibridizáció felhasználása a sarlósejtes anémia prenatális diagnosztikájában.* Az *Mst* I I-vel emésztett DNS-t β-globin génre specifikus próbával hibridizálták. A DNS minták forrását jelentő egyedek genotípusai az ábra felső részén láthatók. A: normál allél, S: sarlósejtes allél, AS: fenotípusosan egészséges heterozigóta (sarlósejtes jelleggel rendelkező) szülők, AA: homozigóta egészséges gyermek, SS: sarlósejtes anémiában szenvedő magzat. Az 1,15 és 1,35 a normál, ill. a mutáns allélra jellemző fragmentum méretét jelölik kilobázisban. A halvány, δ-val jelölt csík a δ-globin génnel történt kereszt-hibridizáció eredménye. (Ez utóbbi reakció aspecifikusnak minősül, de ne feledkezzünk meg a két gén nagyfokú homológiájáról.)

TANDEM ISMÉTLŐDŐ SZEKVENCIÁK POLIMORFIZMUSAI (STRP)[25]

A DNS polimorfizmusoknak ez a fajtája azért érdemel különös figyelmet, mert felhasználható személy-azonosításra és emberek közötti genetikai rokonság kimutatására. Ennek lényege, hogy egy meghatározott szekvencia egy adott lokuszon egymást követően (tandem) sokszorosan ismétlődő kópiákban van jelen. Két válfaját különböztetjük meg: Ha az ismétlődő szekvencia 2-9 bp hosszúságú, ***mikroszatellitá***nak[26], 10 és 60 bp közötti méret esetén ***miniszatellitá***nak, v. ***VNTR***-nek nevezik[27]. Kimutatásuk történhet Southern-hibridizációval vagy polimeráz láncreakcióval (l. alább).

---

[25] *Simple Tandem Repeat Polymorphism* (STRP).

[26] *Simple Sequence Length Polymorphism* (SSLP).

[27] *Variable Number Tandem Repeat* (VNTR).

DNS FINGERPRINTING ÉS POLIMERÁZ LÁNCREAKCIÓ

A β-globin és a G8 próbák (18.15. ábra) segítségével azért tudunk genotípusokat azonosítani, mert ezek a próbák *egyedi szekvenciák*kal hibridizálnak. A *repetitív szekvenciák*kal homológ próbák ezzel szemben sok fragmentumhoz kötődnek, mivel ezek a szekvenciák több helyen előfordulnak a genomban. Ezen az elven működik a ***DNS-„ujjlenyomat"*** *(fingerprinting)* technika. Mivel a vizsgálati eredmény minden embernél különböző, ez a technika az ujjlenyomatkészítés molekuláris ekvivalense, s kiterjedten használják a genetikai analízisben és az igazságügyi orvostanban.

Az emberi DNS-ben sok helyen vannak repetitív szekvenciák. A kb. 300 000-es példányszámú *Alu* szekvencia a genomban mindenütt megtalálható, s a teljes genom 9%-át teszi ki (l. 16. fejezet). Más esetekben egy-egy rövid szekvencia tandem módon többször ismétlődik egy DNS-régión belül, más-más helyeken az ismétlődések száma különböző lehet. Pl a következő 16 nukleotidnyi szekvencia szinte minden emberi kromoszómán megtalálható:

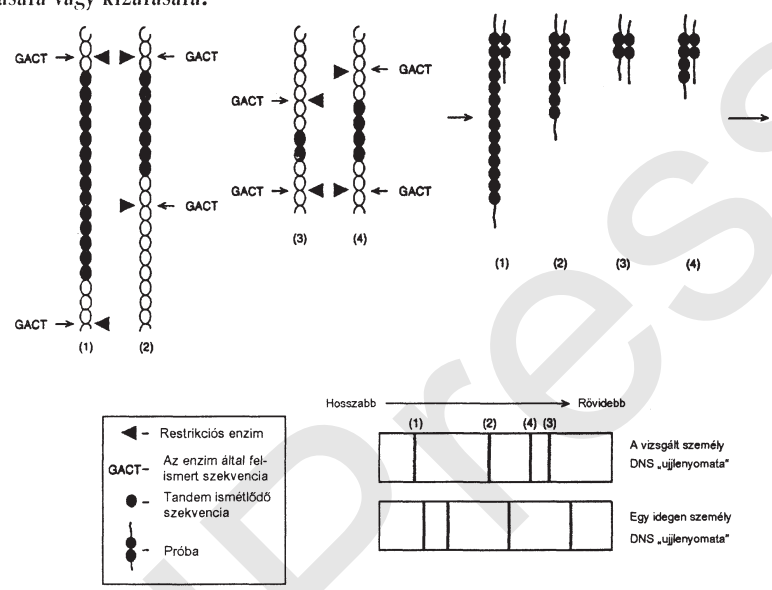
A G A G G T G G G C A G G T G G

A DNS-*fingerprinting*-et – vagyis az egyénre specifikus DNS-azonosítást – az teszi lehetővé, hogy gyakorlatilag nem fordulhat elő két embernél egy adott ismétlődő szekvencia az összes lokuszokon pontosan ugyanolyan példányszámban. Nem tudjuk pontosan, miért különbözik egyénenként az ismétlődő egységek száma. Lehet, hogy az egyik ok az egyenlőtlen crossing over (amire az ismétlődések igen jó alkalmat teremtenek). A kópiaszám változása egy régión belül az egész régió hosszának változását eredményezi. Ezt ki lehet mutatni olyan restrikciós enzimeket használva, melyek nem hasítanak bele az ismétlődő szekvenciába. A módszer lényegében Southern-hibridizáció, melyben a repetitív DNS-re specifikus próbát használnak (18.17. ábra).

Minden egyén DNS-e egy restrikciós enzimmel emésztve s egy adott próbával hibridizálva számos csíkot ad. Pl. egy konkrét, a fenti szekvenciát tartalmazó próba 15 különböző fragmentumhoz hibridizál 4 és 20 kb között[28]. A variabilitás egyének között olyan nagy, hogy annak a valószínűsége, hogy két rokonságban nem levő ember között a mintázat teljes azonossága álljon fenn, $4 \cdot 10^{-11}$ (egy a huszonötmilliárdhoz). Még testvérek esetén is igen alacsony a teljes azonosság valószínűsége, mivel a két szülőben minden lokusznak megfelelően 4 különböző allél van jelen, s ezek kombinálódhatnak. Annak a valószínűsége, hogy két testvérben ugyanazon méretű fragmentum meglegyen: 1/2.

[28] Páratlan számú hibridizáló fragmentumot kaphatunk, ha pl. a homológ kromoszómákon azonos allélek vannak, ha két különböző kromoszómáról származó fragmentum mérete azonos, vagy ha az egyik hibridizáló fragmentum kisméretű és kifut a gélből, stb.

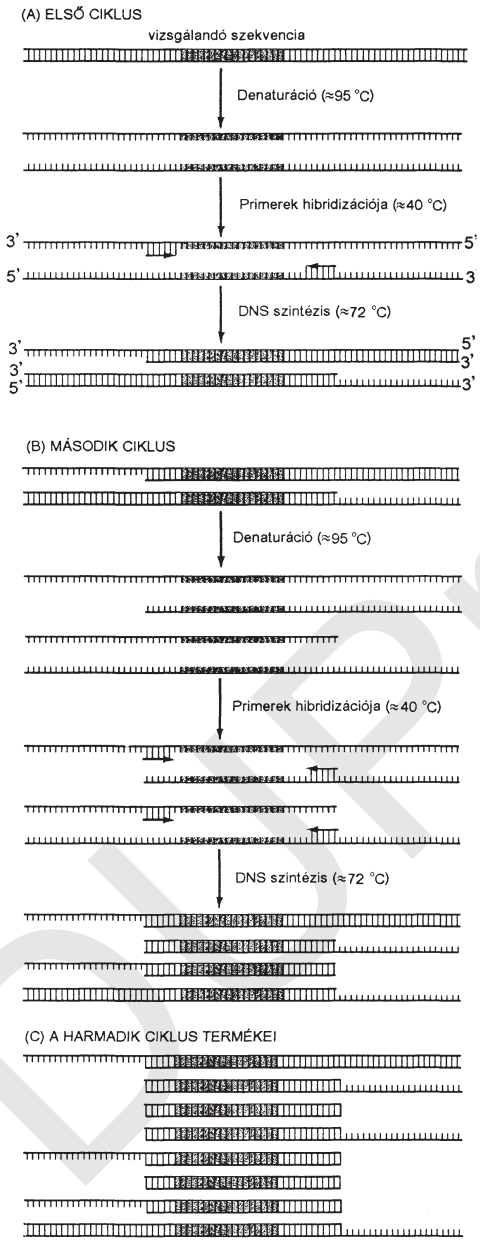
Ugyanakkor a teljes identitás valószínűsége $(1/2)^{15}$, ami nagyjából 1/33000. A különböző méretű ismétlődő szekvenciákat tartalmazó fragmentumok is a genetikai polimorfizmus megnyilvánulásai. A módszert kiterjedten használják pl. az igazságügyi orvosszakértők vérből, ondóból, de bármilyen egyéb szövetféleségből is elvégezhető személyazonosításra, vagy – pl. Nagy-Britanniában a bevándorlási hatóságok – vérségi kapcsolatok bizonyítására vagy kizárására.



18.17. ábra. *Tandem ismétlődések és a DNS-fingerprinting.* Egy tandem ismétlődő szekvencia több helyen is megtalálható a genomban. Az ábrán két homológ kromoszómapáron elhelyezkedő lokuszokat ábrázoltunk, mindegyiknél különböző az ismétlődések száma. Egy GACT szekvenciát felismerő restrikciós enzim az ismétlődések mindkét végén hasít. A hasítás a különböző példányszám miatt különböző méretű fragmentumokat eredményez. Az 1-es és 2-es fragmentum homológ helyek hasításával keletkezett, ezek egymás alléljai. A 3-as és 4-es hasonlóképpen allélikusak. Az 1-es és 2-es azonban nem allélja a 3-asnak és 4-esnek. A négy fragmentum a megfelelő próbával egyedi mintázatot ad, ez a DNS-*fingerprint*. Egy teljesen idegen személynél ugyanezen lokuszokon más, eltérő kópiaszámot tartalmazó allélek találhatók – heterozigóta formában. (Az ábra egyszerűsített, mivel a próba a valóságban több fragmentumot mutatna ki.)

A vizsgálathoz néhány μg DNS-re van szükség, de egy másik jelentős technikai újítással kombinálva akár ng-nyi DNS-ből is vehető ***„ujjlenyomat"***. A szóban forgó új technika a ***polimeráz láncreakció*** (*polymerase chain reaction,* ***PCR,*** 18.18. ábra). Ennek lényege, hogy segítségével bármely DNS mintából egyetlen kiválasztott szekvencia

DUPress



18.18. ábra. *A polimeráz láncreakció* során a kívánt szekvenciát (sötétebb színnel jelölt szegmentum) felszaporítjuk. Az első két ciklust részletesebben ábrázoltuk (A) és (B), a harmadik ciklusnak csak a végeredménye van feltüntetve (C). A rövid vízszintes nyilak a primerek. A felszaporítani kívánt szekvenciát tartalmazó rövid fragmentumok száma a ciklusok során exponenciálisan nő: 20 ciklus alatt kb. 1 millió kópia keletkezik (2^{20}).

akár milliószorosára felszaporítható. Néhány, vagy akár egyetlen DNS molekulából kiindulva lehetséges a kívánt szekvencia amplifikálása olyan mennyiségben, amellyel a kívánt analízis elvégezhető (pl. restrikciós hasítás, gélelektroforézis, szekvencia meghatározás, stb).

A polimeráz láncreakcióhoz szükség van két oligonukleotidra, melyek a felszaporítani kívánt szekvencia két végén képesek kötődni a denaturált DNS-hez, egyik az egyik, másik a másik szálhoz, úgy, hogy 3′ végük egymás felé mutat (18.18. ábra). Mindkét oligonukleotid primerként szolgál a DNS polimeráz számára. A replikáció iránya 5′→ 3′, ezért mindkét megszintetizált új szál tartalmazni fogja a felszaporítani kívánt szekvenciát (18.18. ábra, A). A replikáció következő ciklusában (denaturációt követően) a primerek mind a régi, mind az új szálhoz kötődhetnek (18.18. ábra, B). Néhány replikációs ciklus után a rövid fragmentumok, amelyek a kiválasztott

DUPRES

szekvenciát tartalmazzák, sokkal nagyobb mennyiségben lesznek jelen, mint a hosszú fragmentumok, melyekből a reakció kiindult, ill. amelyeken más szekvenciák is vannak (18.18. ábra C).

A reakcióhoz hőforrásokban élő, termofil baktériumfajból (*Thermophilus aquaticus*) izolált különleges DNS polimerázt (*Taq* polimerázt) használnak, amely 95 °C-os hőmérsékleten sem denaturálódik. A reakció minden ciklusa három lépésből áll: (1) A DNS denaturációja 95 °C-on, (2) a primerek hibridizációja a templáthoz 30-55 °C közötti hőmérsékleten – az aktuális hőmérséklet a primer bázisösszetételének függvénye. (3) DNS szintézis 72 °C-on, a *Taq* DNS polimeráz hőmérsékleti optimumán. Egy ilyen ciklus 25-30-szor ismétlődik egy polimeráz láncreakció során, s 2-3 óra alatt a primerek által határolt szekvencia milliószorosan amplifikálódik.

A reakció eredményeként annyi DNS-t lehet nyerni, amennyi elegendő analitikai célokra. Példaként említünk néhány alkalmazást: „DNS-ujjlenyomat" egyetlen hajszálból (hajhagymából) kiindulva, sarlósejtes anémia, β-talasszémia, Duchenne-féle izomdisztrófia és más öröklődő betegségek prenatális diagnózisa CVS-sel (l. 22. fejezet) nyert trofoblaszt sejtekből. Fertőző betegségek diagnózisában a kórokozó mikroorganizmus (pl. *Mycobacterium tuberculosis,* HIV vírus) DNS-ének kimutatására használják. Sikerrel amplifikáltak DNS-t archeológiai csontleletekből és szövettani metszetekből is. (A reakció technikai kivitelezését látni fogjuk a genetika gyakorlatok keretében.)

PCR SEGÍTSÉGÉVEL KIMUTATHATÓ EGYÉB POLIMORFIZMUSOK (RAPD, AFLP)

A DNS markerek vizsgálatánál felmerülő egyik probléma, hogy a Southern-hibridizációhoz klónozott DNS-próba szükséges, a PCR-hez pedig szekvencia-információ a primerek megtervezéséhez. Kevésbé ismert genomok esetén ezek hiánya nehézségeket okozhat, ezért dolgozták ki a random (véletlenszerű) fragmentumok amplifikációjának módszerét (***RAPD***)[29].

Ennek lényege, hogy 8-10 nukleotidnyi random primerpárokat használnak PCR reakcióban a genomból származó véletlenszerű szekvenciák felszaporítására. Egy konkrét egyed esetében – elektroforézis után – sok csíkból álló mintázatot kapunk. Minden egyes csík egy-egy random PCR-terméket jelent. Előfordulhat, hogy egy adott PCR termék a populáción belül egyesekben megvan, másoknál viszont hiányzik. Ez képezi a polimorfizmus alapját. A dominancia kérdésében ez a polimorfizmus különbözik az RFLP-től. Jelöljük a PCR terméket létrehozó allélt + jellel, az erre nem képes allélt - jellel. Ha nem látunk csíkot, akkor biztos, hogy a genotípus -/- az adott lokuszon. Ha viszont

[29] *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD).

jelen van a csík és a PCR termék, akkor lehet +/+ és +/- is. Ebből következik, hogy az RAPD-vel kimutatható allél domináns.

Ugyancsak a PCR technikán alapul a polimorfizmus-kimutatás egy másik változata az ***AFLP***[30]. Az RAPD esetében ugyanis a csíkok között intenzitásbeli különbségek lehetnek, mivel a rövid primerek nem mindig kapcsolódnak tökéletesen a templáthoz. Ennek kiküszöbölésére módosították a módszert. A kromoszomális DNS-t először emésztik egy restrikciós endonukleázzal (pl. *Eco*RI-gyel). Ezt követően *Eco*RI ragadós véggel rendelkező kétszálú oligonukleotidokat (primer adaptereket) kapcsolnak DNS ligázzal a fragmentumok végeihez. Ezután az adapterek szekvenciájával komplementer primereket használva PCR reakciót végeznek. A primerek szekvenciáját úgy lehet megtervezni, hogy nem az összes fragmentum, hanem csak 1/16, 1/256 v. 1/4096-od részük amplifikálódjon.

Ha a primer szekvenciája pontosan megfelelne az adapterének, akkor minden szekvencia amplifikálódna. Ha a primerek szekvenciáját 1 nukleotiddal meghosszabbítják 3' irányban, akkor azok csak minden negyedik fragmentumhoz tudnak kötődni. Mivel mindkét végen van egy-egy primer, így csak az összes fragmentum ¼ x ¼ = 1/16 része fog amplifikálódni. Hasonlóképpen folytatható a gondolatmenet 2 és 3 nukleotiddal meghosszabbított primerek esetén. Mivel ugyanazt az adaptert kapcsolják mindkét véghez, egyetlen primer elegendő az amplifikációhoz.

Az áttekintett DNS polimorfizmusok közös jelentősége, hogy segítségükkel meg lehet állapítani öröklődő betegségeket okozó gének – örökletes kockázati tényezők – kromoszomális lokalizációját. Azok a polimorf markerek, melyek szorosan kapcsoltak egy betegséget okozó génnel, vele együtt öröklődnek nemzedékről nemzedékre, így kimutatásukkal jelezni lehet a kóros allél, vagy kockázati tényező jelenlétét. Előfordulhatnak DNS polimorfizmusok intronokban is. Ilyen esetekben – ha az adott változat valóban informatív – a kapcsoltság nem kérdőjelezhető meg, a diagnosztikus érték nagy lehet.

Szomatikus sejtgenetika

1966-ra a kutatók már 600 autoszomális és 70 X-hez kötött humán gént ismertek, de egyetlen autoszomális génről sem tudták, hogy melyik kromoszómán helyezkedik el, s az X-hez kötöttek esetében sem volt ismert a kromoszómán belüli lokalizáció. Ezzel szemben ma már nagyon sok humán gén pontos lokalizációját ismerjük, sőt a teljes humán genom genetikai térképe és nukleotidszekvenciája rendelkezésünkre áll.

A fordulópont a géntérképezésben az 1967-es év volt, mikor humán-egér sejthibridek segítségével sikerült a timidin kináz génjét a 17. emberi kromoszómára lokalizálni. A felhasznált módszer a ***sejtfúziós technika*** volt, amely a hagyományos családfavizsgálat és a modern molekuláris módszerek mellett ma is gyakran használt eszköze a humángenetikai kutatásnak.

---

[30] *Amplified Fragment Length Polymorphisms* (AFLP).

HIBRIDSEJTEK LÉTREHOZÁSA ÉS SZELEKCIÓJA

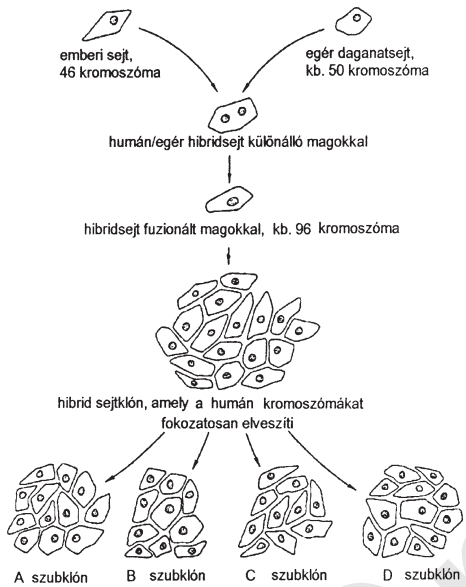
A szomatikus (testi) sejtekből először ún. sejtklónokat kell előállítani. Az emberi szervezetből ill. egérből származó sejteket sejttenyésztő edényben levő tápközegbe helyezik, ahol azok szaporodni képesek. Az egyetlen eredeti sejtből mitotikus osztódással létrejött, genetikailag identikus sejtek összességét nevezzük ***klón***nak v. ***sejtvonal***nak. A fúziós kísérlet során egy emberi és egy egér eredetű sejtklón sejtjeit közös tenyésztőedénybe oltották le, s órákon vagy napokon keresztül hagyták azokat osztódni. A kevert sejtpopulációban spontán is létrejöhetnek humán-egér hibridsejtek, de a sejtfúzió gyakoriságát ezerszeresére lehetett emelni polietilénglikol, vagy egy inaktivált vírus (Sendai vírus) alkalmazásával, melyek a sejtek összetapadását, majd a membránok fúzióját okozzák. A fúziós sejt eleinte két különálló magot tartalmaz (18.19. ábra), de ezek a sejtosztódások során összeolvadnak egy hibrid sejtmaggá. A hibridsejtekben, melyek több oszódási cikluson mennek át, s végül telepet képeznek, mindkét szülő génjei kifejeződhetnek.

A hibridsejtek telepei külső megjelenésükben nem feltétlenül különböznek a szülői sejtek telepeitől, ezért detektálásuk és izolálásuk problémát jelent. Ezért a mikrobiális genetikában használatosakhoz hasonló szelekciós technikákat dolgoztak ki. Ismert, hogy bizonyos mutáns baktériumtörzsek a tápanyagigényben különböznek a vad típusú törzstől, lehetnek pl. aminosavigényesek. Hasonlóképpen emlős sejtek esetében is vannak (recesszív) mutációt hordozó sejtvonalak. Tegyük fel, hogy van egy emlős sejtvonalunk (nevezzük T^--nak), amiből hiányzik egy, a tirozin bioszintéziséhez szükséges enzim, míg egy másik sejtvonalban (G^-) a glutamin bioszintéziséhez szükséges egyik enzim nincs meg. Mindkét aminosav nélkülözhetetlen a sejtek szaporodásához. Egy vad típusú sejtvonal képes megszintetizálni mindkét anyagot, viszont az említett mutáns sejtvonalak tenyésztésénél a tápközeghez hozzá kell adnunk azt az aminosavat, melyet az adott sejtvonal nem képes szintetizálni. Tirozint és glutamint nem tartalmazó tápközegben sem az T^-, sem az G^- sejtvonal nem képes növekedni[31].

Mi történik, ha az T^- sejteket fúzionáltatjuk az G^- sejtekkel? Mivel az T^- sejtek tartalmazzák a glutamin bioszintéziséhez szükséges funkcióképes allélt és az G^- sejtek hordozzák a tirozin bioszintézishez szükséges normális allélt, a fúzionált sejtben ($T^+ T^- G^+ G^-$) génkomplementáció valósul meg, azaz a fúzióval létrejött sejtek tirozint és glutamint nem tartalmazó tápközegben is tudnak telepet képezni. A hibridsejteknek az a tulajdonsága, hogy tudnak szaporodni olyan tápközegben, melyben egyik szülői sejtvonal sem képes, lehetővé teszi a genetikus számára még a ritkán keletkező hibridsejtek detektálását és izolálását is.

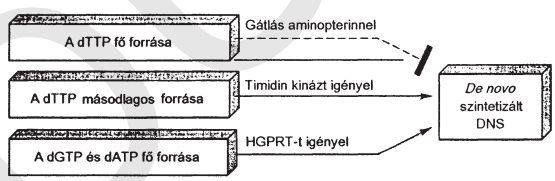
---

[31] Tekintsük ezt a hibridsejtek szelekcióját demonstráló gondolatkísérletnek, mert emberben a glutamin és a tirozin esszenciális aminosavak.



18.19. ábra. *Sejthibridek előállítása.* Humán és egér eredetű sejteket kevernek össze egy tenyésztőedényben Sendai vírus jelenlétében. A különböző fajú sejtek fúziójával hibridek jönnek létre, melyek eleinte kétmagvúak, később a magok összeolvadnak. A hibridsejtek ismételt osztódások révén klónt képeznek, melyből individuális sejteket választanak ki továbbtenyésztésre, ily módon szubklónokat izolálnak. Miután a hibridsejtek többé-kevésbé véletlenszerűen veszítik a humán kromoszómákat, mindegyik szubklón különböző kromoszóma-összetételű lesz. A nélkülözhetetlen, ún. „háztartási" gének közül mind a humán, mind az egér eredetűek kifejeződhetnek a hibridekben, a specializált géntermékek (pl. hemoglobin, albumin, stb.), melyek csak differenciált sejtekre jellemzőek, viszont nem mindig jelennek meg bennük.

Igen elterjedten használnak hibridsejtek szelekciójára egy módszert, amely a DNS bioszintézisében létrejött mutációkat használ fel. A DNS szintéziséhez szükséges dTTP kétféleképpen jöhet létre. Nagyobbrészt *de novo* (újonnan) szintetizálódik aminosavakból és ribózból kiindulva. Kisebb részben a dTTP létrejöhet nukleinsavak lebontásából származó nukleozidokból (pl. timidinből), amelyet mentési anyagcsereútnak[32] neveznek. Ha *aminopterin*nel gátoljuk a *de novo* szintézist, dTTP csak a másik anyagcsereúton szintetizálódhat, melynek fontos enzime a *timidin kináz* (TK). Így a timidin kináz aktivitással nem rendelkező sejtvonalak (TK^- sejtek) aminopterin jelenlétében nem lesznek képesek DNS-t szintetizálni (18.20. ábra).

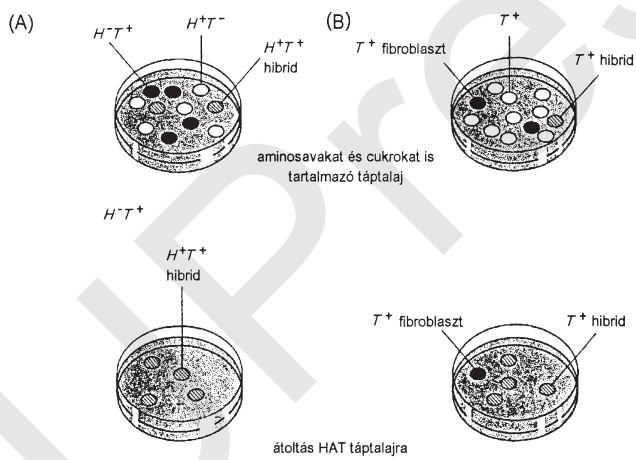


18.20. ábra: *Anyagcsereutak a DNS prekurzorok szintézisében.* (Egyszerűsített séma. A dCTP-t szolgáltató anyagcsereút nem szerepel az ábrán.)

[32] *Salvage pathway.*

A DNS szintézis purin-nukleotidokkal történő ellátásában igen fontos enzim a *hipoxantin-guanin foszforibozil transzferáz,* az angol név után rövidítve: HGPRT.[33] Ezt az enzimet nélkülöző ($HGPRT^-$) sejtek nem képesek a DNS szintézisre a purin-nukleotidok hiánya miatt.

Ha aminopterin jelen van a tápközegben, a sejtnek szüksége van mind a TK, mind a HGPRT enzimek aktivitására, hogy DNS-t szintetizáljon. Ha mindkét enzim működőképes, a sejtek szaporodnak, viszont ha bármelyik is működésképtelen, aminopterin jelenlétében nincs sejtosztódás. Ha humán TK^- és egér $HGPRT^-$ sejteket hoznak össze aminopterint tartalmazó tápközegben, egyik szülői sejtféleség sem tud szaporodni. A fúzionált sejtek közül pedig *csak a humán-egér hibridsejtek*, melyekben mindkét enzimaktivitás megvan, lesznek azok, melyek telepeket képeznek (18.21. ábra, A). Más szóval a $HGPRT^-$ és TK^- mutációk komplementálják egymást a hibridekben, ezért csak ezek lesznek életképesek. A fúzionált sejtek szelekciójára használt tápközeget ***HAT médium***nak nevezik, mivel hipoxantint (a HGPRT szubsztrátját), aminopterint (a dTTP szintézis gátlószerét), és timidint (a TK szubsztrátját) tartalmaz.



18.21. ábra. *A hibridsejtek szelekciójának módszerei.* (A) A HAT módszer esetén mindkét szülői sejtvonal mutáns, az egyik a HGPRT génben (H^-T^+), a másik a TK génben (H^+T^-). Ha a sejteket átvisszük HAT médiumra, a szülői telepek nem nőnek, mert DNS szintézisük gátolt, csak a fúziós(H^+T^+) sejtek képesek a növekedésre. (B) A szemiszelektív módszerben csak az egyik szülői sejtvonal mutáns, H^- vagy T^-. A másik szülői sejtvonalban (gyakran humán fibroblaszt) mindkét enzim működőképes, de ez relatíve lassan növekszik. Utóbbi sejttípusból kevesebbet használnak fel a fúzióhoz. A mutáns sejtvonal nem nő HAT médiumon, s mivel a másik szülői vonal lassan nő, a hibrid sejtklónok dominálnak.

---

[33] A súlyos, X-hez kötötten, recesszívan öröklődő Lesch-Hyhan szindróma oka a HGPRT defektusa.

GÉNEK KROMOSZOMÁLIS LOKALIZÁCIÓJÁNAK MEGHATÁROZÁSA

A hibridsejteknek az a sajátossága, hogy kromoszómákat veszítenek, segítségére van a kutatóknak annak megválaszolásában, hogy melyik gén melyik kromoszómán helyezkedik el. A kromoszómavesztés együtt jár az adott kromoszómán levő génektől függő biokémiai folyamatok megszűnésével. Ebből lehet arra következtetni, hogy az adott funkcióért felelős gén v. gének melyik kromoszómán vannak.

A kromoszómavesztést kariogram készítésével mutatják ki. Érdekes módon a humán-egér sejthibridek csak a *humán* kromoszómákat veszítik. Hogy ennek mi az oka, azt pontosan nem tudni, de valószínűleg a humán kromoszómák lassúbb replikációjának lehet ebben szerepe. A kromoszómavesztés addig folytatódik, amíg egyetlen vagy csak néhány humán kromoszóma marad a hibridsejt magjában. Ezen a ponton a szubklónok stabilizálódnak.

Valamely enzim, v. más fehérje elvesztésének kimutatását megkönnyíti, ha ugyanazon fehérje emberre és egérre specifikus változata gélelektroforézissel elkülöníthető. Bár az emlős sejtekben lényegében ugyanazok a biokémiai folyamatok mennek végbe, az enzimek szerkezetében lehetnek a fajra jellemző eltérések. Ezek a különbségek az evolúció során jöttek létre, ugyanis különböző, egymástól izolálódott populációkban más mutációk keletkeztek és okoztak aminosavcserét. Így különböző fajokban egy adott enzimnek eltérő formái létezhetnek. (Egy egyeden belül vagy egyedek csoportjaiban is fellelhetők egy enzim eltérő molekuláris formái, ezeket *izoenzimek*nek[34] nevezzük.) Hasonlóképpen, más, nem enzimtermészetű fehérjék, mint a hemoglobin vagy albumin is variációt mutathatnak fajok között, sőt fajon belül is. Ezek a kis eltérések a humán és egér enzimek között gyakran kimutathatók gél-elektroforézissel. A fehérjemolekulák vándorlási sebessége a gélben töltésük és tömegük függvénye. Azonos tömeg esetén az aminosavoldalláncokból eredő töltéskülönbség okozza az eltérő vándorlási sebességet.

Az elsődleges fúziós termékekben kimutatható mind az emberre, mind az egérre jellemző változata egy adott fehérjének, mivel elektroforetikus mobilitásuk különbözik (18.22. ábra). Ha a gént hordozó humán kromoszómák elvesznek a hibridsejtből, akkor a humán proteinnek megfelelő elektroforetikus csík is eltűnik. Kutatók megvizsgálták 26 hibrid klónban a humán peptidáz C enzim jelenlétét, amely az egér enzimtől eltérő mobilitású. 14 hibrid sejtvonalban, melyekben jelen volt az 1. kromoszóma, kimutatható volt a humán enzim, míg a további 12 sejtvonalban, melyek elvesztették az 1. kromoszómát, nem volt megtalálható. Ebből megállapították, hogy a peptidáz C gén az 1. humán kromoszómán helyezkedik el.

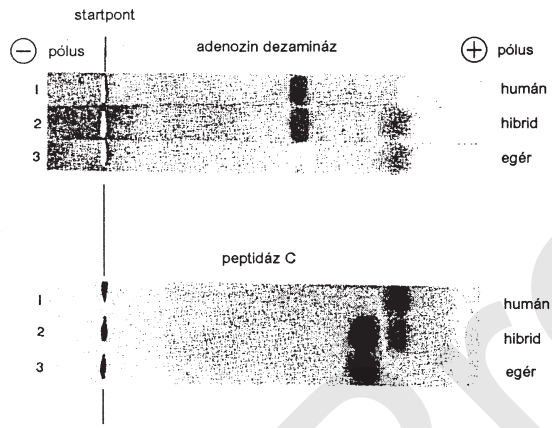
MÓDSZEREK A GÉNEK LOKALIZÁCIÓJÁNAK MEGHATÁROZÁSÁRA A KROMOSZÓMÁK MENTÉN

Az előzőekben leírt módszert olyan gének esetén lehet alkalmazni, melyek kifejeződnek, s detektálható mennyiségű fehérjetermék keletkezik. A rekombináns DNS módszerek forradalmasították a hibridsejtek analízisét is. Bármely gén, sőt bármely DNS szekvencia térképezhető, amelyre van rekombináns DNS próba.

---

[34] Egyéb használatos megjelölések: alloenzimek, izoformák.

Ennek a módszernek az alapja is humán–egér hibrid sejtvonal készítése, amely kisszámú, azonosított humán kromoszómát tartalmaz. A kísérletezőnek általában több tucat ilyen sejtvonal áll rendelkezésére. Minden sejtvonalból DNS-t izolálnak, hasítják restrikciós enzimmel, s elektroforézis után átviszik filterre (l. 18.12. ábra). A filtert a vizsgált génnek megfelelő próbával hibridizálják, majd autoradiogramot készítenek. Hibridizációs jel csak akkor jelenik meg, ha a hibridsejt tartalmazza azt a kromoszómát, melyen a vizsgált gén van.



18.22. ábra. *Enzimvariánsok detektálása hibridsejtekből elektroforézissel.* Mindegyik esetben a humán sejtvonalban az egyik variáns mutatható ki, az egér sejtvonalban a másik, s a hibridsejtekben mindkettő.

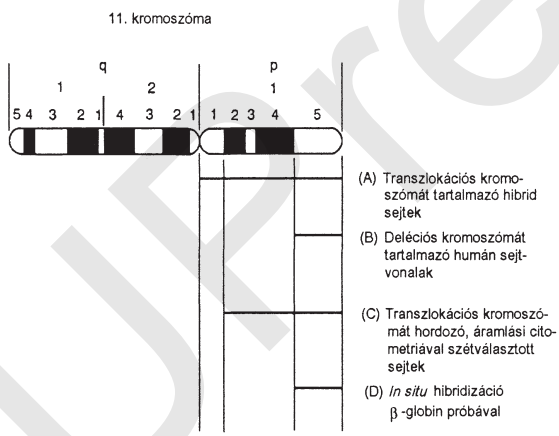
Ezzel a módszerrel sikerült lokalizálni a Huntington chorea génjét a 4. kromoszómára. Emlékeztetünk arra, hogy a kutatók rendelkezésére állt egy próba (G8), amellyel 4 RFLP allélt sikerült azonosítani a géntől 4 térképegységnyire (18.15. ábra). 18 humán–egér hibridet vizsgáltak meg a G8 próbával. Hat sejtvonal adatai a 18.2. táblázatban láthatók.

A G8 próba csak azon DNS minták esetén adott hibridizációs jelet, melyek a 4. kromoszómát is tartalmazó humán–egér hibridsejtvonalakból származtak. Ilymódon egy, a génhez közeli RFLP-helyet lokalizáltak a 4. kromoszómán, nem pedig magát a gént. Itt megjegyezzük, hogy bár a hibridsejtekben jelen van az összes egér kromoszóma, s a keresett szekvencia mindössze sejtenként egy vagy két kópiában található meg, a hibridizációs technika elég érzékeny ahhoz, hogy specifikusan kimutasson egy ilyen kis kópiaszámú szekvenciát. S ami még lényegesebb, a próba nem kötődik egyetlen potenciálisan homológ egér szekvenciához sem.

A szomatikus sejtgenetika technikáinak fejlődése lehetővé tette annak megállapítását is, hogy a kromoszóma melyik része hordozza a vizsgált gént. Az erre szolgáló egyik módszer olyan humán–egér hibridsejtekből indul ki, melyben transzlokációs vagy deléciós humán kromoszómák vannak. A hibridben megmaradt humán kromoszómák között lehet éppen egy vagy több olyan, melynek egy része hiányzik. Pl. ha az eredeti humán sejt a 4. és a 11. kromoszóma reciprok transzlokációját tartalmazta, a stabil hibridsejtben benne lehet a 4. kromoszóma rövid karja a 11. kromoszóma hosszú karjához tapadva, de a reciprok szegmentumok nem. Southern-hibridizációval megállapítható, hogy a gén jelenléte vagy hiánya összefügg-e az adott kromoszómarészlet jelenlétével vagy hiányával.

18.2. táblázat. *A Huntington chorea génje a 4. kromoszómára lokalizálható.*

Hibrid sejtvonal	A G8 szekvencia jelen van (+) v. hiányzik (–)	A sejtvonalban jelenlevő humán kromoszómák								
W-5	+	**4**	17	18	21	X				
J-22	+	**4**	6	10	11	14	17	18	20	21
N-16	+	3	**4**	5	7	12	17	18	21	X
W-2	–	8	12	17	21	X				
N-5	–	12	14	15	16	18	20			
R-11	–	11	13	16	20	21	X			



18.23. ábra. *A β-globin gének lokalizációja a 11-es kromoszómán négy különböző technikával.* A négy vizsgálat (A-D) eredményei összhangban vannak egymással. A vízszintes vonalak azt a területet jelölik, melyen belülre a lokuszt lokalizálták az adott kísérlet alapján. A kísérletek leírását l. a szövegben.

Ezt illusztrálja a 18.23. ábra, amely összegzi azokat a kísérleteket, melyek a β-globin gének csoportját a 11. kromoszóma rövid karjának 15-ös sávjába (11p15) lokalizálták. (Van egy további, genetikai jellegű bizonyíték is: kapcsoltság az inzulin génnel.) Elsőként egy olyan hibridsejtet vizsgáltak meg (18.23. ábra A), melyben egy 17-es és 11-es humán kromoszómák közötti reciprok transzlokációval létrejött kromoszóma is előfordult, a töréspont a 11-esen centromer-közeli volt. Globin cDNS próbát készítettek,

DUPress

éretlen vörösvérsejtekből izolált mRNS reverz transzkripciójával. Southern-hibridizációval ez a próba csak akkor hibridizált, ha a 11-es kromoszóma rövid karja jelen volt a hibridsejtben, annak hiánya esetén soha. Finomabb térképezés volt lehetséges olyan deléciókkal, melyekben a 11p15 kivételével a rövid kar hiányzott (18.23. ábra B).

Egy másik kísérletben áramlási citometria segítségével szeparált metafázis sejtekből izolált 11-es kromoszómát, vagy a 11-es részeit tartalmazó transzlokációs kromoszómákat vizsgáltak Southern-hibridizációval. Ezzel a módszerrel a 18.23 C. ábrán látható régióba lokalizálták a β-globin géneket.

***In situ* hibridizáció**val is a 11p15-ös sávba lokalizálták a β-globin géneket (18.23. ábra D). Ennél a technikánál először humán metafázis kromoszómákat preparálnak fehérvérsejtekből tárgylemezen (l. 10. fejezet). Festés után mikrofotót[35] készítenek a preparátumról, mely feltünteti a sávokat. A kromoszómákon belül a DNS a helyén marad egyfonalas denaturált formában. Ezután a tárgylemezt együtt inkubálják a radioaktív β-globin gén-próbával, lemossák róla a nem kötődött felesleget, s fényérzékeny emulziót rétegeznek rá autoradiográfia céljából (18.24. ábra). Előhívás után mikrofotót készítenek a filmről, amely az előzőleg megfestett és lefényképezett kromoszómapreparátum tetején helyezkedik el. Ily módon az ezüstszemcsék megjelenési helye bizonyos sávokhoz rendelhető, s meghatározható a gén lokalizációja. A módszert nagy példányszámú génekre fejlesztették ki, melyek intenzív radioaktív jelet adnak. Így lokalizálták az rRNS géneket az öt akrocentrikus kromoszóma rövid karjára. Tökéletesítés után a technika egyedi szekvenciák ill. gének kimutatására is alkalmassá vált. A módszer modernebb változata a *fluoreszcens in situ hibridizáció* (FISH),[36] melyben a próba fluoreszcens jelölést tartalmaz, és hibridizáció után a kép fluoreszcens mikroszkóppal fényképezhető, ill. számítógépes képanalízissel értékelhető.

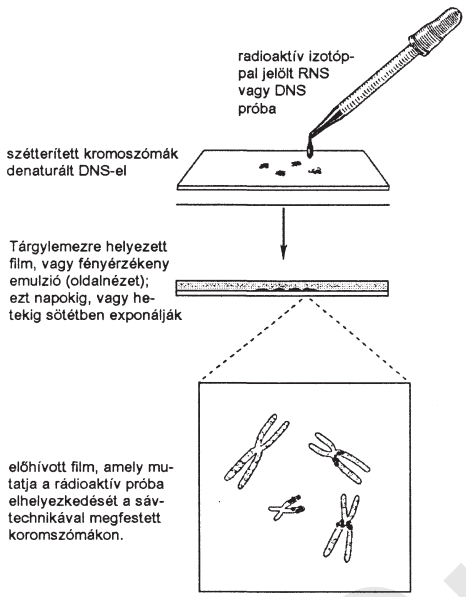
Még érzékenyebb, ezért egyedi szekvenciák kimutatására alkalmasabb az ***in situ* PCR**, amelynek lényege, hogy a polimeráz láncreakciót el lehet végezni kromoszómákat vagy sejteket hordozó tárgylemezen.

A sejteket fehérjebontó enzimmel kezelik, ami átjárhatóvá teszi a sejtmembránt és a templáthoz (DNS-hez vagy RNS-hez) kötődő fehérjéket is emészti. Így a permeabilizált sejtbe bejutnak a PCR reakció komponensei, a hőrezisztens DNS polimeráz, a primerek és nukleotidok. A keletkezett amplifikált szekvencia kimutatása többféleképpen is lehetséges: (*1*) Biotinált nukleotidok jelenlétében a DNS szintézis során azok beépülnek a DNS-be. A biotinált DNS-hez streptavidinnel konjugált enzimet (pl. alkalikus foszfatázt) kötnek, mely a megfelelő szubsztrátból színes, oldhatatlan végterméket hoz létre. (*2*) Az amplifikált szekvenciát *in situ* hibridizációval is ki lehet mutatni. Lehetséges a DNS digoxigeninnel és különböző fluoreszkáló kromoforokkal való jelölése is.

---

[35] Mikroszkópi fényképfelvétel

[36] Ma általános törekvés, hogy a veszélyes, ill. környezeti sugárterhelést jelentő radioaktív izotópokat alkalmazó laboratóriumi eljárásokat veszélytelen (gyakran gyorsabb és/vagy érzékenyebb) technikákkal váltsák fel.



18.24. ábra. *In situ hibridizáció radioaktív próbával.* Részleteket l. a szövegben.

A GENETIKAI ANYAG TÉRKÉPEZÉSE

A genetikusok ma több szinten kutatják a kromoszómák szerveződését, ami tükröződik abban, hogy többféle térképet konstruálnak. A legrégebbi, tradícionális térképek a *citológiai* és *genetikai térképek*. Citológiai szinten (fénymikroszkópot használva) a sávmintázat ad lehetőséget a térképkészítésre, emellett a transzlokációs törés-pontok és más kromoszóma-rendellenességek szolgáltatnak támpontokat. A genetikai térképek gének közötti távolságait úgy mérik, hogy kettős heterozigóták esetén megállapítják az utódok között a rekombináció százalékos arányát. A rekombináció alapja a meiózisban végbemenő crossing over. Az ember 23 kromoszóma-párjának genetikai térképe 3300 térképegység (cM) hosszúságú.

Molekuláris szinten a kutatók rekombináns DNS technikákat használnak a különböző DNS szakaszok, gének, v. gének közötti régiók izolálására és analízisére. A távolságot bp-ban ill. kbp-ban mérik. A haploid humán genom hossza kb. 3 milliárd bp. Ebből kiszámítható, hogy egy genetikai térképegység hozzávetőlegesen egymillió bázispárnak felel meg.

A különféle térképek – nagy vonalakban – összevethetők. A gének mindig ugyanabban a sorrendben helyezkednek el a kromoszómán, de a távolságok nem mindig felelnek meg egymásnak a különböző térképeken. Így pl. *Drosophila* esetén mikroszkóppal mért egyenlő kromoszomális távolságok különbözőek lehetnek a genetikai térképen. Ha a humán kromoszómák egyes részein „forró pontok" lennének, ahol a crossing over az átlagosnál gyakrabban következik be," akkor ezen területek genetikai térképe relatíve hosszabb lenne, mint az a molekuláris vagy citológiai távolságok alapján várható. A térképtávolságok a nemtől is függhetnek. Mivel hím *Drosophila*-ban nem történik átkereszteződés, rekombinációs gyakoriság csak a megfelelő genetikai markerekkel rendelkező nőstények utódai között mérhető. Hasonló jelenség embernél is megfigyelhető: kettős heterozigóta nőknél a rekombináció útján mért térképtávolság 40-50%-kal nagyobb, mint férfiakban, holott a molekuláris távolság mindkét nemben azonos. Ez a különbség arra vezethető vissza, hogy a crossing over gyakoribb nőkben, mint férfiakban.

A molekuláris analízis két szinten történhet. A szekvencia meghatározás adja a legfinomabb felbontású információt. A teljes humán genom DNS szekvenciájának meg-

határozása volt a kitűzött cél, ami napjainkra (2002) csaknem teljesen megvalósult. Másrészt a szekvenciában kimutatott egyéni variációk egy-egy kilométerkő szerepét töltik be a genom „országútján", s a felfedezett új SNP-k, RFLP-k száma gyorsan nő. Ezek segítségével jelenleg is folyik a gének térképezése, az individuális és populációs különbségek katalogizálása, a szekvencia alapján megtalált, egyelőre csak feltételezett gének funkciójának keresése. A szekvencia-adatok alapján az emberi genomban kb. 30 ezer gén van. Ezek funkciójának megismerése még jónéhány évre munkát ad a kutatóknak.

A Humán Genom Program új kihívást jelent a genetikában: megteremtette annak az igényét, hogy egyes emberek, ill. egyes populációk közötti szekvencia-eltéréseket azonosítani és detektálni lehessen. Az új ismeretek eredményeként javulni fognak az öröklődő betegségek diagnosztikájának lehetőségei, és új utak nyíltak meg a betegségeket okozó gének izolálására és a komplex betegségek kialakulásának molekuláris szintű megértéséhez.

Az elsőnek felismert DNS marker az RFLP volt, ezt követte a tandem ismétlődések (STR), a legújabban pedig az egyetlen nukleotidnyi polimorfizmusok, az SNP-k felfedezése. Utóbbiaknak a legnagyobb a jelentősége, mivel ezek mindenütt megtalálhatók a genomban, nemcsak a gének közötti nem kódoló régiókban, hanem a géneken belül, az exonokban és az intronokban is.

A modern genetika egyik legfontosabb célja a multifaktoriálisan meghatározott (komplex) betegségek genetikai tényezőinek feltárása. A DNS-polimorfizmusok segítségével kapcsoltsági analízist végeznek annak kimutatására, hogy mely gének hajlamosítanak egy adott betegségre.[37] Ha találnak egy gént, amely gyaníthatóan oki összefüggésben áll a betegséggel, beteg és egészséges egyének DNS-ének összehasonításával próbálnak funkcionális alléleket azonosítani. Ilyenkor több száz markert kell összehasonlítani több száz egyén esetében. Hogy milyen bonyolultságú a feladat, azt jól érzékelteti az alábbi példa: Ha van mondjuk 12 gén, amelyek egy bizonyos betegségre hajlamosítanak, s mindegyiküknek csak két allélje van, a lehetséges genotípusok száma 3^{12}, ami meghaladja a félmilliót. (Mindegyik génre nézve 3 genotípus lehetséges, 2 homo- és 1 heterozigóta.)

A genetikai polimorfizmus egy másik megnyilvánulása a várttól, átlagostól eltérő gyógyszerhatás. A gyógyszerek metabolizmusának genetikai polimorfizmusával a farmakogenetika (l. 6. fejezet), ill. az abból kifejlődött farmakogenomika foglalkozik. Ma már egy új gyógyszer klinikai kipróbálása előtt a gyógyszergyárak megvizsgálják a populáció genetikai polimorfizmusát, annak igazolására, hogy a kívánatos gyógyszerhatás valóban a populáció túlnyomó többségére jellemzően reprezentatív-e. Ezen vizsgálatokban a DNS-markereknek központi szerepe van.

---

[37] Az így azonosított, egy bizonyos poligénes jelleg meghatározásában szerepet játszó lokuszokat illetik a QTL (*Quantitaive Trait Locus*) megjelöléssel.

Nagyszámú DNS-polimorfizmus vizsgálata populációkban csak automatizált eljárásokkal elképzelhető. Erre nyújt lehetőséget egyrészt a DNS-chip technológia (l. fentebb), újabban pedig a tömeg-spektrometria módszere.

Utóbbira példa a PROBE[38] módszer, melyben először PCR-rel felszaporítják a vizsgálandó szekvenciát, szilárd fázisú hordozóhoz kötik, majd denaturálják a PCR terméket, úgy, hogy csak az egyik szál marad kötve. Ezután a polimorf hely közelében kötődő primert használva DNS polimerázzal másolatot készítenek. Tegyük fel, hogy egy GC⇒AT polimorfizmusról van szó. Ha a reakcióközegbe didezoxicitidin-trifoszfárot (ddCTP) tesznek, ez GC pár esetén láncterminációt okoz, de ha AT pár van az adott pozícióban, akkor a szintézis továbbhalad, és csak a következő citozinnál áll le. Így a két allélnek 2 különböző méretű egyszálú DNS felel meg. (Heterozigótában mindkettő kimutatható.) Denaturációval a keletkezett DNS szálakat leválasztják a hordozóról és tömeg-spektrometriával elkülönítik. Ehhez elég, ha egy nukleotidnyi a hosszúságkülönbség köztük.

Génbevitel emlős sejtekbe. Transzgénikus állatok. Génterápia.

GÉNBEVITEL EMLŐS SEJTEKBE

Míg a baktériumok genetikai transzformációja már a múlt század első felében lehetségessé vált, a magasabbrendűek sejtjeinek genetikai átalakítását a rekombináns DNS technikák térhódítása tette lehetővé. Mára már a génbeviteli technikák rutin laboratóriumi eljárássá váltak mint az emlős génaktivitás tanulmányozásának eszközei. A tanulmányozni kívánt gént először klónozzák, a gén DNS-szekvenciájában tervszerű változtatásokat (pl. mutációkat) hoznak létre, majd az így átalakított gént visszajuttatják az eredeti sejtbe, v. szervezetbe, hogy megvizsgálják annak működését. Sokáig a megbízható génbeviteli technikák hiánya képezte a fejlődés gátját. Olyan metodikákat kellett kifejleszteni, melyek képessé tették a sejtet idegen DNS felvételére, mellyel szemben évmilliók evolúciója hozott létre elháríthatatlannak látszó akadályokat.

A génbeviteli kísérletekhez olyan sejtekre volt szükség, melyeket – a mikroorganizmusokhoz hasonlóan – tenyésztőedényekben korlátlan ideig fenn lehet tartani. A normál szövetek sejtjeiből létrehozott primer sejttenyészetek meghatározott számú osztódás után elpusztulnak, ezért a génbeviteli kísérletekhez nem a legalkalmasabbak. Ezzel szemben a tumor eredetű ún. ***„halhatatlan" sejtvonalak*** tápfolyadékban gyorsan szaporodnak és

---

[38] *Primer Oligo Base Extension.*

könnyen fenntarthatók. Bár ezek daganatsejtek, alapvető funkcióik természetesen megegyeznek a normális sejtekével. Az emlős gének működéséről és regulációjáról ma rendelkezésre álló információ nagy része ezen „halhatatlan" sejtvonalakból származik.

A génbeviteli kísérletekben felhasznált genetikai anyag kezdetben, a rekombináns DNS korszak előtt, tisztított vírus DNS v. RNS volt. Később már klónozott emlős génekkel (pl. cDNS-sel) folyhattak a kísérletek. A tisztított vírus DNS-sel történő információátvitelt ***transzfekció***nak nevezzük, megkülönböztetve a természetes úton történő vírusfertőzéstől, az infekciótól. (A szakirodalomban a kifejezés annyira meggyökeresedett, hogy gyakran a klónozott gének bejuttatását is így nevezik.)

GÉNBEVITELI TECHNIKÁK

A sejtek védekeznek a behatoló idegen genetikai anyag ellen, ezeket a védekező mechanizmusokat kell megkerülni a sikeres génbevitelhez. Talán a legkönnyebben megérthető, de a legnehezebben kivitelezhető technika a ***mikroinjekció.*** A DNS-t egy rendkívül finom üvegkapillárissal közvetlenül a sejtmagba injektálják. Az eljárás hatásfoka igen jó, de hátránya, hogy csak korlátozott számú sejtet lehet így kezelni. Egyébként nem csak DNS-t, hanem RNS-t és fehérjét is be lehet ily módon a sejtbe juttatni.

A 70-es évek végén sikerült megoldani klónozott gének élesztősejtekbe történő transzformálását. Az élesztősejtek sejtfalát enzimkezeléssel eltávolítva ún. protoplasztokat állítottak elő. Ezek ***polietilénglikol*** (PEG) és Ca^{++} – kezelés hatására felvették az idegen DNS-t (egy klónozott élesztő gént), amely az élesztősejt mutációját képes volt komplementálni. Az egyik legrégebbi módszer a DNS bejuttatására a ***DEAE-dextrán*** (poliszaharidhoz kapcsolt dietil-aminoetil csoportok) volt. A pozitív töltésű DEAE-csoportok megkötik a negatív töltésű DNS-t. E nagy részecskék a sejtfelszínhez tapadnak, majd a sejt endocitózissal veszi fel őket. A DNS kis hányada elkerüli a lebontást, bejuthat a magba, s ott átíródhat. Ez kis hatásfokú, nem túlságosan megbízható módszernek bizonyult.

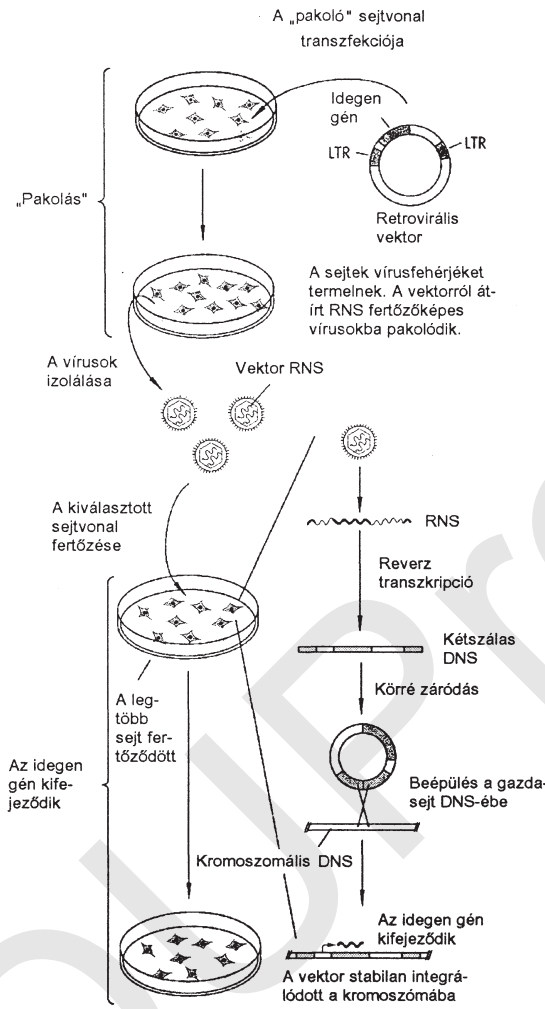
Az első módszer, ami a génbevitelt rutin eljárássá tette, a ***kalciumfoszfát koprecipitáció*** módszere volt. A módszer lényege, hogy a DNS-t foszfátpufferben oldják, majd $CaCl_2$-ot adnak hozzá. Ennek következtében finom kalciumfoszfát csapadék jön létre, amely a DNS-t is magába foglalja. A precipitátumot néhány óráig petricsészében növő sejtekkel inkubálják, melyek felveszik a DNS-t. Ezzel a technikával mutatták ki pl., hogy tisztított tumor-vírus DNS-sel normál sejteket daganatos sejtekké lehet átalakítani.

A rekombináns DNS korszak még újabb génbeviteli módszereket produkált. Ezek egyike az ***elektroporáció***, melynek lényege, hogy a DNS-t és a sejteket egy speciális küvettában összekeverik. A küvettába beépített elektródokon keresztül egy rövid ideig tartó elektromos impulzust bocsátanak át a sejtszuszpenzión, melynek hatására a sejtek membránján átmenetileg „lyukak" képződnek. Ezeken keresztül a DNS közvetlenül bejuthat a citoplazmába, elkerülve az endocitotikus vezikulumokat. Egy másik módszer a DNS molekulákat mesterségesen létrehozott lipid vezikulumokba, ***liposzómák***ba csomagolja, melyek összeolvadva a sejtmembránnal, tartalmukat a citoplazmába ürítik.

RETROVIRÁLIS VEKTOROK

A sejtbe történő DNS-bejuttatásnak igen hatásos módszere a vírus vektorok alkalmazása. A litikus vírusok nem a legalkalmasabbak új, stabilan öröklődő gén bevitelére, mivel ezek megölik a sejtet. Erre a feladatra legalkalmasabbak a retrovírusok felhasználásával kialakított ***retrovirális vektorok***. Ezek RNS vírusok, RNS genomjukat a sejtben saját reverz transzkriptázuk DNS-re írja át. Ez a vírus DNS integrálódik a gazda-genomba és stabilan öröklődik. Az integrált *provírus* végén elhelyezkedő ***LTR*** (*Long Terminal Repeat*) régióban levő promoterről átíródik, vírus-RNS-t szintetizál, ami egyaránt funkcionálhat mRNS-ként és új vírusok genomjaként. A vírusok a citoplazmában szerelődnek össze, és a sejtmembrán bimbózásával kerülnek ki a sejtből. Ha idegen gént építünk a retrovírusba, annak saját génjei helyére, az állandóan működni fog a sejtben. Gyakorlatilag mindenfajta aktívan osztódó emlős sejttípus fertőzhető velük, ebben rejlik sokoldalú felhasználhatóságuk. Onkogéneket v. tumor szupresszor gének hatásait lehet pl. kitűnően tanulmányozni segítségükkel. Onkogént tartalmazó retrovírussal fertőzve humán sejteket, *in vitro* fenntartható (halhatatlan, l. fentebb) sejtvonalakat lehet nyerni, pl. idegsejtekből is. β-galaktozidáz gént tartalmazó retrovírussal jelölhetők élő állatok individuális sejtjei, így ezek utódai követhetők a fejlődés folyamán. Az enzimet tartalmazó sejtek ugyanis egy X-gal nevű szubsztrátot bontva kékre színeződnek. A retrovírusok sokoldalúságuk miatt felhasználhatók lesznek a génterápiában is (l. alább). Vektorként történő használatukat szemlélteti a 18.25. ábra.

DUPress



18.25. ábra. *Retrovirális vektor használata idegen gének expressziójára.* A gént, amit be akarnak juttatni, beépítik a vektorba, melyből hiányzik a legtöbb virális gén. A gén kifejeződését az LTR szekvenciában található erős promoter biztosítja. A rekombináns DNS molekulát transzfekcióval bejuttatják egy speciális „pakoló" sejtvonalba. Ez mutáns provírust hordoz, amely vírusfehérjéket tud termelni, de saját RNS-ét nem képes ezekbe bepakolni. Be tudja viszont pakolni a bejuttatott rekombináns vírusról átírt RNS-t. A „pakoló" sejtből kiszabaduló vírusok ezt a rekombináns genomot tartalmazzák. Ezekkel szinte bármely sejttípus fertőzhető, ami a vírusgenom integrációját és az idegen gén termékének szintézisét eredményezi.

DUPress

SZELEKCIÓS MARKEREK

A rekombináns DNS technológiában alapelv, hogy a rekombináns DNS-t hordozó gazdasejt azonosítására valamilyen biológiai markerre van szükség.

Baktériumoknál az antibiotikum-rezisztencia gének szerepelnek mint ilyen markerek. Emlős sejteknél az első szelekciós marker a herpes simplex vírus ***timidin kináz*** (TK) génje volt, amely komplementálni képes a timidin kinázra deficiens TK^- sejteket, így azok szaporodni képesek a hipoxantint aminopterint és timidint tartalmazó HAT médiumon (l. fentebb). A szelekciós marker gének jelentőségére mutat rá a következő kísérlet: A timidin kináz gént együtt transzformálták β-globin génnel TK^- sejtekbe a kalciumfoszfát koprecipitációs eljárást használva. A HAT médiumon csak azok a sejtek nőttek, melyek felvették a *TK* gént. A TK^+ sejtek telepeiből izolált DNS-t Southern hibridizációs kísérletben megvizsgálva, azok többségében kimutatható volt a β-globin gén is. A sejteknek csak kis hányada vett fel DNS-t, de azok amelyek így tettek, nagy mennyiséget vettek fel. A sejten kívül még különálló DNS szakaszok a sejten belül összekapcsolódtak (feltehetően DNS ligáz aktivitásnak köszönhetően), és beépültek a kromoszómába. Az integrálódott idegen DNS-komplexek mindkét génből több kópiát tartalmaztak. Bár a szelekció az egyik génre történt (a *TK*-ra), a sejtek majdnem mindig tartalmazták azt a gént is, amelyre nem történt szelekció. A jelenség neve ***kotranszfekció*** v. ***kotranszformáció***, s eszerint bármely gén bevihető emlős sejtbe, ha együtt viszik be egy szelektálható marker génnel. A *TK* használhatósága korlátozott, mivel csak TK^- sejteken működik. Szélesebb körben használhatók azok a markerek, melyek bármely sejttípuson működnek és domináns hatásúak. Ilyenek a *G418*- és a *hygromycin-rezisztencia* gének, melyek bakteriális eredetűek és antibiotikum-rezisztenciáért[39] felelősek.

A GÉNBEVITELI TECHNIKÁK FELHASZNÁLÁSA

A bejuttatott gén integrációja a genomba igen ritka esemény, 10^{-3}-10^{-4} gyakorisággal történik csak meg. Ezzel szemben transzfekció során a sejtek egy jelentős hányada – egyes kísérletekben fele – felveszi a DNS-t. A felvett DNS nem épül be a kromoszómába, de néhány napig fennmarad a sejtmagban, mielőtt lebomlana. Ez alatt az idő alatt a bejuttatott gén a sejt szabályozó fehérjéinek hatása alatt van. Az ilyen rendszerek, melyeket ***tranziens (átmeneti) expressziós rendszerek***nek nevezünk, felhasználhatók arra, hogy segítségükkel a bejuttatott DNS-en levő regulációs szignálokat vizsgáljuk. A vizsgált regulációs szignálokat egy ún. ***riporter gén*** elé építik be, melynek terméke egy könnyen mérhető enzim, pl. a chloramphenicol acetil-transzferáz (CAT), vagy pl. egy

[39] A G418 (aminoglükozid származék, újabb neve: geneticin) és a hygromycin azon ritka kivételek közé tartoznak az antibiotikumok között, melyek eukarióta sejtek szaporodását is gátolják, ezért a velük szemben rezisztenciát okozó gének szelekciós markerként szerepelhetnek.

fluoreszkáló jelző fehérje, a GFP[40]. Az enzimaktivitásból (ill. a flureszcenciából) következtetni lehet a regulációs szignálok aktiváló v. gátló hatására.

A tranziens expresszió másik fontos alkalmazása klónozott gén által kódolt fehérje v. RNS termeltetése a sejtben. Ehhez erős promotert és transzlációs iniciációs szignált tartalmazó ***expressziós vektor***t használnak. Egy eukarióta expressziós vektor jellemzőit foglalja össze a 18.26. ábra.

A génbeviteli technikák korlátait jelzi, hogy a sejt által felvett DNS gyakran elvész, s azokban a ritka esetekben is, amikor beépül a genomba, az integráció véletlenszerűen, többnyire nem homológ helyre történik. (Kivételt képez az élesztősejt, ahol az integráció általában homológ rekombinációval megy végbe.) Így egy aktív gén környezetébe való beépülés magas szintű génexpressziót eredményezhet, míg a genom „néma" régióiba való beépülés esetén egyáltalán nem kapunk génkifejeződést. Az említett technikákkal eleinte csak új információ bevitele volt megoldható, nem volt lehetséges a kívánt gén eltávolítása. Újabban viszont lehetővé vált az említett korlátozó tényezők kiküszöbölése.

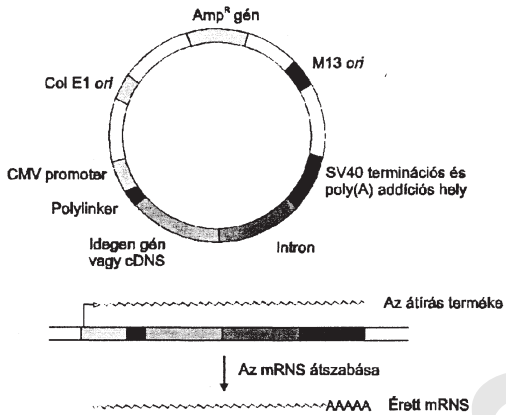
Az antiszensz technika. Egy sejten belül működő gén kikapcsolását teszi lehetővé az ***antiszensz technika***, amely az mRNS-t veszi célba. Az alapgondolat olyan RNS vagy egyszálú DNS bejuttatása a sejtbe, amely komplementere egy bizonyos mRNS-nek. Az antiszensz molekula bázispárokat képez az mRNS-sel és megakadályozza annak transzlációját. Az antiszensz RNS-t termeltetni lehet expressziós vektor segítségével, vagy rövid oligonukleotidokat lehet a sejtbe bejuttatni, melyek az AUG kodonhoz és környezetéhez hibridizálnak. Ez az ígéretes technika alkalmas pl. onkogének expressziójának csökkentésére ill. megakadályozására, így a daganatos sejtproliferáció gátlására és vírus-specifikus RNS-ek ellen, ily módon megvédve a sejtet a vírusfertőzéstől. Használják a technikát emberi betegségek modellezésére kísérleti állatban is. A mielin hüvely fő fehérjekomponensének szintézisét gátló antiszensz RNS-sel olyan egeret konstruáltak, mely egy emberi betegséghez (*sclerosis multiplex*) hasonló neurológiai tüneteket mutatott.

Újabban lehetségessé vált emlős sejtben is a bevitt és az endogén gén között homológ rekombinációt létrehozni, s ily módon célzottan inaktiválni bizonyos géneket. Mivel a homológ rekombinációval történő integráció emlős sejtben ritka esemény (miden 1000 heterológ beépülésre esik egy), a célzott génbevitelhez ezeket az eseményeket vagy fel kell dúsítani, vagy érzékeny detektálási módszereket kell használni azonosításukra. A homológ rekombinációs eseményre történő szelekciót demonstrál a 18.27. ábra. Az eljárás révén egy ép, funkcióképes gén helyére ugyanazon gén megszakított, inaktivált változatát lehet célzottan bevinni. A módszert a transzgénikus egér technikával kombinálva

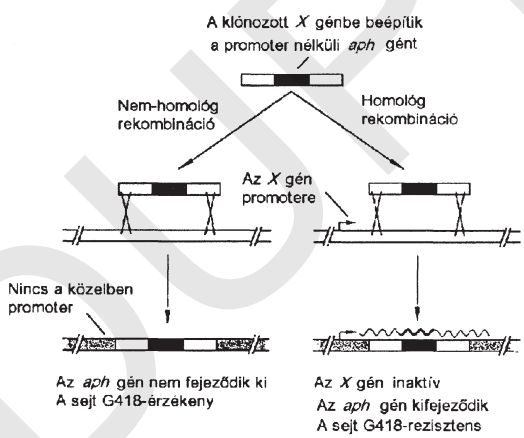
---

[40] *Green Fluorescent Protein.* A medúzában előforduló fehérje génje egy emlős szabályozó-expressziós szekvencia mögé kapcsolva, vagy fúziós génként kifejeződik. A zöld fluoreszcencia révén a fehérje pontos lokalizációja meghatározható.

(l. alább), elvileg bármely gén stabilan öröklődő mutációját elő lehet idézni egérben (***"knockout" egér***), ami nagy jelentőségű az embrionális fejlődés tanulmányozásában és az emberi öröklődő betegségek modellezésében.



18.26. ábra. *Emlős sejtben működő expressziós vektor.* A modern expressziós vektorokat több részből állítják össze, melyek együttesen tesznek ki egy funkcionális gént. Az ábrázolt vektoron van egy erős citomegalovírus (CMV) promoter, egy intron (egy globin génből) és egy polyA addíciós szignál (SV40 vírusból). A *polylinker* olyan restrikciós hasítóhelyeket hordoz, ahova az idegen gént be lehet építeni. A plazmid tartalmaz még *E. coli* replikációs origót (ColE1 ori) és ampicillin rezisztencia szelekciós markert[41] (Amp^R), továbbá M13 (fág) replikációs origót, amely a DNS egyfonalas formában való kinyerését teszi lehetővé. (Intronra azért van szükség, mert átszabás [*splicing*] esetén hatékonyabb lesz az mRNS nukleo-citoplazmatikus transzportja.)



18.27. ábra. *Példa célzott génbeépítésre homológ rekombinációval.* A klónozott (és promoter nélküli) génbe beépítik a G418-rezisztencia gént (*aph*: *aminoglucoside phosphotransferase*) ezáltal az inaktív lesz. A rezisztencia-génnek sincs saját promotere, és heterológ helyre való beépülésnél nem íródik át, a sejt antibiotikumra érzékeny marad. Homológ helyre való beépülésnél viszont az endogén gén promoteréről szintetizálódik mRNS, a sejt G418-rezisztens lesz, és hordozza a megszakított, inaktív gént.

[41] A bakteriális replikációs origó és szelekciós marker azért van a plazmidon, mert *E. coli*-ban könnyebb a fenntartása és elszaporítása.

GÉNBEVITEL EMLŐS SZERVEZETBE

A rekombináns DNS korszak magával hozta nemcsak a gének klónozását, de a klónozott gének állati szervezetbe való bejuttatásának lehetőségeit is. A magasabbrendűek közül az egér bizonyult erre a célra a legkönnyebben felhasználhatónak. Az állatba bevitt idegen gént ***transzgén***nek nevezzük, megkülönböztetendő a szervezet saját génjeitől. Az idegen géneket hordozó, genetikailag módosított állatokat pedig ***transzgénikus állatok***nak hívjuk[42]. A transzgénikus egér technika világszerte elterjedt laboratóriumi módszerré vált. Létrehozásukra több módszert használnak: (1) a mikroinjekciós technikát (2) retrovirális vektorokat és (3) embrionális őssejteket.

(*1*) A kísérlethez megtermékenyített petesejtet izolálnak nőstény egérből, v. sebészileg eltávolított petesejttel végeznek *in vitro* megtermékenyítést. A megtermékenyített petesejt sejtmagjába injektálják a DNS-t üveg mikrokapilláris segítségével. (Lineáris molekulákat célszerű használni, mivel ezek nagyobb valószínűséggel integrálódnak. Az idegen gén rendszerint több, tandem ismétlődő kópiában épül be egy nem homológ lokuszra.)

(*2*) A beágyazódás előtt álló embriót retrovirális vektorral fertőzve juttatnak be géneket.

A génbevitel a fejlődés elég korai fázisában történik ahhoz, hogy az embrióból kifejlődő egér ***csíravonal***ába is bekerüljön a transzgén, azaz a beépült idegen gént az állat stabilan tovább örökíti. Ugyanakkor az 1. generációs transzgénikus egér még genetikai ***mozaik***, keresztezéssel hoznak létre olyan állatokat, melyeknek minden sejtje hordozza a transzgént.

(*3*) Transzgénikus egér előállítása embrionális őssejtek felhasználásával. Mivel a megtermékenyített petesejtek injektálása nem könnyű technika, gyakran használnak embrionális őssejteket transzgénikus egér előállítására. A blasztociszta stádiumban levő 3,5 napos egér embrióból kinyert őssejtek (ES sejtek)[43] még omnipotensek, bármilyen sejttípus differenciálódhat belőlük, ugyanakkor *in vitro* tenyészthetők, így a génbeviteli technikák számára hozzáférhetőek. A genetikailag módosított ES sejtet vissza lehet ültetni egy másik egér embrióba (blasztocisztába), majd az embriót a nőstény állat méhébe. Az így kifejlődő egyed ***kiméra***, mivel két különböző zigótából származó sejtpopulációt tartalmaz. Ez külsőleg is megfigyelhető, ha a manipulált ES sejtek agouti (szürke) színű egértől származtak, a beültetésre használt blasztociszta pedig fekete színűből, a kiméra testfelülete agouti és fekete foltokat egyaránt fog tartalmazni. Ha a csíravonal sejtjei

---

[42] Természetesen léteznek transzgénikus növények is, ezekkel itt nem áll módunkban foglalkozni. Gazdasádi jelentőségük rendkívül nagy, ugyanakkor számos zöld-mozgalom támadásainak fő célpontjai.

[43] ES = *Embryonic stem.*

transzgénikussá váltak, a genetikai módosítást az állat tovább örökíti, s így a transzgénre heterozigóta, ill. homozigóta transzgénikus egér is előállítható keresztezésekkel.

A transzgénikus technikával bejuttatott gének közül meglepetésre a legtöbb ***szövetspecifikusan*** fejeződött ki. Ez azt jelenti, hogy a génekkel bejuttatott regulációs szekvenciák és szignálok lehetővé tették a gén normális transzkripcióját, a hnRNS érését és az mRNS transzlációját – abban a szövetben, ahol a géntermékre és funkciójára egyébként szükség van. Pl. a patkány elasztáz[44] génje kizárólag a transzgénikus egér hasnyálmirigyében fejeződött ki. Ehhez elegendő volt az 5′ regulációs szekvencia 200 nukleotidnyi szakasza. Ezzel szemben az egér albumin gén májban való kifejeződéséhez nélkülözhetetlen egy, a géntől 10 kb-nyira elhelyezkedő enhancer szekvencia. Ezen eredmények is demonstrálják, hogy a transzgénikus technika felhasználható a génműködést szabályozó szekvenciák azonosítására. Másrészt, emberből és más fajokból származó gének kifejeződése transzgénikus egérben azt mutatja, hogy a génregulációs szekvenciák emlősökben nagymértékben konzerváltak.

A TRANSZGÉNIKUS TECHNIKA ALKALMAZÁSAI

Ezek elsősorban a fejlődés tanulmányozásában nagy jelentőségűek. Ha egy szövetspecifikus kifejeződést biztosító regulációs szekvenciát egy toxin génje elé építenek be, lehetővé válik specifikus sejttípusok elölése és tanulmányozható az adott sejtek hiányának hatása a fejlődésre. Így pl. az elasztáz regulációs szekvenciáit a diftéria toxin génnel fúzionáltatva a toxin termelését a hasnyálmirigy exokrin sejtjeibe irányították. Az így kezelt transzgénikus egérben csökevényes hasnyálmirigy fejlődött ki, melynek nem volt exokrin funkciója.

A β-galaktozidáz[45] gént retrovirális vektorral be lehet juttatni az embrió bizonyos területeire, nyomon lehet követni, mely sejtek származnak a jelölt sejtekből. A β-galaktozidáz aktivitást egy X-gal nevű szubsztráttal mutatják ki, mely elhasítása után kék színű terméket ad.

A transzgén beépülése megszakíthat egy olyan gént, amely nélkülözhetetlen a normális fejlődéshez. A kialakuló fejlődési rendellenesség rávilágít a megszakított gén szerepére, jelentőségére az adott fejlődési folyamatban, továbbá a beépült transzgén segítségével lehetségessé válik a fejlődésben szerepet játszó gén klónozása.

---

[44] Fehérjebontó enzim.

[45] Az E. coli β-galaktozidáz génről van szó.

Homológ rekombinációval célzottan inaktiválni lehet géneket – sejttenyészetben (l. 18.27. ábra). Az inaktív gént tartalmazó sejteket injektálni lehet egér blasztocisztába. Így transzgénikus egér jön létre, mely továbbörökíti a génmegszakítást (l. fentebb). Tanulmányozni lehet az így létrehozott *null-mutáció* hatását a fejlődésre vagy más életfolyamatra. Ezt nevezik ***knockout egér*** technikának. (Így mutatták ki például, hogy a fő hisztokompatibilitási komplexbe (MHC) tartozó HLA molekulákhoz kapcsolódó fehérje [β_2-mikroglobulin] génjének megszakítása az embrionális fejlődésben nem okoz károsodást, a vírusfertőzéssel szembeni ellenállóképesség is megmarad, de a fertőzésekből való felgyógyulás zavart szenved.)

A transzgénikus egér technika jelentőségét aláhúzza, hogy segítségével emberi ***betegségek modellezése*** vált lehetségessé. Ennek nagy szerepe van a betegségek patomechanizmusának megismerése szempontjából és új terápiás eljárások kidolgozásában. Funkcióvesztéses (többnyire recesszív) mutációk okozta betegségek, pl. cisztikus fibrózis, β-talasszémia modellezése esetén az inaktivált gént hordozó homozigóta *knockout* egeret állítanak elő. Hasonlóan járnak el, ha tumorszupresszor gének (*p53, Rb,* l. 17. fejezet) célzott inaktiválásával a daganatképződést kívánják tanulmányozni. Funkciónyeréses (többnyire domináns) mutációk okozta betegségek modellezésénél elegendő egy mutáns génkópia bejuttatása, mint pl. a prion-protein mutációja okozta neurodegeneratív megbetegedés[46], vagy a spinocerebelláris ataxia[47] egér modelljének létrehozásánál. Ugyanebben a rendszerben protoonkogének *in vitro* mutagenezisével és bevitelével daganat modell tanulmányozható.

Az ún. háztartási gének (pl. a nukleotid- v. aminosavbioszintézis génjeinek) nullmutációi többnyire letálisak. Ugyanakkor ma már pontmutációval megváltoztatott gének bejuttatása és vizsgálata is lehetséges. Az eljárás végeredménye, hogy csak a kívánt módon megváltoztatott szekvencia marad benn a genomban, a bejuttatásra használt vektor és a vad típusú szekvencia kivágódik.

Ha a gén-inaktiválás inkompatibilis a normális fejlődéssel, a transzgénikus egér nem születik meg, így nem tanulmányozható. Ma már e probléma megkerülésére is van lehetőség. A P1 fág *Cre* rekombináza két tandem elhelyezkedésű *loxP* szekvencia között rekombináció révén kiejti a két szekvencia közötti DNS fragmentumot, vagyis deléciót okoz. A *loxP* szekvencia két példányát beépítik az inaktiválni kívánt génbe és transzgénikus egeret konstruálnak. A *Cre* rekombináz gént szövetspecifikusan működő promoter mögé ültetik be egy másik transzgénikus egérben. A két egeret keresztezik. Az utódokban a szövetspecifikusan kifejeződő *Cre* rekombináz a kívánt gén delécióját okozza, de csak a kifejlett egérben és a kívánt szövetben. Így a gén hiányának hatása vizsgálható.

---

[46] Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS) szindróma.

[47] Neurodegeneratív megbetegedés, melyet az ataxin génben létrejövő triplet-expanziós mutáció okoz.

GÉNTERÁPIA, LEHETŐSÉGEK ÉS PERSPEKTÍVÁK

A több mint 3000 örökletes emberi betegség közül csak néhány esetben van lehetőség kezelésre, ill. érdemi beavatkozásra. Ezen lehetőségek egyike a ***fiziológiai terápia***. Ez feltételezi a betegség pathofiziológiájának ismeretét, s ennek alapján alkalmaz valamilyen kezelést, viszonylag egyszerű, tradícionális eszközökkel. Ilyen pl. már megismert *fenilketonuria* esetén a fenilalanin-szegény diéta, vagy a cisztikus fibrózisban a masszív felső légúti váladék oldására alkalmazott enzim[48], vagy a bélcsatorna emésztő enzimeinek pótlása. Ha az öröklődő betegség oka egy extracellulárisan ható fehérje (pl. hormon, v. alvadási faktor) hiánya, abban az esetben a fehérje pótlása lehetséges a véráramba juttatással. Ezt nevezzük ***protein terápiá***nak. Ezt az elvet alkalmazzák a hemofilia, cukorbetegség, vagy pl. örökletes növekedési hormon-hiány (törpeség) esetén.[49] A legtöbb öröklődő betegségnél a hiányzó vagy defektív géntermék kívülről nem pótolható olyan módon, mint pl. az inzulin cukorbetegség esetén. Mivel a sejtmembrán nem átjárható fehérjemolekulák számára, az enzimeknek azokban a sejtekben kell szintetizálódniuk, melyekben szükség van aktivitásukra. Ezért az öröklődő betegségek kezelésére a szomatikus sejtek ***génterápiá***ja nyújt ígéretes és reális lehetőséget a nem túl távoli jövőben.

A génterápia azon gyógyítási, ill. kezelési stratégiákat foglalja magába, melyek során géneket, azok fragmentumait, vagy oligonukleotidokat juttatnak be a beteg sejtjeibe. Az öröklődő betegségek mellett a fertőző betegségek, a malignus daganatok és az immunrendszer megbetegedései is potenciális célpontjai a génterápiás eljárásoknak.

A szomatikus sejtek génterápiájának ún. *ex vivo* módszere három fontos lépést foglal magába:

(*1*) Sejtek kinyerése a beteg szervezetéből.

(*2*) A defektív gén funkcióképes változatának bejuttatása a sejtekbe.

(*3*) A transzgénikus sejtek visszajuttatása a beteg szervezetébe.

Az *in vivo* módszernél az idegen gén bejuttatása közvetlenül az érintett szövetbe történik.

A klasszikus értelemben vett génterápiához feltétlenül szükséges, hogy képesek legyünk a klónozott gént jó hatásfokkal bejuttatni a beteg sejtjeibe, úgy, hogy annak

---

[48] DNáz.

[49] A sikeres alkalmazás buktatója lehet, ha az illető fehérjét egyáltalán nem termeli a beteg szervezete, így a kívülről bevitt idegennek minősül az immunrendszer számára, ellene antitestek termelése indul meg. Ennek elkerülésére fontos a mielőbbi molekuláris diagnózis és a szubsztitúciós terápia igen korai beindítása már az 1-2 hónapos csecsemőknél.

magas szintű kifejeződése biztosítva legyen. Erre a célra általában mesterségesen konstruált cDNS-formájú „minigén"-t használnak, amelyet erős vírus-promoter és esetleg más regulációs szekvenciák kontrollja alá helyeznek. A bejuttatott gén sorsa alapvetően kétféle lehet: integrálódik a kromoszómába, v. extrakromoszomálisan helyezkedik el.

Fontos szem előtt tartani, hogy a genetikai változás csak a testi sejteket érinti, a csíravonal sejtjeit (azokat a sejteket, melyekből a gaméták képződnek) nem. Ily módon a szomatikus sejt génterápia olyan eljárásnak tekinthető, mely nem gyógyítja az öröklődő rendellenességet, hanem kezeli. A betegséget okozó gén tovább öröklődik. Az öröklődő betegségek kezelése tehát embernél mindig szomatikus sejt génterápiát jelent, a csíravonal génállományába történő beavatkozás etikai és morális okokból nem megengedhető[50].

A génterápia több különböző elv alapján gyakorolható. Ezek egyike a ***gén-augmentációs terápia*** (GAT). Funkcióvesztéses (többnyire recesszív) mutációk okozta betegségeknél a funkcióképes génkópia bevitele korrigálja a mutáns fenotípust, mivel megemeli a normális sejtfunkciókhoz szükséges géntermék szintjét.

A GAT első alkalmazása az adenozin dezamináz (ADA) deficiencia kezelése volt retrovirális vektorokkal, amit fentebb ismertettünk (l. 8. fejezet) Hasonlóan, klinikai kísérletek történtek a familiáris hiperkoleszterinémia gyógyítására is. Ismert, hogy ezt a (dominánsan öröklődő) kórképet az LDL-receptor (*LDLR*) génjében bekövetkezett mutáció okozza. Korábbi állatkísérletekből már tudták, hogy a gén retrovírus vektorral bejuttatható *in vitro* tenyésztett májsejtekbe (hepatocitákba) ezek pedig a portalis keringésbe injektálva visszavihetők a szervezetbe. A klinikai kísérlet során a betegből származó májsejteket tenyésztették, retrovirus-vektorral bevitték a gént, majd a sejteket a portális vénába sebészileg beépített kanülön keresztül visszajuttatták. A beteg LDL-szintje a kezelés hatására jelentősen csökkent.

Az első biztató lépéseket a génterápia felé a fenilketonuria korrekciója kapcsán tették meg. A fenilketonuriában szenvedő betegekből hiányzik az aktív fenilalanin-hidroxiláz (PAH) enzim. A jelenlegi gyakorlat alapján a gyermekkorban folytatott fenilalanin-szegény diétával megelőzhetők a súlyosabb következmények. A jövőben viszont a génterápia lehet az alternatív megoldás. Mind a PAH génjét, mind a cDNS-ét klónozták, ami megteremtette a génbeviteli kísérletek lehetőségét. Bonyolítja a helyzetet, hogy a PAH csak a májban szintetizálódik, s a működéséhez szükséges kofaktor is csak itt termelődik. Ezért a hiány korrigálásához a PAH gént májsejtekben kell kifejeztetni. Amerikai kutatóknak sikerült kimutatni a humán PAH gén kifejeződését egér hepatociták primer sejtvonalában. A kísérletben retrovirális vektorral jutatták be a gént, amely elé még két fontos regulációs szekvenciát kellett beépíteni. Az egyik ezek közül az SV40 vírusból származó promoter, a másik pedig a humán α_1-antitripszin gén regulációs szekvenciája. Utóbbi biztosítja a szövetspecifikus kifejeződést hepatocitákban, mivel ez a gén magas

[50] A szomatikus sejt génterápia ugyan genetikai beavatkozás, de eredménye nem öröklődik, hatása a betegre korlátozódik, a szövet- vagy szervátültetéshez hasonlítható. A csíravonal sejtjeibe történő beavatkozás viszont öröklődne. Jelenlegi felfogásunk nem enged meg olyan beavatkozást, amely az utódokban genetikai változásokat okoz, akármennyire is a jó szándék vezérli az orvost.

szintű expressziót mutat a májban. A humán PAH gén kifejeződése a primer májsejtkultúrában biztató eredmény, amely megteremti az alapot a génterápiát célzó további kísérletekhez. Ugyanide sorolhatók mindazok a kísérletek, melyekben *in vitro* tenyésztett emberi és állati sejtek különböző defektusait tudták korrigálni a bevitt génekkel (18.3. táblázat).

18.3. táblázat. *Emberi öröklődő betegségek korrekciója sejttenyészetben*

BETEGSÉG	MEGHIBÁSODOTT GÉNTERMÉK	SEJTTÍPUS
Lesch-Nyhan szindróma	Hipoxantin foszforibozil-transzferáz (HPRT)	Humán $HPRT^-$ sejtek
Kombinált immundeficiencia	Adenozin dezamináz (ADA)	Humán ADA^- hámsejtek, fibroblasztok, T és B sejtek
Kombinált immundeficiencia	Purin nukleozid foszforiláz (PNP)	Humán PNP^- bőr fibroblasztok
Gaucher betegség	Glükocerebrozidáz (GC)	Humán GC^- bőr fibroblasztok, csontvelő
Emphysema (tüdőtágulás)	α_1 –antitripszin	Humán májsejtek
Törpenövés	Növekedési hormon	Humán hámsejtek
Familiáris hiperkoleszterinémia (modell)	LDL receptor	Hiperlipidémiás nyulak fibroblasztjai, hepatociták
Fenilketonuria	Fenilananin hidroxiláz	Egér hepatoma sejtek
Citrullinémia	Argininoszukcinát szintetáz	Egér fibroblasztok
Talasszémia	β-globin	Egér fibroblasztok, egér eritroleukémia sejtek
Hemofilia B (modell)	IX. faktor	Hemofíliás kutya fibroblasztjai
Cisztikus fibrózis (CF)	Klorid-csatorna protein	CF beteg légúti hámsejtjei

A recesszíven öröklődő cisztikus fibrózis esetében kimutatták, hogy egy klorid-csatorna fehérje mutáns, s ennek következménye, hogy az emésztőmirigyek valamint a légutak hámja abnormálisan sűrű váladékot termel, s ez okozza a klinikai tüneteket. Cisztikus fibrózisban szenvedő beteg légúti hámsejtjeiből készített sejtvonalat fertőztek olyan retrovirális vektorral, mely hordozza a funkcióképes klorid-csatorna protein génjét. A vektort tartalmazó sejtek, melyeket antibiotikum-rezisztencia alapján szelektáltak, szintetizálták a gén által kódolt mRNS-t és sejtmembránjukon kloridionok átáramlását tudták kimutatni. Az említett retrovirális vektorokon kívül az *adenovírus* vektorokat is használják génterápiás kísérletekben.

DUPress

A duplaszálú DNS-t tartalmazó adenovírus a légúti hámsejtek iránt a legnagyobb affinitású, de más sejtféleségeket is képes fertőzni. Az idegen gént a replikációért és génexpresszióért felelős (E1A) régióba építik be, s a replikációban deficiens vírusokat olyan sejtvonalon szaporítják el, mely pótolja a hiányzó E1A géntermeket. A sejtek szétesése után kinyert rekombináns vírusokat tisztítják, s hatékonyan tudnak velük fertőzni osztódó és nem osztódó sejteket egyaránt. Hátrányuk, hogy mivel nem integrálódnak a gazdasejt kromoszomális DNS-ébe, lassan elvesznek a megfertőzött sejtekből. Légúti hámsejtek iránti affinitásuk miatt a cisztikus fibrózis kezelését célzó klinikai kísérletekben már használták ezt a vektortípust. Bevitele az orrüregbe, vagy bronchoszkóp segítségével az alsó légutakba történt. A nazális hámba való génbevitelt igazolták, kevés az információ a pulmonális géntranszfer hatásfokáról. Nemkívánatos mellékhatás is lehetséges: a nagy dózisú adenovírus vektor tüdőgyulladás okozhat. Mellékhatás nélküli, de alacsony hatásfokú a liposzómákkal történő génbevitel.

A génterápiához felhasználható sejtek közül legfontosabbak a csontvelő vérképző őssejtjei, a fibroblasztok, a hepatociták és a T limfociták. A vérképző őssejtek használatának előnye, hogy a csontvelő nyerése és infúzióban való visszaadása kidolgozott technika, s a génbevitel sikere esetén állandó megoldást jelent, hátránya viszont, hogy nehéz magas expressziós szinet elérni. Bőrből könnyű kinyerni és retrovirális vektorral fertőzni a fibroblasztokat, visszaültetésük azonban nincs megoldva. Hasonló a helyzet a hepatociták esetén.

Főleg daganatos megbetegedések géntrerápiás kezelésében használatos megközelítés a ***gyógyszer-érzékenység fokozó gének bevitele.***

Ennek lényegét legjobban egy példán keresztül tudjuk megvilágítani. A *glioblasoma multiforme* (agydaganat) kezelésében a következő metodikát dolgozták ki: A daganatba ún. stereotaxiás készülék és képalkotó eljárások segítségével vektor-termelő sejteket juttattak be, melyek timidin kináz (*TK*) gént tartalmazó rekombináns retrovírus részecskéket termeltek. Ezekről tudnunk kell, hogy csak az osztódó daganatsejteket képesek megfertőzni, a nem osztódó egészséges sejteket nem. A daganatsejtbe való bejutás után kifejeződik a *TK* gén. Ha gyógyszerként gancyclovirt – egy timidin analógot – alkalmaznak, ezt a timidin kináz foszforilálja, további enzimek trifoszfáttá alakítják, ez pedig a DNS polimeráz potens inhibitora. Ily módon szelektíven lehet gátolni a tumorsejtek szaporodását, nem károsítva a környező nem osztódó sejteket. Azok a tumorsejtek is gátlást szenvedhetnek, melyek nem vettek fel *TK* gént, mivel szomszédaiktól átkerül hozzájuk a gancyclovir-trifoszfát a réskapcsolatokon (*gap junction*) keresztül.

Más génterápiás eljárások az immunapparátus közreműködésével hatnak. Pl. ha a daganatsejtbe idegen HLA antigén génjét juttatják be, az a daganatsejtre specifikus immunválaszt vált ki.

A tumor-infiltráló limfociták (TIL) a T limfociták egyik természetes populációját alkotják, melyek megtalálják és infiltrálják a daganatot. A beteg saját limfocitáiba tumor nekrózis faktor (TNF) génjét ültették be, és bejuttatták a szervezetébe. A TIL sejtek eljuttatták a daganatba a tumorsejt-ölő aktivitású fehérjemolekulákat, így sikerült egy áttéteket képező melanoma (pigmentsejt-daganat) terjedését, ill. növekedését megállítani.

A génterápiás erőfeszítések egy másik csoportja a nem kívánt ***génexpresszió célzott gátlásá***t akarja elérni. Ennek egyik módja a már említett **antiszensz technika** (l. fentebb), a ***tripla-hélix képző oligonukleotidok***, v. ***ribozimok*** alkalmazása.

Ha a DNS-ben van egy olyan szekvenciarészlet, melynek egyik szálát csak purinok alkotják, ehhez tervezhető egy olyan oligonukleotid, melyben a láncban levő adinenkhez timin, guaninokhoz guanin kapcsolódik ún. Hoogsteen-féle hidrogénkötésekkel:

Oligonukleotid:	3′ T-G-G-T-G-T-T-G-G 5′
DNS	5′ A-G-G-A-G-A-A-G-G 3′
dupla hélix:	3′ T-C-C-T-C-T-T-C-C 5′

Az így kapcsolódó oligonukleotid interferál a transzkripciós faktorok kötődésével és magával a gén-specifikus transzkripcióval intakt sejtekben.

A génkifejeződés gátlása lehetséges pl. ribozimok alkalmazásával. Az ún. kalapácsfej-ribozim (l. 12. fejezet) képes RNS molekulák elhasítására egy GUC triplet után, ha az előtte és utána elhelyezkedő szekvenciák az enzim és a szubsztrát RNS szálban komplementerek. Megfelelően megtervezett ribozimot kódoló gént bejuttatva a sejten belül specifikusan ki lehet iktatni egy onkogén v. egy fertőző ágens génjeinek kifejeződését.

Összefoglalás

(*1*) Különböző fajokból származó DNS fragmentumok összekapcsolhatók egyetlen rekombináns DNS molekulává. Ebben az első lépés a DNS helyspecifikus hasítása restrikciós enzimmel. Amennyiben a DNS fragmentum összekapcsolása egy *E. coli* plazmiddal történik, a beültetett DNS fragmentum tetszőleges mennyiségben felszaporítható.

(*2*) A szomatosztatin, inzulin, növekedési hormon, véralvadási faktorok és más, terápiás és egyéb célra használt polipeptidek/fehérjék génjei *E. coli* plazmidba klónozhatók és szintézisük a bakteriális gazdában megvalósítható.

(*3*) A DNS molekulák illetve restrikciós enzimmel előállított fragmentumaik elektroforézissel méretük szerint elválaszthatók, s az egyes fragmentumok mérete is meghatározható. Különböző restrikciós enzimekkel elvégezve ezt az analízist, az egyes DNS molekulák restrikciós (fizikai) térképe megszerkeszthető.

(*4*) A DNS molekula bázissorrendje is meghatározható. Sanger módszere a bázisanalóg didezoxi nukleotidokat használja az újonnan szintetizálódó lánc szintézisének véletlenszerű terminálására, s ezzel az összes lehetséges méretű fragmentum előállítá-

PUPress

ra. Ezek elektroforézissel történő elválasztása lehetővé teszi a nukleotidsorrend közvetlen leolvasását.

(*5*) Az utóbbi években ún. genom projektek keretében több élőlény (nem utolsó sorban az ember) teljes genom szekvenciáját meghatározták és analizálták. Ezek a szekvenciák adatbázisokban rendelkezésre állnak (pl. az interneten elérhetők).

(*6*) A DNS chipek segítségével lehetőségünk nyílt sok gén kifejeződésének egyidejű tanulmányozására.

(*7*) Az egyes fajok által termelt összes fehérje alkotja azok proteomját. A proteom individuális fehérjéi ma már ugyancsak azonosíthatók.

(*8*) A humán genom ugyancsak feldarabolható restrikciós enzimekkel, és a fragmentumok beültethetők, pl. lambda fág vektorba. 20 kbp átlagos inszertmérettel számolva, 1 millió klón a teljes humán genomot reprezentálja. Ezt nevezzük genomiális génkönyvtárnak. Egyetlen kromoszóma DNS-ét tartalmazó, vagy egyetlen sejttípusban kifejeződő géneket tartalmazó klóntárak is készíthetők.

(*9*) A klóntár bármely génje azonosítható és izolálható, amennyiben radioaktív vagy más módszerrel jelölt, az izolálni kívánt génnel komplementer egyszálú DNS (vagy oligonukleotid) próbával rendelkezünk.

(*10*) A Southern blot során az elektroforézissel elválasztott DNS fragmentumokat nitrocellulóz, vagy más (pl. nylon alapú) membránhoz kötjük, s ezen hibridizáljuk a megfelelő próbával. Ezzel a technikával vizsgálták például a színlátásért felelős géneket. Kimutatták, hogy a zöld szinlátásért felelős gének bizonyos emberekben több példányban is megtalálhatók, ami valószinűleg közel azonos gének közötti egyenlőtlen crossing over következménye.

(*11*) Az SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) egyetlen nukleotid különbséget jelent a DNS szekvencia meghatározott helyén. Azt az SNP-t amely megszüntet egy restrikciós hasítóhelyet, restrikciós fragmentum-hossz polimorfizmusnak (RFLP) nevezzük. Ily módon annak alapján, hogy egy bizonyos restrikciós felismerőhely hasítható vagy nem hasítható, különböző alléleket lehet azonosítani Southern hibridizációval.

(*12*) A Huntington chorea *lokusza közelében* talált RFLP-hely segítséget ad a korai diagnózishoz és a genetikai tanácsadáshoz. Egy, a β-globin *génen belüli* RFLP-helyet ma már elterjedten használnak a sarlósejtes anémia prenatális diagnosztikájában.

(*13*) A tandem ismétlődő szekvenciák polimorfizmusának két válfaját különböztetjük meg: Ha az ismétlődő szekvencia 2-9 bp hosszúságú mikroszatellitának, 10 és 60 bp közötti méret esetén miniszatellitának v. VNTR-nek nevezik. Kimutatásuk történhet Southern-hibridizációval vagy polimeráz láncreakcióval.

(*14*) Repetitív szekvenciákkal homológ próbákkal végzik a DNS-fingerprinting technikát. Mivel a vizsgálati eredmény minden embernél különböző, ez az ujjlenyomat készítés molekuláris ekvivalense. A DNS vizsgálatok érzékenyebb változatához akár

egyetlen hajhagymából izolált DNS is elegendő, mivel a polimeráz láncreakció (PCR) segítségével egyetlen kiválasztott szekvencia akár milliószorosára felszaporítható.

(*15*) PCR segítségével kimutatható további polimorfizmusok az RAPD és az AFLP. A DNS polimorfizmusok közös jelentősége, hogy segítségükkel meg lehet állapítani öröklődő betegségeket okozó gének – örökletes kockázati tényezők – kromoszomális lokalizációját. Azok a polimorf markerek, melyek szorosan kapcsoltak egy betegséget okozó génnel, vele együtt öröklődnek nemzedékről nemzedékre, így kimutatásukkal jelezni lehet a kóros allél, vagy kockázati tényező jelenlétét.

(*16*) Emberi és állati (pl. egér-) sejtekből *in vitro* sejttenyészetben hibridsejteket lehet létrehozni, s az ún. HAT módszerrel szelektálni. A hibridsejtek további osztódásaik során fokozatosan veszítik humán kromoszómáikat, amíg csak egyetlen, vagy néhány humán kromoszóma marad a sejtmagban.

(*17*) A hibridsejteket fel lehet használni humán gének kromoszomális lokalizációjának meghatározására. A kérdéses gén terméke csak azokban a hibridsejtekben mutatható ki, melyekben megvan a gént hordozó humán kromoszóma is. Így a géntermék jelenléte vagy hiánya összefüggésbe hozható egy meghatározott kromoszóma jelenlétével vagy hiányával.

(*18*) Ha gén-specifikus próba áll rendelkezésünkre, Southern-hibridizációs kísérlettel a kérdéses gén jelenléte a hibridsejtben kimutatható, attól függetlenül, hogy a gén kifejeződik-e az adott sejtvonalban. A gén kromoszómán elfoglalt helyének közelebbi meghatározására fel lehet használni kromoszómák transzlokációit, deléciót, továbbá más molekuláris technikákat, mint az áramlási citometria, az *in situ* hibridizáció és *in situ* PCR.

(*19*) A baktériumtranszformáció megvalósulását követően génbeviteli technikák egész sorát dolgozták ki eukariótá, ill. emlős sejtekre is. A legismertebbek közülük a mikroinjekció, a polietilénglikolos kezelés, a kalciumfoszfát koprecipitáció, elektroporáció. A vírus DNS-sel történő információátvitelt nevezzük transzfekciónak, de ezt az elnevezést nem vírus-eredetű DNS esetén is használják.

(*20*) A sejtbe történő DNS-bejuttatásnak igen hatásos módszere a vírus vektorok alkalmazása, közülük erre a feladatra legalkalmasabbak a retrovirális vektorok. A gént, amit be akarnak juttani, beépítik a vektorba, amelyből hiányzik a legtöbb virális gén. A rekombináns DNS molekulát transzfekcióval bejuttatják egy speciális sejtvonalba, ami a róla átírt RNS-t fertőzőképes vírusrészecskékbe pakolja be. A speciális sejtvonalból kiszabaduló – nem kórokozó – rekombináns vírusokkal bármely osztódó sejttípus fertőzhető, ami a vírusgenom integrációját és az idegen gén termékének szintézisét eredményezi.

(*21*) A vektorral bevitt idegen gén sorsa kétféle lehet: *(i)* Nem épül be a kromoszómába, de néhány napig fennmarad a sejtmagban, ezalatt a géntermék szintetizálódik.

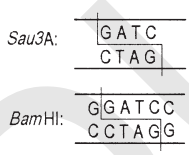
Ezt nevezzük tranziens (átmeneti) expressziónak. *(ii)* Integrálódik a genomba, az esetek többségében nem homológ helyre.

(*22*) Az idegen géneket hordozó, genetikailag átalakított állatokat transzgénikus állatoknak nevezzük. Létrehozásukra kétféle módszert használnak: *(i)* a mikroinjekciós technikát és *(ii)* retrovirális vektorokat. A beépült idegen gént az állat stabilan továbbörökíti. A bejuttatott gének közül a legtöbb szövetspecifikusan fejeződik ki.

(*23*) Homológ rekombinációval célzottan inaktiválni lehet géneket – sejttenyészetben. Az inaktív gént tartalmazó sejteket injektálni lehet egér blasztocisztába. Így transzgénikus egér jön létre, mely továbbörökíti a génmegszakítást. Ezt nevezik knockout egér technikának. A transzgénikus egér technika jelentőségét aláhúzza, hogy segítségével emberi betegségek modellezése vált lehetségessé.

(*24*) A génterápia azon gyógyítási, ill. kezelési stratégiákat foglalja magában, melyek során géneket, azok fragmentumait, vagy oligonukleotidokat juttatnak be a beteg sejtjeibe. Az öröklődő emberi betegségek kezelésére a szomatikus sejtek génterápiája nyújt reális lehetőséget a jövőben. A génterápia *ex vivo* módszere három lépést foglal magába: *(i)* Sejtek kinyerése a beteg szervezetéből. *(ii)* A defektív gén funkcióképes változatának bejuttatása a sejtbe. *(iii)* A transzgénikus sejtek visszajuttatása a beteg szervezetébe. Embernél a csíravonal génállományába történő beavatkozás etikai és morális okokból nem megengedhető.

Kérdések



(*1*) A *Sau*3A restrikciós enzim egy olyan 4 nukleotidból álló szekvenciát ismer fel, amely része a *Bam*HI enzim 6 nukleotidból álló felismerési szekvenciájának. Mivel mindkettő ugyanazt a 4 nukleotid hosszúságú ragadós véget hozza létre, ezen enzimekkel előállított DNS fragmentumok összekapcsolhatók. Az így létrejött "hibrid" helyen vajon hasítható-e a DNS molekula *Sau*3A vagy *Bam*HI enzimmel?

(*2*) Tételezzük fel, hogy egy DNS molekulában azonos valószínűséggel és véletlenszerű eloszlásban található a négy nukleotid. Ezt a molekulát egy 6 bázispár hosszúságú felismerő hellyel rendelkező restrikciós enzim milyen átlagos méretű fragmentumokra hasítja?

(*3*) Milyen lesz a fragmentumok átlagos hossza, ha a restrikciós enzim felismerési helye 4 vagy 8 bázispár hosszúságú?

DUPress

(*4*) Tételezzük fel, hogy egy DNS molekulában a restrikciós enzim felismerő helyek az alábbi eloszlásban találhatók:

E = *Eco*RI, H = *Hind*III

	E		H		E	
3kb	↓	6kb	↓	6kb	↓	7kb

Milyen méretű fragmentumok láthatók a gélen, ha a DNS-t *Eco*RI enzimmel, *Hind*III enzimmel, vagy mindkét enzimmel emésztjük?

(*5*) Egy lineáris DNS molekulát *Eco*RI, *Hind*III enzimekkel, vagy mindkettővel együttesen emésztve a következő méretű fragmentumokat kapjuk elektroforézis során:

*Eco*RI emésztés: 3 csík. Méretük: 3, 7 és 12 kb.

*Hind*III emésztés: 2 csík. Méretük: 9 és 13 kb.

Kettős emésztés: 4 csík. Méretük: 1, 2, 7 és 12 kb.

Szerkessze meg a DNS molekula restrikciós térképét az adott enzimekre!

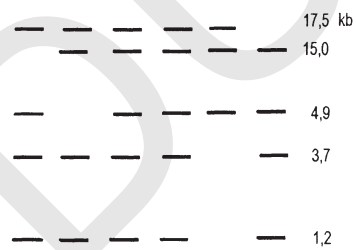
(*6*) A 18.7. ábráról olvassa le az 50. nukleotidtól az 59. nukleotidig tartó 10 nukleotid sorrendjét.

(*7*) pBR322 plazmidba klónoztunk egy 1 kb méretű humán DNS fragmentumot *Eco*RI enzim felhasználásával. A rekombináns plazmidot nagy mennyiségben előállítottuk. Hogyan lehet a humán DNS-t a plazmidtól elválasztani?

(*8*) Lambda fág vektorral 20 kb hosszúságú DNS fragmentumokat lehet klónozni. Egy 10^6 rekombináns fágot tartalmazó génkönyvtárban hányszor fordul elő a humán genomnak egy adott 20 kb-nyi darabja?

(*9*) A restrikciós felismerőhelyek mutációin kívül milyen más mutációs események vezethetnek a restrikciós fragmentum-hossz megváltozásához?

(*10*) Hogyan jellemezhető két RFLP allél viszonya: domináns/recesszív, intermedier, kodomináns vagy szuperdomináns?



(*11*) Az ábra alapján határozza meg, hogy az összes lehetséges heterozigótában milyen RFLP mintázatok várhatók, ha a G8 próbát használjuk detektálásra. Vegye figyelembe, hogy a *C* és *D* allélekben jelenlevő 2.5 kb fragmentum nem hibridizál a próbával, de az összes többi igen. Mely heterozigóták lesznek megkülönböztethetetlenek? Segítene-e a megkülönböztetésükben a 2.5 kb fragmentum láthatóvá tétele?

DUPress

(*12*) A Hemoglobin C betegségben a β-globin 6. aminosava, a glutaminsav, lizinre cserélődik, mivel a kodon első bázisa, a citozin, timinre mutált. (A mutáns allélra homozigóta egyének a sarlósejtes anémiára jellemzőknél enyhébb tüneteket mutatnak.) Lehet-e használni az *Mst*II-t a Hemoglobin C betegség diagnózisában? (Az *Mst*II felismerési szekvenciája GGANTCC, melyben N bármilyen bázis lehet.)

(*13*) Ha a hibridsejt technikával két gént ugyanazon kromoszómára lokalizálnak, hagyományos családfa-vizsgálattal *mindig* kapcsoltnak találjuk-e a szóban forgó géneket?

(*14*) Owerbach és munkatársai 15 ember-egér hibrid sejtvonalat vizsgált meg a humán inzulin génre specifikus próbával – Southern hibridizációs kísérletben. Az alábbi táblázatban hat sejtvonal adatai szerepelnek. Melyik kromoszómán van az inzulin génje?

Hibrid sejtvonal	Inzulin szekvencia kimutatható(+), v. nem (-)	Humán kromoszómák a hibridsejtben									
W-8	+	6	7	10	11	14	17	18	20	21	X
T-5	+	4	5	10	11	12	17	18	21		
D-5	+	3	5	11	14	15	17	18	21		
W-2	-	8	10	12	15	17	21	X			
T-2	-	2	5	6	10	12	18	20	21	X	
T-8	-	17	18	20							

(*15*) Lehetséges lenne-e humán gének kromoszomális lokalizációjának meghatározása akkor is, ha a humán-egér sejthibridek az egér kromoszómákat veszítenék?

(*16*) Az *Mst*II restrikciós endonukleáz felismerőhelye a β-globin gén 5., 6. és 7. aminosavát kódoló régióban van. A sarlósejtes anémia diagnózisa azért lehetséges, mert az *Mst*II nem ismeri fel a mutáns szekvenciát, amelyben a 6. kodonban levő T helyére A kerül. Akkor is működne-e ez a diagnosztikai módszer, ha az 5. és 6. aminosavat egy alternatív triplet kódolná? (l. a kodontáblázatot a 13. fejezetben.)

Válaszok

(*1*) A Sau3A enzim biztosan hasítja. A *Bam*HI csak akkor, ha az eredeti *Sau*3A helytől balra egy G-C bázispár volt (1/4 valószínűség).

DUPress

(*2*) $4^6 = 4096$ bp.

(*3*) $4^4 = 256$ bp, ill. $4^8 = 65536$ bp.

(*4*) *Eco*RI pálya: 3, 7 és 12 kb.
*Hind*III pálya: 9 és 13 kb.
Kettős emésztés: 3, 6 és 7 kb.

(*5*)

```
                    E  H E
        7kb         ↓2 ↓1↓                  12
```

(*6*) AGCTGTTTCC

(*7*) A rekombináns plazmidot *Eco*RI enzimmel kell emészteni. Az 1 kb humán DNS-t a plazmidtól (4,3 kb) gélelektroforézissel kell elválasztani, s az egyes DNS csíkok a gélből kivághatók és eluálhatók.

(*8*) Körülbelül hétszer. Ha a 3 millió kbp-nyi genomot 20 kbp hosszúságú fragmentumokra vágjuk, 150 ezer különböző DNS szakaszt kapunk. Ezeket építették be a 10^6 rekombináns fágba, tehát egy szekvencia várhatóan $10^6/1{,}5\text{x}10^5 = 6{,}66$ példányban van meg a génkönyvtárban.

(*9*) Ha a restrikciós felismerőhelyek között nukelotidok deléciója, vagy inszerciója megy végbe.

(*10*) Kodomináns, mivel a heterozigóta mutatja mindkét allélre (vagy mindkét fajta homozigótára) jellemző mintázatot.

(*11*)

A/B:	17,5	-	4,9	3,7	1,2
A/C:	17,5	15,0	-	3,7	1,2
A/D:	17,5	15,0	4,9	3,7	1,2
B/C:	17,5	15,0	4,9	3,7	1,2
B/D:	17,5	15,0	4,9	-	-
C/D:	-	15,0	4,9	3,7	1,2

Az *A/D* és *B/C* megkülönböztethetetlenek lesznek. Elkülönítésükben nem segít a 2,5 kb fragmentum, mivel mindkettőben megvan.

(*12*) Nem, mert az *Mst*II felismerőhely 4. pozíciójában bármilyen bázis szerepelhet, s éppen ezen a helyen történik a Hemoglobin C betegséget eredményező mutáció is. Így az enzim a normál és a mutáns szekvenciát egyaránt hasítja.

(*13*) Nem, mert az egy kromoszómán elhelyezkedő, de egymástól 50 térképegységnyire, vagy távolabb eső gének a rekombináció miatt ugyanúgy függetlenül öröklődnek, mintha külön kromoszómán lennének.

DUPress

(*14*) A 11. kromoszómán. Ez az egyetlen kromoszóma, mely megtalálható mindazokban a sejtvonalakban ahol inzulin szekvencia detektálható és hiányzik azokból melyekben a szekvencia nem mutatható ki.

(*15*) Nem, viszont ebben az esetben lehetséges lenne egér gének kromoszomális lokalizációjának meghatározása.

(*16*) Nem, mert az *Mst*II nem ismerné fel sem a normál, sem a mutáns szekvenciát.

DUPress

DUPress

19. FEJEZET

A POPULÁCIÓKKAL KAPCSOLATOS FOGALMAK

Genotípus-, fenotípus- és allélgyakoriságok

Az allél- és genotípus-gyakoriságok viszonya

Párválasztási gyakoriságok

Véletlen párválasztás
Véletlen párválasztásból származó utódok

A Hardy–Weinberg törvény

A bizonyítás
A Hardy–Weinberg törvény értelme
A genotípusgyakoriságok sorozata
A Hardy–Weinberg törvény egy másik bizonyítása

Néhány alkalmazás

Sarlósejtes allél amerikai feketék génállományában
Alkaptonúria és a dominancia problémája
AB0: egy háromalléles rendszer
X-hez kötött gének

Mendel törvényei alapján megmondhatjuk, hogy adott genotípusú szülők keresztezéséből milyen utódok várhatók. Vajon készíthetünk-e statisztikai előrejelzést ugyanezen törvények alapján egy egész populáció génösszetételére is?

Nem sokkal a Mendel-törvények újrafelfedezése után néhány elméleti szakember ezt nagyon leegyszerűsített formában képzelte el. Azt hitték pl., hogy bármely domináns jegy (pl. a tömpe ujjak ***brahidaktiliá***ban (*brachydactylia*) végül a népesség 75%-ban fog

megjelenni. Látható viszont, hogy a valóságban ez nem így van. Valaki tévedett. Azt, hogy nem Mendel volt az, aki hibásan következtetett, nagyon elegáns módon mutatta ki Hardy, cambridge-i matematikus. Az általa felismert törvényre vele egyidőben, tőle függetlenül Weinberg német klinikai orvos is rátalált. A Hardy és Weinberg által kidolgozott elmélet egy új tudományág, a populációgenetika fejlődésének alapja lett. A humán populációgenetika, részben a mendeli elvek logikai kiterjesztésére támaszkodva, azt kívánja megérteni, milyen az örökölt jegyek megoszlása az egyes népcsoportokban és miért, hogyan változnak idővel a géngyakoriságok.

Genotípus–, fenotípus– és allélgyakoriság

A populáció olyan egyedek együttese, melyek génjei az utódok nemzedékében egymással keveredhetnek. Az egy populációba tartozó egyedek szaporodási közösséget alkotnak abban az értelemben, hogy a párválasztás a populáción belül történik és elvileg a populáció bármely egyede bármely, a másik nemhez tartozó egyeddel párosodva termékeny utódokat hozhat létre.

Az egyes típusokba tartozó egyedek arányát a relatív gyakoriságukkal, ill. előfordulásuk valószínűségével írhatjuk le. A relatív gyakoriság az adott típusú egyedek számának és a populációt alkotó összes egyed számának a hányadosa, azaz gyakorlati, számlálható érték. A valószínűség a relatív gyakoriság várható értéke, azaz kifejezetten elméleti jellegű. Csak végtelen nagy számú minta esetén egyezik a relatív gyakorisággal. Véges minták esetén a relatív gyakoriság a valószínűség körül ingadozik (l. Biometria jegyzet). Egy egyed vonatkozásában ezek a fogalmak nem használhatók, ill. csak 0 vagy 1 lehet az értékük, azaz egy egyedben vagy megtalálható az adott jelleg, vagy nem.

Tételezzük fel, hogy egy populációban meghatároztuk a szülők genotípusát és az alábbi adatokat kaptuk:

Genotípus	Egyedszám	Gyakoriság
BB	114	0,57
Bb	56	0,28
bb	30	0,15
Összesen	200	1,00

DUPress

Az egyes ***genotípusok relatív gyakorisága*** az adott genotípusú egyedek számának és a populációt alkotó összes egyed számának hányadosaként adódik. Ha a populációban az adott lokuszra vonatkozóan minden előforduló genotípust számba vettünk, ezek relatív gyakoriságainak összege 1 kell legyen. Ezzel önmagunkat ellenőrizhetjük: ha az összeg 1-nél kisebb, valamelyik genotípust kihagytuk a számlálásból, ha egynél több, az egyedek egy csoportját többször is számba vettük (vagy rosszul számoltunk).

Ha minden genotípus más-más fenotípust eredményez (pl. ha nincs, vagy inkomplett a dominancia, vagy kodomináns a gének hatása), akkor a ***fenotípusok relatív gyakorisága*** egyezik a genotípusokéval. Ha a homozigóta domináns fenotípusa nem különböztethető meg a heterozigótától, akkor a domináns fenotípus relatív gyakorisága az azonos fenotípust eredményező két genotípus relatív gyakoriságának összege lesz.

Fenotípus	Egyedszám	Gyakoriság
Domináns	170	0,85
Recesszív	30	0,15
Összes	200	1,00

Az ***allélek relatív gyakoriságá***nak (frekvenciájának) kiszámításához egy kicsivel több számításra és elmélyültebb végiggondolásra van szükség. A fogalom tartalma közben ugyanaz marad: az adott lokuszhoz tartozó egyes allélek számát viszonyítjuk a populáció egészében az adott lokuszon előforduló összes allél számához (vagy más nézőpontból az adott allél változatok által betölthető összes lokusz számához, ami ugyanaz). Mivel a populáció diploid egyedekből áll, az egyes allélek számát a populáció egyedszámának kétszeresével osztva kapjuk meg azok relatív gyakoriságát. A számlálás viszonylag egyszerű: homozigótákban az adott allélből 2, heterozigótákban 1 található – azaz a homozigóták számát 2-vel szorozva, a heterozigótákét csak egyszeresen vesszük figyelembe.

Az adott lokusz alléljeire számolt relatív gyakoriságok összege is 1 kell legyen – ugyanazon megfontolásból, amit a genotípusok relatív gyakoriságánál említettünk. Ha 2 allél tartozik a lokuszhoz – pl. ***B*** és ***b*** –, és az egyik relatív gyakorisága $f(B)=p$ és a másiké $f(b)=q$ (f = frekvencia, azaz relatív gyakoriság):

$$p + q = 1$$

Ha adott lokuszhoz több allél is tartozik (mint pl. az AB0 vércsoportokat meghatározó allélek esetén), valamennyinek a relatív gyakoriságát számításba kell vennünk:

$$p + q + r = 1$$

(vagy még több allélre vonatkozóan: $p_1+p_2+....p_n=1$).

Legegyszerűbben akkor számolhatjuk az allél frekvenciákat, ha egy fenotípus egyértelműen egyetlen genotípusnak felel meg. (A dominancia okozta bonyodalom leküzdésére később visszatérünk.)

AZ ALLÉLGYAKORISÁG ÉS A GENOTÍPUSOK GYAKORISÁGA KÖZÖTTI KAPCSOLAT

Az összefüggés az allélek és genotípusok gyakorisága között viszonylag egyszerű, könnyen megjegyezhető, és könnyen kiszámítható. Keressük a megoldást általános esetre!

Előbb a genotípusok gyakoriságából számítsuk ki az allélgyakoriságokat: legyen a

BB genotípusok száma	**D,**	ebből arányuk: **f(*BB*)**	=	**D/T**
Bb genotípusok száma	**H,**	ebből arányuk: **f(*Bb*)**	=	**H/T**
bb genotípusok száma	**R,**	ebből arányuk: **f(*bb*)**	=	**R/T**

ahol ***D+H+R=T*** (***T***=totál, azaz a teljes populáció)

A ***B*** allél relatív gyakorisága: ***f(B)=p***, és a ***b*** allél relatív gyakorisága: ***f(b)=q***

$$p = (2D+H)/2T = D/T + H/2T = f(BB) + \tfrac{1}{2}f(Bb)$$

$$q = (H+2R)/2T = H/T + D/2T = f(bb) + \tfrac{1}{2}f(Bb)$$

azaz a domináns, ill. recesszív allélek relatív gyakorisága egyenlő a megfelelő homozigóták relatív gyakoriságának és a heterozigóták relatív gyakorisága felének összegével. Az allélgyakoriságok tehát könnyen kiszámolhatók, ha ismerjük a genotípusok arányát. Kettőnél több allél relatív gyakorisága is számolható hasonló logikával, ha ismerjük a genotípusok arányát.½

Háromalléles rendszerek közül egyszerű példaként szolgálhat a hemoglobin β-láncának három mutáns változatát kódoló gének[1] esete. A normális allél a Hb^A, a sarlósejtes a Hb^S, egy harmadik allél a Hb^C-nek megfelelő β-globin fehérjét kódolja. Minden allél kifejeződik, ha jelen van a genotípusban. Hatféle genotípus és fenotípus lehetséges: Hb^AHb^A, Hb^AHb^S, Hb^AHb^C, Hb^SHb^S, Hb^SHb^C és Hb^CHb^C. A három allél relatív gyakoriságának összege itt is 1 kell legyen. A fenotípus és a genotípus egy az egyben fedi egymást, így a genotípusok aránya könnyen számolható. Az allélek gyakoriságát sem nehéz számolni: pl: $f(Hb^A)=f(Hb^AHb^A)+\tilde{}(Hb^AHb^S)+\tilde{}f(Hb^AHb^C)$ és így tovább a többi allélre is.

---

[1] A hemoglobin β-láncának több mutáns változata is ismeretes,de ezekkel itt nem foglalkozunk.

A párválasztások gyakorisága

Ismerve a szülői nemzedék genotípus-arányait, az utódnemzedék allél- és genotípus-arányaira akarunk következtetni. Pl. egy 200 egyedből álló csoportban

f(BB)=0,57
f(Bb)=0,28
f(bb)=0,15
összesen=1,00

A háromféle genotípus – feltételezve, hogy mindkét nemben előfordulnak – hatféle kombinációban szerepelhet a szülőpárok összeállásakor: ***BB× BB, BB× Bb, Bb× bb, Bb× Bb, Bb× bb,*** és ***bb× bb.*** Ezeknek a szülői genotípus-kombinációknak a valószínűsége a populációban érvényes párválasztási szabályoktól függ. Mások az arányok pl., ha hasonló hasonlót választ, mint akkor, ha a párválasztás a genotípus szempontjából véletlen. Elvben sokféle párválasztási szabály elképzelhető, ezek közül különböző állati és emberi populációkban több elő is fordul.

VÉLETLENSZERŰ PÁRVÁLASZTÁS

Matematikai szempontból a legkényelmesebben kezelhető esetet jelenti és a valóságban is gyakran előfordul, ill. a feltételezésével végzett számítások a valóságos eseményekben kialakuló arányokhoz közel eső eredményeket adnak.

A „***véletlen párválasztás***" csak a vizsgált genotípusok, ill. fenotípusok szempontjából véletlen – azaz nem ezek alapján történik a párválasztás, hanem olyan tényezők játszhatnak benne szerepet, melyek nincsenek szoros kapcsolatban az adott geno- ill. fenotípusokkal. Emberi populációkban véletlen (vagy majdnem véletlen) a párválasztás olyan bélyegek esetében, mint pl. AB0-vércsoportrendszer, HLA-antigének, stb. Ezek vonatkozásában bármely egyed azonos valószínűséggel választja az ellenkező nem bármelyik képviselőjét, függetlenül annak geno- és fenotípusától.

Véletlen párválasztás esetén adott genotípusok találkozásának valószínűsége relatív gyakoriságaik (előfordulásuk valószínűségei) szorzatával egyenlő (független események együttes bekövetkezésének valószínűsége, l. Biometria jegyzet). Pl:

$$P(BB \times BB) = P(BB) \cdot P(BB_0) = 0{,}57 \cdot 0{,}57 = 0{,}57^2$$

(P(X)=az X „esemény" valószínűsége) – feltételezve, hogy a két nemben azonos valószínűséggel található meg a ***BB*** genotípus. Ebben az esetben az anya ill. az apa genotípusának megcserélése nem jelent új kombinációt. A ***Bb*** × ***bb*** valószínűsége viszont duplázódik, mivel kétféleképpen is létrejöhet: $Bb \times bb_0$ vagy $bb \times Bb_0$, ezért

$$P(BB \times bb) = P(BB) \cdot P(bb_0) + P(BB) \cdot P(bb_0) = 2 \cdot 0{,}57 \cdot 0{,}15 = 0{,}171$$

(az alsó indexben a , ill. o szimbólum az apára, ill. az anyára utal).

Összegezve a párválasztáskor kialakuló genotípus-kombinációk valószínűségeit, ha a következő jelöléseket használjuk $P(BB)=x$, $P(Bb)=y$, $P(bb)=z$, akkor $P(BB \times BB)=x^2$, $P(Bb \times Bb)=y^2$, $P(bb \times bb)=z^2$, $P(BB \times Bb)=2xy$, $P(BB \times bb)=2xz$, $P(Bb \times bb)=2yz$, azaz a szülőpárok genotípus-kombinációinak valószínűsége egyszerűen számolható az $(x+y+z)^2$ képlet alapján. Vegyük észre, hogy az összes kombináció valószínűségeinek összege változatlanul 1. (Ha $x+y+z=1$, akkor fennáll az $(x+y+z)^2=1$ egyenlőség is.)

VÉLETLEN PÁRVÁLASZTÁSOKBÓL SZÁRMAZÓ UTÓDOK

Ha ismerjük a szülők genotípusát, következtetni tudunk arra, hogy milyen genotípusú utódok milyen valószínűséggel várhatók az adott szülőpártól. Pl: ***bb*** genotípusú utódok születése ***Bb*** × ***Bb*** kereszteződésből 1/4 valószínűséggel várható, míg ***bb*** × ***bb*** szülőpárnak csak ***bb*** utódai lehetnek. Minden szülői genotípus-kombinációra minden lehetséges genotípusú utód születésének valószínűsége ugyanilyen logikával a Mendel szabályok alapján számítható.

A Hardy–Weinberg törvény

Hardy és Weinberg 1908-ban egymástól függetlenül a Mendel-szabályok alkalmazásával vizsgálták, véletlen párválasztást és mindkét nemben azonos allél-gyakoriságot feltételezve, az utódok gén- és genotípus-összetételének várható alakulását a populációkban. Az általuk alkalmazott gondolatmenet hasonló volt a már fentebb bemutatotthoz

DUPress

(ui. tőlük kölcsönöztük azt). A felismert törvényszerűségeket két megközelítésben mutatjuk be:

(*1*) Amennyiben a Hardy és Weinberg által kikötött feltételek (l. alább) teljesülnek, egyetlen generációban létrejön a genotípus-gyakoriságok egyensúlyi aránya. Jelölje a ***B*** ill. ***b*** allélek relatív gyakoriságát ***p*** és ***q***, és legyen ***p+q=1*** (azaz teljes az eseményrendszer). Már az első utódnemzedékben $f(BB)=p^2$, $f(Bb)=2pq$ és $f(bb)=q^2$, ahol

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

Ez azt jelenti, hogy az allélgyakoriságok ismeretében megmondható az utódnemzedékben a genotípusok várható gyakorisága. (Ha a genotípusok gyakorisága nem egyezik az allélgyakoriság alapján várhatóval, nincs egyensúlyban a populáció, valamelyik feltétel nem teljesül.)

(*2*) Amíg a Hardy és Weinberg által megkövetelt feltételek teljesülnek, ***nem változik az allélek és genotípusok relatív gyakorisága a populációban.*** Azaz generációról generációra állandó a genotípusok p^2, $2pq$ és q^2 gyakorisága (pontosabban létrejöttüknek valószínűsége). Az arányoknak ezt az időbeli állandóságát nevezzük a ***génösszetétel egyensúlyá***nak. Ahhoz, hogy az egyensúly megközelítően is fennállhasson, néhány feltételnek teljesülnie kell:

- ♣1. Véletlen párválasztás (a vizsgált allélrendszer vonatkozásában),
- ♣2. eléggé nagy populáció (néhány száz egyed vagy még több),
- ♣3. elhanyagolható mértékű szelekció, azaz az egyes genotípusok megközelítően azonos termékenysége és életképessége,
- ♣4. elhanyagolható mértékű mutáció a vizsgált allélekben,
- ♣5. elhanyagolható mértékű be- és kivándorlás a populációba, ill. populációból.

Azok a feltételek, melyek az egyensúlyt hosszú távon is biztosítják, ennél sokkal szigorúbbak: a populációnak végtelenül nagynak kell lennie (ui. az utódok genotípusát leíró képlet a valószínűségeket adja meg, a valóban kialakuló relatív gyakoriságok ekörül ingadoznak – csak végtelen nagy számú mintában egyezik pontosan a valószínűség és a relatív gyakoriság). Egyáltalán nem lehet szelekció, mutáció és be- ill. kivándorlás. Azt a populációt, mely ezeknek a szigorú követelményeknek megfelel, ***ideális populáció***nak nevezzük. A valóságos populációk közül természetesen egy sem felel meg ennyire szigorú követelményeknek. A valóságos populációk legjobb esetben is kisebb vagy nagyobb mértékben megközelítik az ideális populációt. Ezekben a közelítés mértékével arányosan érvényesül a Hardy–Weinberg törvény. A populációk nagy hányadában viszonylag sok olyan lokusz van, melyek vonatkozásában az adott populáció eléggé megközelíti az ideálist

ahhoz, hogy benne a Hardy–Weinberg módszerrel számolt egyensúly hosszabb időn át fennmaradjon. Ezekben az esetekben a törvény alapján számolt következtetések hasznosak és használhatók.

EGY LEHETSÉGES BIZONYÍTÁS

A Hardy–Weinberg törvény részleges bizonyítását adja a már említett példa homozigóta recesszív utódok várható gyakoriságának kiszámolására. Ha ***BB***, ***Bb*** és ***bb*** genotípusok ***x***, ***y*** és ***z*** relatív gyakorisággal fordulnak elő a populációban, a *bb* utódok születésének valószínűsége véletlen párválasztás esetén: $P(bb)=(z+y/2)^2$. A zárójelben lévő összegről könnyű kimutatni, hogy a ***b*** allél relatív gyakoriságával egyenlő. A leírt egyenlőség $P(bb)=q^2$ formában is írható, ami egyezik a Hardy–Weinberg egyenletben szereplő genotípus-gyakorisággal.

Más oldalról a genotípusok relatív gyakoriságának állandósága az allélek relatív gyakoriságának állandóságát is jelenti. Alkalmazva a korábban már használt képletet, miszerint $f(b)=f(bb)+½f(Bb)$, ill. $f(B)=f(BB)+½f(Bb)$, és tudva, hogy $p=P(B)\cong f(B)$ és $q=P(b)\cong f(b)$, számolhatjuk az egymást követő generációkban várható allélgyakoriságokat:

$$p_1 = p_0^2 + p_0q = p_0(p_0 + q_0); \text{ mivel } p_0+q_0 = 1$$

$$p_1 = p_0$$

vagy nemzedékek sorára számolva:

$$p_0 = p_1 = p_2 = \ldots\ldots = p_n = \ldots\ldots = p_\infty$$

ahol az alsó indexek a nemzedékek sorszámát jelölik. Hasonló eredményt kapunk a ***q*** állandóságára is. Fontos aláhúzni, hogy egy megközelítően ideális (mendeli) populációban adott allélarányok esetén egyetlen generációban beáll a genotípusok $p^2+2pq+q^2=1$ aránya, függetlenül attól, milyen genotípus-arányokban testesült meg a szülői nemzedékben az allélek p+q=1 egyenlőségnek megfelelő aránya. A Hardy–Weinberg egyenletből adódó genotípus-arányok mindaddig fennmaradnak, amíg a Hardy és Weinberg által megadott feltételek teljesülnek.

DUPLA

A HARDY–WEINBERG TÖRVÉNY ÉRTELMEZÉSE

A Hardy–Weinberg törvény azt mondja ki, hogy a vizsgált allélrendszer vonatkozásában nincs változás, tehát nincs evolúció sem. Nagyon hosszú – földtörténeti léptékkel mérhető – időszakra ez az állítás valószínűleg nem állja meg a helyét, hiszen tudjuk, hogy a populációkban evolúció folyt, a populációk átalakultak, fejlődtek. Ezzel szemben rövidebb távon a Hardy–Weinberg törvényben megfogalmazott állandóság fennállhat, a gondolatmenet használható.

Ez az egyensúly semleges abban az értelemben, hogy ha egyszer az allélarányok bármilyen ok következtében megváltoznak, mondjuk: $p \rightarrow p_1$ és $q \rightarrow q_1$ (de továbbra is $p_1+q_1=1$), egyetlen generáció alatt a genotípus-arányok is megváltoznak: p_1^2: $2p_1q_1$: q_1^2 értékeket vesznek fel és ezek az új arányok stabilizálódnak a következő nemzedékekben. Azaz a populáció számára ezek az arányok közömbösek, semmi olyan erő, ill. hatás nem lép fel, mely az eredeti arányok felé tolná vissza az egyensúlyt. Ez azt is jelenti, hogy nem kell ismernünk a populációk múltját ahhoz, hogy előre jelezzük az utódokban várható genotípus-arányokat. Az, hogy a különböző allélek megőrződtek egymás mellett, annak is következménye, hogy nem olvadtak össze, nem keveredtek el egymással az egymást követő nemzedékekben. Mendelnek az a következtetése, hogy az öröklődést hordozó tényezők különálló egységek, melyek az allelomorf tulajdonságot meghatározó másik egység mellett is változatlanul megőrződnek, az egyik legjelentősebb hozzájárulást jelenti az evolúciós tan megértéséhez.

A modern evolúciós elméletek gyökere a populációgenetika elveiben van. Az evolúció folyamata az egyes egyedek szintjén nem értelmezhető, viszont a populációk evolúciós értelemben fejlődnek. A fejlődést azok a tényezők hozzák létre, melyeket Hardy és Weinberg törvényük levezetésekor figyelmen kívül hagytak, ill. amelyek hiánya feltétele az egyensúly megőrzésének. Ilyen tényezők: eltérések a véletlen párválasztástól, véletlen és előreláthatatlan változások a génösszetételben a populáció kis mérete miatt, mutációk, be- és kivándorlások és különösen (az esetek többségében) a természetes szelekció. Ezek hatására változik az allélek és az általuk létrehozott genotípusok gyakorisága, ezzel a populációban lévő átlagos fenotípus is. Az idők során felgyülemlő módosulások hozták létre azokat az evolúciós formákat, melyeket a paleontológusok és más szakemberek kimutattak és dokumentáltak. Jóllehet az elmúlt évmilliók során létrejött törzsfejlődési változásokhoz nem tudjuk hozzárendelni az alapjukat képező génváltozásokat, a jelenben zajló (kisebb) evolúciós változásokban elemezni tudjuk az allélek változásait. Ismert példa ipari vidékeken a nyírfaaraszoló lepkék közt a sötéten pigmentált, ún. melanotikus forma gyakoriságának erőteljes növekedése. Ez esetben egyetlen allélpárt érint az arányok változása.

DE Press

A következő fejezetekben megnézünk néhány emberi populációkban is érvényesülő evolúciós hajtóerőt. Az elemzés alapjául ezekben az esetekben is a Hardy–Weinberg egyenletek szolgálnak, de a génösszetételre ható tényezők beépítésével módosítani kell az eredeti egyenleteket. Ha az evolúciós hajtóerők gyengék, egy allél relatív gyakorisága állandó marad, függetlenül attól, hogy domináns vagy recesszív. Alá kell húznunk: a dominancia nem evolúciós hajtóerő, csak arra vonatkozó megjelölés, hogy az adott allél heterozigóta állapotban is kifejeződik. Hardy a század elején finoman korholta azokat a biológusokat, akik – összetévesztve ismert genotípusú szülők keresztezését a populációk viselkedésével – azt hitték, hogy a populációkban is, akárcsak $Bb \times bb$ vagy $Bb \times Bb$ keresztezések esetén, automatikusan 1/2, ill. 3/4 arányban kell a domináns fenotípusnak megjelennie. Populációkban egy allél relatív gyakoriságát elsősorban az dönti el, hogyan hat az utódok létrehozásában való sikerességre, ill. sikertelenségre. Domináns és recesszív allélek között is vannak olyanok, melyek rontják az utódok létrehozására való képességet. Az ilyen allélek gyakorisága nem azért csökken, mert recesszívek vagy dominánsok, hanem azért, mert az utódok hátrahagyásának esélyét rontják.

A dominánsan öröklődő brahidaktília esetében a létező humán populációkban a rövidujjúak aránya nem 3/4, hanem $1{:}10^6$. Ez az alacsony előfordulási arány elég hosszú időn át fennmarad, mivel a Hardy és Weinberg által megkívánt feltételek nagyjából teljesülnek, bár a brahidaktíliás embereknek általában kevesebb gyermekük van, mint másoknak (ez a gyakoriság csökkenése irányában hat) és a normális allél időnként mutációval abnormálissá változik (ez növeli a relatív gyakoriságot). A brahidaktília gyakorisága mindenképpen kicsi lenne, függetlenül attól, hogy domináns vagy recesszív öröklésmenetet mutat. Ahogy Hardy írta: „A legcsekélyebb alapja sincs annak az elképzelésnek, hogy egy domináns jelleg hajlamosabb lenne a populáció egészében való elterjedésre, mint a recesszív, vagy egy recesszív jelleg, azért mert recesszív, a kihalás felé tartana.”

GENOTÍPUS-GYAKORISÁGOK SOROZATA

A másodfokú Hardy–Weinberg egyenletben a genotípusok gyakoriságát kifejező p^2, $2pq$ és q^2 értékeket az allélgyakoriságok négyzetre emelésével kaptuk:

$$(p+q)^2 = p^2 + 2pq + q^2$$

a négyzetre emelés tkp. a petesejtek allélgyakoriságai $(p+q)$ és a hímivarsejtek allélgyakoriságai $(p+q)$ összeszorzásának felel meg. Azaz az allélgyakoriságok négyzete a genotípusok várható gyakoriságát, a genotípus-gyakoriságok négyzete a párválasztások várható gyakoriságát adja (feltételezve, hogy a párválasztás véletlen). Ez volt az a

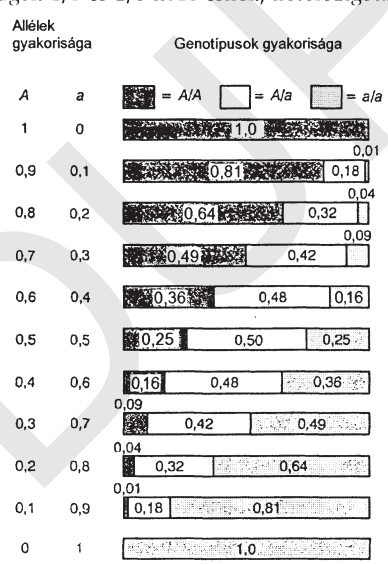
szorzótábla-szintű matematikai ismeret, melyet Hardy szükségesnek tartott a probléma megértéséhez.

Ha olyan génnel (lokusszal) van dolgunk, melynek három allélje van A_1, A_2 és A_3, melyek a p, q ill. r gyakorisággal fordulnak elő, és $p+q+r=1$, a Hardy–Weinberg egyensúlyhoz tartozó genotípus-gyakoriságokat egy háromtagú kifejezés négyzetre emelésével kapjuk meg:

$$(p+q+r)^2 = p^2+ q^2+ r^2+ 2pq + 2pr + 2qr$$

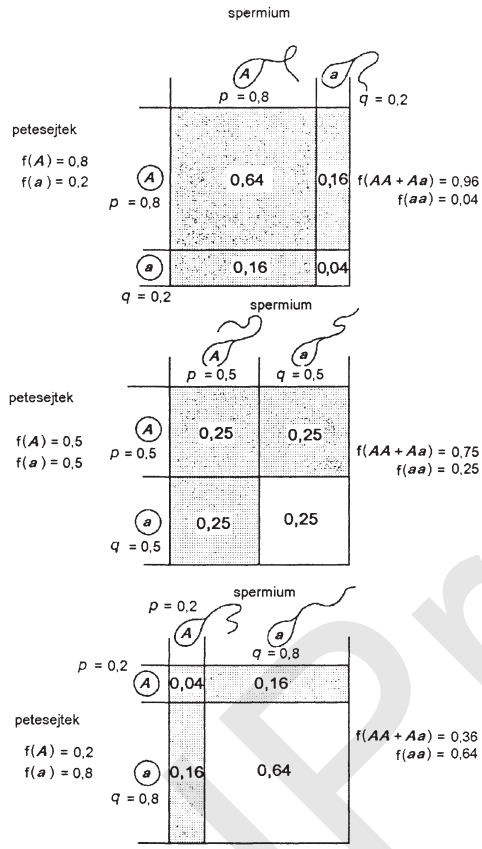
ahol p^2, q^2, és r^2 a homozigóták (A_1, A_2 és A_3 allélre) $2pq$, $2pr$ és $2qr$ a heterozigóták (A_1A_2, A_1A_3 és A_2A_3) relatív gyakoriságát jelenti. A számolási mód értelemszerűen kiterjeszthető több alléles lokuszokra is.

Elméletileg az egyes allélek gyakorisága 0 és 1 között bármilyen érték lehet (beleértve 0-t és 1-et is). Mint már megjegyeztük, a jelenlegi gyakoriság hosszú evolúciós fejlődés eredményeként alakult ki. A genotípusok gyakorisága az allélgyakoriságok függvénye (19.1. ábra). Ahogy a domináns allél gyakorisága 1-ről 0-ra csökken, vele csökken (a négyzetre emelés miatt kezdetben sokkal meredekebben) a domináns homozigóták gyakorisága. Ahogy az allélgyakoriság 0-hoz közelít, egyre ritkábbá válnak a homozigóták. Pl. 1:100 allélgyakorisághoz 1:10 000 homozigóta-gyakoriság tartozik (1:1000-hez $1:10^6$, stb.). A heterozigóták $p=q=0,5$ allélgyakoriság mellett a leggyakoribbak, bármelyik szélsőség felé haladva gyakoriságuk csökken. Ha kétalléles rendszerben az allélgyakoriságok 1/3 és 2/3 közé esnek, heterozigótákból több van, mint bármelyik homozigótából. Különbözö allélgyakoriságok mellett a Hardy–Weinberg egyensúlyhoz tartozó genotípus-gyakoriságokat szemléltetni lehet négyzetek területének felosztásával is (19.2. ábra).



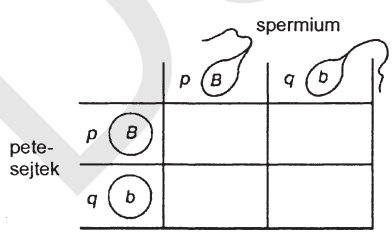
19.1. ábra. *Allélgyakoriságok és genotípus-gyakoriságok a Hardy–Weinberg egyenletekből számolva.* 3 sáv pontosabb geometrikus ábrázolását találjuk a 19.2. ábrán.

DLP Press



19.2. ábra. *Punnett-táblák a Hardy–Weinberg egyenletek alapján várható genotípus-gyakoriságok szemléltetésére.* ***A*** *és* ***a*** a domináns, ill. a recesszív allél gyakoriságát jelenti. A négyzet oldalait ezekkel arányos hosszúságú szakaszokra osztottuk fel. A felosztásból adódó négyzetek és téglalapok területe arányos az egyes genotípusok gyakoriságával.

HARDY–WEINBERG TÖRVÉNY – BIZONYÍTÁS EGY MÁSIK ÚTON



Utódnemzésnél a véletlen párválasztás feltételezése elvben nem különbözik a gaméták által hordozott allélek véletlen kombinálódásának feltételezésétől. Mindkettő ugyanazt a végeredményt adja, ugyanannak az eseménynek egyik, ill. másik oldalát jelentik. Ha azt kérdezzük, milyen genotípusú egyedek milyen valószínűséggel alkotnak párt az utó-

DUPress

dok létrehozásakor, akkor arra is választ kapunk, hogy egyik ill. másik allélt hordozó petesejtet milyen valószínűséggel termékenyíti meg az egyik ill. másik allélt hordozó hímivarsejt. Ez az elv egyszerű lehetőséget kínál a Hardy–Weinberg egyenletekből következő genotípus-gyakoriságok kialakulásának szemléltetésére, ill. a számítások helyességének átlátására – úgy, hogy a populációt egészében szemléljük és nem bonyolódunk annak részletezésébe, hogy mekkora az egyes genotípusok párosodásának valószínűsége, és adott genotípusú utódok milyen valószínűséggel várhatók. Készítsünk Punnett-táblát a ***B*** és ***b*** allélpárok öröklődéséről úgy, hogy egyik oldalon a spermiumok, rá merőleges oldalon a petesejtek által hordozott allélek gyakoriságát ábrázoljuk. Egyszerű ábrázolási lehetőséget jelent, ha az oldalakat a ***p*** és ***q*** gyakoriságokkal arányos hosszúságú szakaszokra osztjuk. A kapott négyzetek és téglalapok területe lesz ekkor arányos a genotípusok gyakoriságával. Legegyszerűbb esetben ***p=q=0,5***, azaz a négyzet oldalait feleznünk kell. Négy egyforma területű négyzetet kapunk. Ezek közül egy-egy a kétféle homozigóta (0,25; 0,25) míg kettő (0,25+0,25=0,5) a heterozigóták gyakoriságát jelenti. Az eredmény teljesen azonos a monohibrid keresztezésben Mendel által számolt arányokkal. Más allélarányok esetén a felosztás két négyzetet és két téglalapot eredményez. Ezek területe p^2, q^2 és $2pq$, azaz a Hardy–Weinberg egyenletekből számolt genotípusarányokat jelenti. Az időbeli állandóságot a ***p*** és ***q*** relatív gyakoriságok nemzedékről nemzedékre való megőrzése biztosítja. Az eljárás értelemszerűen kiterjeszthető kettőnél több allélből álló rendszerekre is. Az allélgyakoriság ott is meghatározza a genotípusarányokat és ideális populációkban ezek időbeli állandósága is teljesül. (Megközelítően ideális feltételek között megközelítően teljesül.)

Néhány gyakorlati példa

Olyan példákat válogattunk, melyekben a Hardy–Weinberg egyenletekkel számolva néhány érdekes felismerésre juthatunk.

SARLÓSEJTES ALLÉL AMERIKAI FEKETÉKBEN

A 13. fejezetben szó esett már arról, hogy a sarlósejtes hemoglobint kódoló allél (Hb^S) viszonylag gyakori olyan populációkban, melyek generációkon át maláriával fertőzött területen éltek. Az Amerikai Egyesült Államok fekete populációja Afrikából

DUPress

származik, ahol őseik a 17–18. századig ki voltak téve malária fertőzésnek. Amerikába kerülve a fertőzés veszélye megszűnt. Afrikában a maláriás területeken élő populációkban a Hb^S allél relatív gyakorisága elérheti vagy megközelíti a q=0,2 értéket. Az amerikai feketék közül 2000, a véletlen mintavétel szabályai szerint választott újszülöttet megvizsgálva a következő arányokat találták:

Genotípus	Esetszám	Relatív gyakoriság
$Hb^A\ Hb^A$	1804	0,902
$Hb^A\ Hb^S$	192	0,096
$Hb^S\ Hb^S$	4	0,002
Összesen	2000	1,000

Tehát minden 500 újszülöttből $Hb^S\ Hb^S$ genotípusú, azaz sarlósejtes anémiában szenved és majdnem minden tizedik (192:2000) heterozigóta hordozója a sarlósejtes allélnek.[2] A sarlósejtes allél gyakorisága:

$$f(Hb^S) = q = 0{,}002 + \tfrac{1}{2} \cdot 0{,}0096 = 0{,}050$$

azaz az amerikai feketékben a *Hb* allélek egyhuszada Hb^S, vagyis sarlósejtes hemoglobint kódol. Két heterozigóta házasságának valószínűsége:

$$P(Hb^A\ Hb^S \times Hb^A\ Hb^S) = (0{,}096)^2 = 0{,}009216$$

azaz az amerikai feketék vonatkozásában az összes házasságnak kevesebb, mint 1%-a. A sarlósejtes anémiás, Hb^S génre homozigóta utódok túlnyomó részben ezekből a házasságokból születnek, mivel a homozigóták vagy meg sem érik a felnőtt kort, vagy rossz egészségi állapotuk akadályozza, hogy szülővé válhassanak. (A heterozigóták házasságából született utódok között a homozigóták előfordulásának valószínűsége 0,25. Esetünkben 0,0092:4 = 0,0023, ami jól egyezik a megfigyelt gyakorisággal.)

Mivel a Hb^S allélre nézve homogozigóták (nagyon ritka kivételektől eltekintve) nem vesznek részt az utódnemzedék létrehozásában, ennek megfelelően korrigálni kell a szülői nemzedék számolt allél-, ill. genotípus-arányait.:

Genotípus	Esetszám	Relatív gyakoriság
$Hb^A\ Hb^A$	1804	0,9038
$Hb^A\ Hb^S$	192	0,0962
$Hb^S\ Hb^S$	0	0,0000

[2] A heterozigóták könnyen kimutathatók (pl. a hemoglobin egyszerû elektroforézises vizsgálatával).

A heterozigóták születésének valószínűsége (0,0962) ezek szerint alig különbözik az előzőekben számolt értéktől (0,096). (Ilyen kis eltérések aprólékos számolgatásával nem is érdemes foglalkozni.) A Hb^S gén gyakorisága a majdan szülővé váló nemzedékben így $q_1=½ \cdot 0,0962=0,0481$, picivel kevesebb, mint a homozigóták beszámításával kapott $q_0 = 0,050$ gyakoriság. Az allélgyakoriságnak ilyen kis mértékű változása is elegendő volt arra, hogy a 17. század óta egymást követő generációk során a Hb^S allél gyakoriságát 0,20 körüli értékről kb. 0,05–re csökkentse. A másik tényező, ami szerepet játszott az allélgyakoriság csökkentésében, európai géneknek a fekete populációba való beáramlása volt (feketék és fehérek közötti házasságok, vagy még inkább a fekete rabszolgalányokat teherbe ejtő gazdák által). Ez a génáramlás is hatással volt a génösszetételre.

Vegyük észre, hogy a fekete újszülöttek 2000-es mintájában talált genotípus-gyakoriságok és allélgyakoriságok jó egyezést mutatnak a Hardy–Weinberg egyenletből számolható arányokkal. A számítások a talált arányokhoz közel eső értékeket adnak, annak ellenére, hogy a Hardy–Weinberg feltételek nem teljesülnek. Bizonyosnak vehetjük, hogy a Hb^S allél nincs egyensúlyban. Gyakorisága az amerikai fekete populációban folytonosan csökken a már leírt okok következtében. A gyakoriság folyamatos csökkenése ellenére használhatók a Hardy–Weinberg egyenletek a genotípus-arányok közelítő pontosságú számítására. (Ezeknek a számításoknak alkalomadtán népegészségügyi jelentőségük is lehet, pl. heterozigóta szűrések beindításának indoklásában, ill. ezek bizonyos populációkhoz v. szubpopulációkhoz rendelésében.)

ALKAPTONÚRIA ÉS A DOMINANCIA PROBLÉMÁJA

250 000 véletlenszerűen kiválasztott gyermek között 1 alkaptonúriás várható. Az alkaptonúriás betegek homozigóta recesszívek a kóros génre (***kk***). A kóros állapot viszonylag egyszerűen felismerhető: a betegek vizelete állás közben, ill. szűrőpapírra cseppentve megsötétedik. Sajnos nincs olyan teszt, melynek segítségével a fenotípusosan egészséges emberekről eldönthető lenne, hogy hordozzák-e a kóros allélt (***Kk*** genotípusúak), vagy homozigóták a normális allélre (***KK***).

Megfigyelésünket összegezve :

Genotípus	Esetszám	Relatív gyakoriság
*K** 249999	0,999996 ≅1	
k	1	$0,000004 = 4\times10^{-6}$
Összes	250000	1,000000

Ebben az esetben nem használhatjuk a ***k*** allél relatív gyakoriságának számítására a megszokott eljárást, mivel nem ismerjük a heterozigóták arányát. Ez esetben a Hardy–

Weinberg egyenletre támaszkodva a homozigóta recesszívek arányából számíthatjuk ki az allélgyakoriságot. A homozigóta recesszívek létrejöttének valószínűsége az egyenlet szerint: $P(kk)=q$. Mivel az elváltozás elég jóindulatú és elég ritka, feltételezhetjük, hogy a genotípusok gyakorisága jó közelítéssel megfelel a Hardy–Weinberg egyenlettel számítható arányoknak. Ebből adódik

$$q = f(kk) = 4\times10^{-6}$$

A k allél relatív gyakoriságának, ill. előfordulási valószínűségének becsült értékét ebből négyzetgyökvonással kaphatjuk meg. Az adatokból számított becsült érték tehát

$$q^2 = 4\times10^{-6} \Rightarrow q = 2\times10^{-3} = 0{,}002$$

Ezek szerint az összes homogentizinsav-oxidáz enzimet (ennek hiánya okozza a kóros állapotot) kódoló allélt tekintve minden 500 közül 1 kóros, vagyis nem működő enzimet kódol – ha a populációban a genotípusok aránya egyezik a Hardy–Weinberg egyenletben leírtakkal. – Hogyan győződhetnénk meg erről? Tételezzük fel, hogy a megfigyelt érték ($4x10^{-6}$) valóban megegyezik a becsült valószínűséggel (q^2), ez alapján dolgozzunk ki hipotéziseket a populáció vonatkozásában. Ha a hipotézisünk nem használható, hibás eredményre jutunk számításainkban.

Bár minden valószínűség szerint a Hardy–Weinberg egyenletek ebben az esetben is használhatók, nyugtalanító, hogy a becsült $q=0{,}002$ érték mégsem biztos, hogy eléggé pontos. Könnyen megeshetne, hogy a 250 000 egyedből álló mintába, a véletlen folytán, több érintett egyed is belekerül. Ez esetben a becsült érték akár kétszerese is lehetne a valóságosnak. Vagy fordítva: véletlenül egyetlen érintett egyed sem kerül a kiválasztott mintába. Ez esetben 0-nak adódna az allélgyakoriság. A lehetséges becslések igen nagy szórása abból adódik, hogy nagyon ritka esetet vizsgálunk, nagyon kevés érintett egyed kerülhet bele a mintába. Ha azonosítani tudnánk az összes fenotípusosan egészséges heterozigótát (akik jóval többen vannak, mint a homozigóta recesszívek), sokkal kisebb lenne a téves becslés esélye. Mivel erre semmiképpen nincs lehetőségünk, elfogadjuk a $q=0{,}002$ értéket, mint adott körülmények között lehetséges legjobb becslést.

A becsült allélgyakoriságokból kiindulva – lehet, hogy csak durva közelítéssel – becsülni tudjuk a heterozigóták gyakoriságát a populációban:

$$P(Kk) = 2pq = 2\cdot 0{,}998\cdot 0{,}002 \cong 0{,}004$$

Azaz kb. 250 ember közül 1 hordozza heterozigóta formában a defektes gént. Meglepően magasnak tűnhet ez az arány, tudva, hogy 250 000 emberből csak egy az, akinek

anyagcseréje ebben a vonatkozásban defektes. Minden homozigóta recesszív egyedre 1000 génhordozó heterozigóta jut. Ebből becsülve a heterozigóták közötti házasságok gyakorisága $(2pq)^2 = (4 \cdot 10^{-3})^2 = 16 \cdot 10^{-6}$ lehet. Hogy valóban heterozigóták a házastársak, csak az mutatja, ha alkaptonúriás gyermekük születik. Egyébként soha nem szereznek arról tudomást, hogy *k* allélt hordoznak.

A következő fejezetben szó lesz arról, hogy az alkaptonúriás gyermek szülei – hasonlóan más, nagyon ritka recesszív allélre homozigóta gyermek szüleihez – az esetek nagy részében rokonai egymásnak (pl. első unokatestvérek). A rokonság megnöveli annak esélyét, hogy mindketten ugyanarra a ritka recesszív allélre legyenek heterozigóták.

ABO: EGY HÁROMALLÉLES RENDSZER

Az AB0 vércsoportokat meghatározó lokuszhoz három allél tartozik: I^A az A vércsoportot létrehozó enzimet (α-GalNAc-transzferáz), I^B a B vércsoportot kialakító enzimet (α-Gal-transzferáz) kódolja, míg az *i* allél által kódolt fehérjének nincs hasonló enzimaktivitása. Az I^A és I^B allélek kodominánsak, az *i* allél recesszív. Ha a három allél relatív gyakoriságát $f(I^A)=p$, $f(I^B)=q$ és $f(i)=r$ betűkkel jelöljük, a Hardy–Weinberg egyenlet alapján, tudva a dominancia-viszonyokat, a fenotípusok és genotípusok arányaira a következő értéket kapjuk:

Vércsoportok gyakorisága	Genotípusok gyakorisága	Valószínűségek
P(A)	$= P(I^A I^A) + P(I^A i)$	$= p^2 + 2pq$
P(B)	$= P(I^B I^B) + P(I^B i)$	$= q^2 + 2qr$
P(AB)	$= P(I^A I^B)$	$= 2pq$
P(0)	$= P(ii)$	$= r^2$

Az Athénben élő görög lakosság körében az allélgyakoriságok p=0,25, q=0,10 és r=0,65 értékeknek adódtak. Ennek megfelelően a fenotípusok gyakoriságai (két tizedesre kerekítve):

$P(A) = 0,25^2 + 2 \cdot 0,25 \cdot 0,65$	$= 0,39$
$P(B) = 0,10^2 + 2 \cdot 0,10 \cdot 0,65$	$= 0,14$
$P(AB) = 2 \cdot 0,25 \cdot 0,10$	$= 0,05$
$P(0) = 0,65^2$	$= 0,42$

Az A és 0 vércsoportok kb. azonos gyakorisággal fordulnak elő Athénben, míg az AB vércsoport viszonylag ritka.

DUPLICATE

A bemutatott példa kissé megtévesztő. Valójában nem az allélarányok azok, melyekről közvetlen információt szerezhetünk, hanem a fenotípusok arányai. A használható eljárás az, amikor a vizsgált populációt reprezentáló mintában (azaz megfelelő számosságú, véletlen választással kiemelt embercsoportban) vércsoport-meghatározást végzünk és megállapítjuk a négyféle AB0 vércsoport relatív gyakoriságát. Az egyes vércsoportok relatív gyakoriságának ismeretében számíthatjuk ki az egyes allélek relatív gyakoriságának **becsült értékét.**[3] Az r becsült értéke a 0 vércsoport relatív gyakoriságából számítható az $r^2=f(0)$ összefüggés alapján.

X-HEZ KÖTÖTT GÉNEK

Az X kromoszómán lévő gének kétszeres mennyiségben vannak jelen nőkben a férfiakhoz viszonyítva – lévén a nőknek két X kromoszómája, a férfiaknak pedig csak egy. Ebből következik, hogy a genotípusok arányát nőkben a másodfokú Hardy–Weinberg egyenlet, míg férfiakban az elsőfokú egyenlet írja le. Más szavakkal férfiakban ezen gének esetében a genotípusok aránya egyezik az allélarányokkal. Pl. hemofília esetében:

	Genotípus	Relatív gyakoriság
Nők:		
	HH	p^2
	Hh	$2pq$
	hh	q^2
Férfiak	*HY*	p
	hY	q

Ugyanezen gondolatmenetet követjük bármely X-hez kötött gén esetében. A genotípusok arányainak számítása nők vonatkozásában ugyanúgy történik, mint autoszomális gének esetében, míg a férfiakban – lévén hemizigóták az X-hez kötött génekre – egyetlen allél jelenti a genotípust és határozza meg a fenotípust. Ez az egy allél véletlenszerűen választódik ki az anya két allélje közül, ezért előfordulási valószínűsége a férfi egyetlen X kromoszómáján egyezik a populációban való előfordulás relatív gyakoriságával. Pl. kb. 10

[3] p és q közelítô értékét a fenotípusok arányából is becsülhetjük a $p = 1 - \sqrt{f(B) + f(0)}$ és a $q = 1 - \sqrt{f(A) + f(0)}$ képletek alkalmazásával. A közelítés annál pontosabb, minél ritkábban fordul elô az adott populációban az AB vércsoport. Vegyük észre, hogy $f(B) + f(0) = (q + r)^2$!

000 férfi közül 1 szenved klasszikus hemofíliában. Ezek genotípusa h(Y). Ez azt jelenti, hogy a populáció egészére $P(h)=q=10^{-4}$. A Hardy–Weinberg egyenlet szerint nőkben a hh genotípus, s vele a hemofília megjelenése a fenotípusban

$$q^2=(10^{-4})^2=10^{-8}$$

valószínűséggel lenne várható. Azaz a hemofília nőkben rendkívül ritka, de előfordul. A számolt valószínűség szerint egy 200 milliós népességben, melynek kb. fele nő, 1–2 hemofíliás nő születése lenne várható. Hogy ilyen lány születhessen, hemofíliás apára és konduktor anyára van szükség. (Különösen megnő a kockázat, ha hemofíliás férfi rokon lányt vesz feleségül.) Az orvosi szakirodalom számon tart néhány ilyen esetet.

Összefoglalás

(*1*) A populációgenetika kiterjeszti Mendel szülő-utód viszonylatban megismert öröklődési törvényeit az élőlények nagyobb csoportjára, a populációkra. Az itt érvényes szabályok az allélek, genotípusok, fenotípusok és párválasztások valószínűségeit, ill. relatív gyakoriságait írják le.

(*2*) Az allélgyakoriságok kiszámolhatók a genotípusok gyakoriságaiból. A szabály egyszerű: egy adott allél gyakorisága egyenlő a rá homozigóták gyakorisága + a heterozigóták gyakoriságának a fele.

(*3*) Véletlen párválasztás esetén adott genotípusú egyedek párosodásának valószínűsége a párt alkotó genotípusok relatív gyakorisága szorzatának kétszerese, ha eltérő genotípusokról van szó, és a relatív gyakoriság négyzete, ha mindkét szülő genotípusa ugyanaz.

(*4*) A Hardy–Weinberg törvény kimondja, hogy az allélek és genotípusok arányai változatlanul megmaradnak a populációban, ha az evolúciós hajtóerők elhanyagolhatóan kicsik. Adott p és q allélgyakorisághoz tartozó $p^2+2pq+q^2$ genotípus-gyakoriságok már egyetlen generációban létrejönnek és mind az allélarányok, mind a genotípusarányok hosszú ideig stabilan megmaradnak.

(*5*) A Hardy–Weinberg törvény bizonyításához felhasználható az utódnemzedék allél-, ill. genotípus-gyakoriságának kiszámítása egy tetszőlegesen összeválogatott genotípusokból álló populációban véletlen párválasztást feltételezve.

PUPress

(*6*) Az allélgyakoriságok és genotípus-gyakoriságok evolúciós változásainak megítélésekor is a Hardy–Weinberg egyenletekből indulunk ki. Ehhez módosítanunk kell az eredeti egyenleteket: az ideális populáció feltételeitől való eltéréseket, a génarányokat megváltoztató hatásoknak (szelekció, mutáció, be- és kivándorlás) megfelelő szorzók formájában beépítjük az eredeti egyenletekbe. A változások ilyen áttekintése azt mutatja, hogy a ma létező génarányok a múltban működő evolúciós hatások következtében alakultak ki és ebben nem játszott szerepet, hogy a vizsgált allél domináns vagy recesszív hatású volt.

(*7*) A Hardy–Weinberg egyenleteket felhasználva öröklődő humán bélyegek vonatkozásában is statisztikai elemzéseket végezhetünk az allél- és genotípus-gyakoriságok becslésére. Pl. recesszív öröklésmenetű elváltozások esetében következtethetünk a kóros allélt hordozó heterozigóták gyakoriságára, vagy más mennyiségi jellemzőkre.

(*8*) A Hardy–Weinberg egyenletek kiterjeszthetők többallélos rendszerekre és X-hez kötött génekre is.

Kérdések

(*1*) Számoljuk ki MN-vércsoport vonatkozásában a fenotípusok várható relatív gyakoriságát az alább felsorolt populációkban! (Tételezzük fel, hogy a Hardy-Weinberg törvény érvényesül!) Az M és N vércsoportba tartozók homozigóták, a heterozigóták MN-vércsoportba tartoznak. (A felsorolt adatok felmérésekből származnak.)

Populáció	Allélgyakoriság	
	M	N
Pima indiánok (USA, Arizona	0,70	0,30
Busmanok (Botswana)	0,60	0,40
Ámisok (USA, Indiana)	0,50	0,50
Polinézia Keleti Sziget lakói	0,40	0,60

(*2*) Legyen az Rh-negatív jellegért felelős *r* allél gyakorisága egy adott városban q=0,1.

a/ Milyen gyakorisággal várható a *RR*, *Rr* és *rr* genotípusok előfordulása a Hardy-Weinberg egyenlet szerint?

b/ A város egyik óvodájában 40 gyermek van. Mennyi annak a valószínűsége, hogy mind a 40 gyermek Rh-pozitív (azaz R? genotípusú)? (Válassza ki a megfelelő betű(ke)t a gentotípus leírására!)

(3) Hawai őslakosai között az Rh lokuszon lévő alléleknek kb. 90%-a *R*, azaz $f(R) = 0{,}9$, $f(r) = 0{,}1$.

a/ Az összes házasságot tekintve mi annak a valószínűsége, hogy a párok egyik tagja Rh-pozitív, a másik Rh-negatív?

b/ A házasságok hány százalékában várható, hogy az asszony Rh(+) és a férj Rh(-)?

c/ Az Rh-pozitívoknak milyen hányada lehet heterozigóta?

(4) Egy nagyobb populációból egy 100 emberből álló csoport kiválik és egy teljesen elkülönült közösséget hoz létre, mely a nagyobb csoporttal nem keveredik. MN vércsoport vonatkozásában a fenotípusok megoszlása: M=41, MN=38 és N=21.

a/ Milyen az M és N allélek relatív gyakorisága? Figyelembe kell-e venni a Hardy-Weinberg egyenleteket a gyakoriságok kiszámításánál?

b/ Ha ebben a vonatkozásban a Hardy-Weinberg törvény feltételei teljesülnek milyen fenotípus-gyakoriságok várhatók a következő generációkban? (Tételezzük fel, hogy a csoport kis létszáma ellenére nem számottevő a genetikai sodródás – l. 20. és 21. fejezetek.)

(5) Sarlósejtes globinért felelős Hb^S és egészséges globinért felelős Hb^A allél vonatkozásában egy afrikai populáció felnőtt tagjaiban a három genotípus a következő gyakorisággal fordult elő:

$Hb^A Hb^A$	605
$Hb^A Hb^S$	390
$Hb^S Hb^S$	5
Összesen	1000

1000 embert megvizsgálva milyen számokat kaptunk volna, ha teljesülnének a Hardy-Weinberg egyenlet érvényesüléséhez szükséges feltételek?

(6) Egy populációban megállapított genotípus-gyakoriságokat mutatja alább a táblázat. Döntsük el, hogy a megfigyelt gyakoriságok egyeznek-e elfogadható mértékben a Hardy-Weinberg egyenlet alapján várható értékekkel!

Milyen számítások alapján lehetne a kérdést eldönteni?

PUPress

Genotípus	Megfigyelt esetszám
AA	20
Aa	40
aa	40
összesen	100

(*7*) A feniltiokarbamid ízének érzéséért domináns allél felelős. Az ízérzők genotípusában legalább egy domináns *T* allél van. A nem ízérzők homozigóták a recesszív *t* allélre. Az alábbi táblázatban két populációban végzett felmérés eredményét adjuk meg.

a/ Számítsuk ki a recesszív allél q = f(*t*) gyakoriságát mindkét populáció esetében!

b/ Mindkét populáció vonatkozásában számoljuk ki, hogy az ízérzőknek milyen hányada lehet homozigóta!

Populáció	Fenotípusok		
	Ízérző	Nem-ízérző	Összesen
Harkovi és moszkvai oroszok	412	235	647
Singapuri malájok	199	38	237

(*8*) Egy populációban minden 10000 egyedből 1 albinó (genotípusa =*cc*). A populációnak milyen hányada lehet nagy valószínűséggel heterozigóta az albinizmusért felelős lokuszon? Szükség van-e a Hardy-Weinberg egyenlet alkalmazására a válasz megtalálásához?

(*9*) Humán populációkban a férfiaknak kb. 10%-a színtévesztő vagy színvak, mivel X-kromoszómáján egy recesszív mutáns allélt hordoz. Milyen gyakorisággal várható ez a fenotípus nőkben? Hogyan kell itt használni a Hardy-Weinberg egyenleteket?

(*10*) Ha egy X-hez kötött domináns jelleg a férfiak 60%-ánál megtalálható (*A*(Y) genotípus!), milyen arányban várhatjuk a jelleg előfordulását nők között? Alkalmazhatjuk-e a várható arányok kiszámítására a Hardy-Weinberg egyenleteket? Ha igen, hogyan?

(*11*) Tekintsünk egy X-hez kötött gént, melynek két allélje van: *B* és *b*. Ezek relatív gyakorisága p és q.

a/ Soroljuk fel a házaspárok tagjai genotípusainak hat lehetséges kombinációját, és az egyes kombinációk várható relatív gyakoriságát, feltételezve, hogy a párválasztás véletlenszerűen történik!

b/ Legyen p=2/5 és q=3/5. Melyik genotípus-kombináció lesz leggyakoribb a fenti példában?

DUPress

(*12*) Québec államban a francia-kanadaiak között az ABO vércsoportrendszert meghatározó allélek relatív gyakorisága nagyjából a következő: p=f(I^A) = 0,3; q= f(I^B) = 0,1 és r=f(i) = 0,6.

a/ A Hardy-Weinberg egyenletek alapján milyen relatív gyakorisággal várható az egyes ABO rendszerbeli vércsoportok előfordulása?

b/ Az A vércsoportúaknak milyen hányada lehet homozigóta, ha a Hardy-Weinberg feltételek ebben a vonatkozásban teljesülnek?

(*13*) Castle amerikai genetikus, Pearson és Yule angol matematikusok még a Hardy-Weinberg törvény általános érvényű matematikai bizonyítása előtt írtak le speciális eseteket, melyekben stabil allélegyensúly alakul ki. Pl. Yule a Mendel-féle F_1 nemzedék egymás közötti tovább szaporítását vizsgálta, amikor csupa heterozigóta (*Aa*) egyedből indul a tenyésztés.

Milyen fenotípus-arányok várhatók ebben az esetben egyensúly beállta után?

(*14*) Az Rh allélek szempontjából inkompatibilis (összeférhetetlen) az a házasság, melyben a nő Rh negatív (*rr*), a férfi pedig Rh pozitív (*R*•). Bizonyítsuk, hogy véletlen párválasztás esetén az inkompatibilis házasságok várható relatív gyakorisága $q^2(1-q^2)$, (ahol q=f(*r*)).

(*15*) Egy kutató azt találta, hogy egy adott népességben a vizsgált allélek vonatkozásában teljesülnek a Hardy és Weinberg által megszabott feltételek. Felmérése szerint ebben a népességben a vizsgált lokuszt tekintve kétszer annyi a homozigóta *BB* genotípusú egyed, mint a *Bb* heterozigóta. Számírtsuk ki az allélek relatív gyakoriságát!

(*16*) Próbáljuk meg igazolni, hogy egy domináns-recesszív allélpárt hordozó lokusz vonatkozásában véletlen párválasztást feltételezve azoknak a házasságoknak a gyakorisága, melyekben a pár mindkét tagja domináns fenotípusú (*AA*×*AA*, *AA*×*Aa* és *Aa*×*Aa*) f(dom · dom)=$(1-q^2)^2$ formára egyszerűsíthető!

Válaszok

(*1*)

Populáció	Fenotípus		
	M	MN	N
Pima indiánok	0,49	0,42	0,09
Busmanok	0,36	0,48	0,16
Ámisok	0,25	0,50	0,25
Polinéziaiak	0,16	0,48	0,36

(*2*) a/0,81 0,18 0,01

b/$(0,99)^{40}$=0,67

(zsebszáológépen a logaritmusok segítségével vagy jobb gépen hatványozással számolható ki.)

(3) A genotípus-gyakoriságok ugyanazok, mint a 2. kérdésben számítottak.

a/ $2 \cdot (0,99) \cdot (0,01) = 0,0198 = 1,98\% \approx 2\%$

b/ $(0,99) \cdot (0,01) = 0,0099 = 0,99\% \approx 1\%$

c/ $18/99 \approx 18\%$

(4) a/ $p = f(M) = (82+38)/200 = 0,6$

$q = f(N) = (42+38)/200 = 0,4$

Ennek kiszámításához nincs szükség a Hardy-Weinberg egyenletekre. Közvetlenül a kapott adatokból számolható.

b/ $f(MM) = p^2 = 0,36$; $f(MN) = 2pq = 0,48$ és $f(NN) = q^2 = 0,16$

(5) $p = f(Hb^A) = (1210 + 390)/2000 = 0,80$; $q = 1-p = 0,20$ (vagy $q = f(Hb^S) = (390+10)/2000 = 0,20$)

Genotípusok	Várt relatív gyakoriság	Várt esetszám
$Hb^A Hb^A$	$p^2 = 0,64$	640
$Hb^A Hb^S$	$2pq = 0,32$	320
$Hb^S Hb^S$	$q^2 = 0,04$	40
Összesen	1,00	1000

(6) $p = (40 +40)/200 = 0,4$; $q = 1-p = 0,6$

Genotípus	Talált esetszám	Várható esetszám	Eltérés
AA	20	16	4
Aa	40	48	-8
aa	40	36	4
Összesen	100	100	0

$\chi^2 = 16/16 + 64/48 + 16/36 = 2,8$

(kevesebb, mint az 5%-os szignifikancia szintnek megfelelő $\chi^2 = 3,8$ érték. Ez azt jelenti, hogy ilyen és ennél is nagyobb mértékű eltéréseket a várható értékektől az esetek közel 10%-ában csak a véletlen játéka egymagában is eredményez.)

(7) a/ A Hardy-Weinberg egyenletekkel számolva az orosz populációban $q = \sqrt{235/647} = 0,60$, a maláj népességben $q = \sqrt{38/237} = 0,40$

DUPress

b/

Populáció	f(*TT*)	f(*Tt*)	Összes ízérző	Homozigóta ízérző/összes ízérző
oroszok	0,16	0,48	0,64	16/64=0,25
malájok	0,36	0,48	0,84	36/84=0,43

(*8*) A Hardy-Weinberg egyenletekkel számolva q=f(*c*) = $\sqrt{1/10000}$ = 1/100, p = 1-q = 99/100.

A heterozigóták aránya a populációban f(*Cc*) = 2pq = 198/10000 = 0,0198 = 1,98%.

(*9*) $(1/10)^2 = 1/100 = 1\%$.

(*10*) p = f(*A*) = a férfiakban észlelt relatív gyakoriság = 0,6. Nők esetében a másodfokú Hardy-Weinberg egyenlet segítségével számíthatjuk ki a domináns fenotípusok arányát: f(dom) = F(*AA*) +f(*Aa*) = $p^2 + 2pq = 1-q^2$. Esetünkben $1-q^2 = 0,84 = 84\%$.

(*11*)

a/ Házasságok

Férfi genotípusa	Nő genotípusa	Gyakoriság
BY	*BB*	$p \cdot p^2=p^3$
BY	*Bb*	$p \cdot 2pq=2p^2q$
BY	*bb*	$p \cdot q^2=pq^2$
bY	*BB*	$q \cdot p^2=p^2q$
bY	*Bb*	$q \cdot 2pq=2pq^2$
bY	*bb*	$q \cdot q^2=q^3$

b/ a *bY* és *Bb* házasságok gyakorisága tehát f(*bY*x*Bb*) $=2pq^2 = 2 \cdot (2/5) \cdot (3/5)^2 = 36/125$

(*12*) a/

$f(A) = 0,3^2 + 2 \cdot 0, 3 \cdot 0,6 = 0,45$

$f(B) = 0,1^2 + 2 \cdot 0,1 \cdot 0,6 = 0,13$

$f(AB) = 2 \cdot 0,3 \cdot 0,1 = 0,06$

$f(0) = 0,6^2 = 0,36$

b/ $0,3^2/0,45 = 9/45 = 0,2$

DUPress

(*13*) Az egyedek 3/4 része domináns és 1/4 része recesszív fenotípusú, mivel p = q = 0,5 és $p^2 + 2pq$ = a domináns fenotípus, q^2 = a recesszív fenotípus létrejöttének valószínűsége.

(*14*) Mivel Rh-negatívok előfordulásának valószínűsége a nők között $P(rr) = q^2$ és az Rh-pozitívok előfordulása a férfiak között

$$P(RY) = p^2+2pq = 1-q^2,$$

házasságuk valószínűsége előfordulásuk valószínűségének szorzatával egyenlő: $q^2(1-q^2)$.

(*15*) Matematikai formában leírva az állítást: $p^2 = 2(2pq) = 4pq$. Az egyenlőség mindkét oldalát osztva p-vel kapjuk a $p = 4q$ egyenlőséget.

$p = 4(1-p) = 4-4p$

$5p = 4 \rightarrow p = 4/5 = 0,8$.

(*16*)

Házasságot kötők genotípusa	Adott genotípusuak házasságának gyakorisága
$AA \times AA$	$p^2 \cdot p^2 = p^4$
$AA \times Aa$	$2xp^2 \cdot 2pq = 4p^3q$
$Aa \times Aa$	$2pq \cdot 2pq = 4p^2q^2$

A gyakoriságok összege = $p^2(p^2+4pq+4q^2) = p^2(p+2q)^2$

Ha p helyett 1-q kifejezést írunk (ui. a kettő egyenlő) kapjuk a következő kifejezést:

$\Sigma f(\text{A-fenotipus}) \cdot f(\text{A-fenotipus}) = (1-q)^2(1+q)^2 = [(1-q)(1+q)]^2 = (1-q^2)^2$.

DUPress

20. FEJEZET

BELTENYÉSZET ÉS IZOLÁTUMOK

Rokonok és utódaik

Unokatestvérek
Beltenyészet (Endogámia)

A beltenyészettség fokának mérése családfa vizsgálatok alapján

Közös őstől származó azonos allélek
A beltenyésztettségi koefficiens kiszámítása
Bonyolultabb családfák

A beltenyésztés hatásai

Egyes recesszív bélyegek felhalmozódása
Egészségi és halálozási adatok
Első unokatestvérek házasságából származó utódok prognózisa

Izolátumok

Recesszív betegségek az ámis szekta tagjai között
Beltenyészés a hütteriták körében

A biblia szerint az Úr Mózeshez szólva megtiltotta a szexuális kapcsolatot közeli rokonok között. A bibliai tiltás valószínűleg azt jelenti, hogy tudták, az ilyen kapcsolatok következményei nem kívánatosak sem biológiai, sem társadalmi szempontból. Bár néhány faj sikeresen szaporodik közeli rokon egyedek párosodásával – egyesek akár önmegtermékenyítéssel is –, más fajoknál ez messze nem ilyen sikeres. Humán populációkban a közeli rokonok házasságából származó utódok általában nem olyan egészségesek, mint a nem rokonok házasságából születettek.

DUPress

Rokonok és utódaik

Két ember akkor rokona egymásnak, ha van egy vagy több közös ősük. A testvérek természetesen rokonok, hisz apjuk is, anyjuk is közös. Más rokonok esetében a közös ős a szülőknél korábbi nemzedékben élt.

UNOKATESTVÉREK

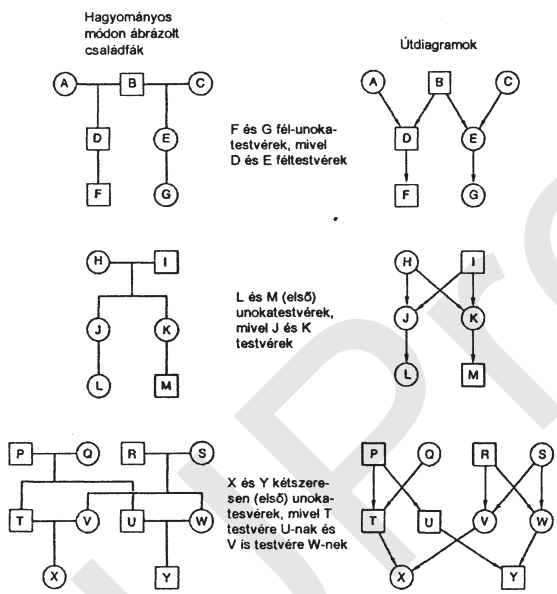
A nyugati civilizációkban az oldalági rokonságot testvér, unokatestvér, nagynéni–nagybácsi, unokaöcs–unokahúg fogalmakkal és az ezek jelentését tovább pontosító jelölések segítségével nevezzük meg. Pl. ha csak egyik szülő közös: féltestvér, ha azonos egy nagyszülőpár: első unokatestvér, abban a ritka esetben, ha pl. egy családban a férj testvére a feleség testvérével kötött házasságot, a két házaspár gyermekei duplán első unokatestvérei egymásnak; féltestvérek gyermekei fél–első unokatestvérek, első unokatestvérek gyermekei másod-unokatestvérek, stb. Magyarban nincs megfelelő név a nemzedékbeli eltéréssel jellemezhető oldalági rokonsági fok jelölésére, ezt csak körülírni tudjuk.[1] A fogalmakat a 20.1. ábra szemlélteti. Mint látható, kétféleképpen is ábrázolható a rokonsági kapcsolat. Egyik a családfák ábrázolásában megszokott jelölési mód, a másik esetben minden utódot egyenes vonallal kötünk össze a szülővel, akinek petesejtje ill. spermiuma egyesüléséből származik, azaz a gaméták útját rajzoljuk fel.

Némelyik humán izolátumban jóval több közös őst tudunk azonosítani egy-egy egyed vonatkozásában, öt-hat generációra visszatekintve (20.2. ábra). Természetesen, ha sokkal több generációval megyünk vissza időben, kiderül, hogy mindannyian rokonai vagyunk egymásnak. Mindannyiunknak két szülője van, nekik is 2–2 szülőjük volt, tehát 4 nagyszülőnk van/volt, ezt a logikát követve 8 dédszülőnk, 16 ük-szülőnk, stb. kellett legyen. Általánosítva **n** generációt visszafelé haladva 2^n ősszülőnk kellett legyen, akiktől származunk. Azaz őseink száma exponenciálisan növekszik, ahogy haladunk az időben visszafelé. Mivel régebben adott területen kevesebben éltek, a nem is nagyon távoli múltban szüleinknek több őse is közös kellett legyen. Különösen növeli ennek valószínűségét,

[1] Angolban a *removed* (eltávolodott, távolabbi) kifejezéssel jelzik, hogy nemzedékbeli eltérés van: pl. „*first cousin once removed*" az első unokatestvér gyermekét jelenti, a „*first cousin twice removed*" az unokáját, stb.

hogy a populáció egy nem jelentéktelen hányadának néhány generáció után nem maradnak utódai. (Egyes becslések szerint csak a populációt alkotó egyedek kb. felének maradnak hosszabb távon leszármazottai.)

Az ún. „mitokondriális Éva", akitől női ágon valamennyien származunk, kb. 250-300 ezer éve élt. – A női ágon származás úgy értendő, hogy ehhez az ősanyához csupa lány utódokon keresztül köt hozzá mindannyiunkat egy leszármazási sor, melyet nem szakított meg egyszer sem csupa fiú utódok szülése – ui. minden utód csak az anyától örököl mitokondriumot.



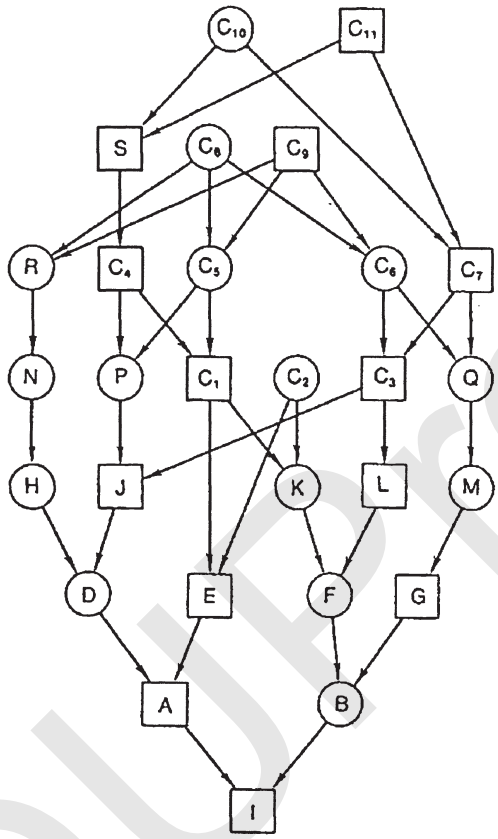
20.1. ábra. *Fél, szabályos, és kétszeres unokatestvérek.* Az útdiagramon minden szülőt egyetlen, el nem ágazó vonal köt össze minden gyermekével. A rokonsági fok nem függ az egyének nemétől.

BELTENYÉSZET (ENDOGÁMIA)

A közös őstől származó egyedeket, kiemelendő a rokonság biológiai természetét, „vérrokonok"-nak szokás nevezni (annak ellenére, hogy ma tudjuk, az ilyen rokonokban nem a vér az, ami közös, hanem egy sor allél azonos, melyeket a közös őstől örököltek). A vérrokonok házasságából született utódokat egy, a növény– és állatnemesítésből kölcsönzött szóval beltenyésztettnek v. beltenyészetnek mondjuk. A beltenyészettség mértéke attól függ, mennyire közeli rokonai egymásnak a szülők. A humán népesség általában nem nagymértékben beltenyészett és a vérrokonok házassága a világ nagy részén csökkenőben van. A rokonházasságok esetén számítani tudjuk a beltenyészettség mértékét és ennek várható hatását az utódokban. Minél távolabbi a rokonság a házastársak között,

PUPress

annál inkább elhanyagolhatóvá válik hatása az utódokra: első unokatestvérek esetén a hatás jelentős, másod-unokatestvérek esetén kicsi, távolabbi rokonság esetén rendszerint elhanyagolható.



20.2. ábra. *Egy egyed származásának útdiagramja egy, az USA és Kanada nyugati síkságain élő vallási izolátumban (hütteriták).* Az útdiagram számos rokoni kapcsolatot mutat **A** és **B** házastársak között, akiknek **I** a gyermeke. **A** és **B** közös őseit C_1-től C_{11}-ig indexelt betűk jelölik. Más, nem közös ősök jelölésére az ABC többi betűjét használjuk, indexelés nélkül. A házastársak közötti rokoni kapcsolatok közül a legközelebbi rokonsági fokot az jelenti, hogy **B** **A** első unokatestvérének a gyermeke (ebben C_1 és C_2 a közös ősök). Emellett **A** és **B** egymásnak fél-másodunokatestvérei (C_3) és/ill. kétszeresen harmadunokatestvérek (C_4 és C_5 ill. C_6 és C_7 közös ősök által). Ezeken kívül több még távolabbi rokonsági kapcsolat is kimutatható közöttük a C_8, C_9 és C_{10}, C_{11} közös ősök révén. Meglepő, hogy **A** és **B** a többszörös rokoni kapcsolat ellenére kevésbé közeli rokonok, mintha első unokatestvérek lennének.

A beltenyésztés (angolul *inbreeding*) önbeporzásra képes növényekben maximális mértékű. Maga Mendel is foglalkozott a kérdéssel kerti borsó vonatkozásában. Feltételezte, hogy monohibrid-keresztezés F_2 nemzedékéből indulunk, melyben az *AA*:*Aa*:*aa* genotípusok aránya 1:2:1, vagyis az egyedek fele heterozigóta. Ha egyszerűség kedvéért növényenként 4 maggal számolunk, az első önbeporzás után a 2 heterozigóta 8 magvából 4 heterozigóta és 2-2 homozigóta – két AA és két aa – lesz, a homozigóták csak homozigóta utódokat hoznak létre. Ennek következtében az *AA*:*Aa*:*aa* genotípusok aránya 6:4:6 lesz. Folytatva és táblázatba foglalva a számolást:

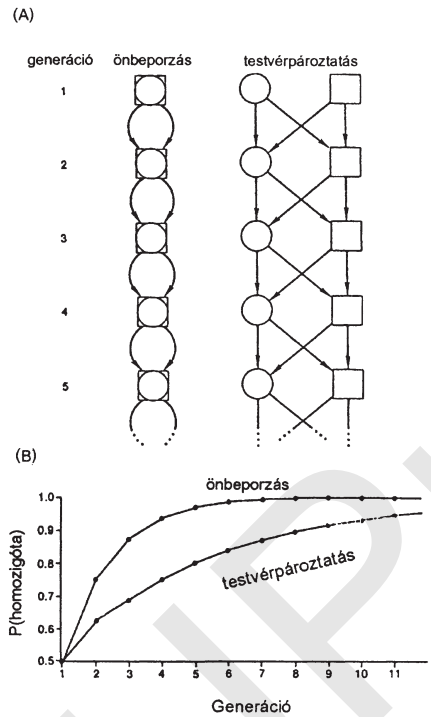
nemzedék	genotípusok, és az egyes genotípusokhoz tartozó utódok száma			heterozigóták előfordulási valószínűsége
	AA	***Aa***	***aa***	
1	1	2	1	2/4 = 1/2
2.	6	4	6	4/16 = 1/4
3.	28	8	26	8/64 = 1/8
4.	120	16	120	16/256 = 1/16
⋮				⋮
n				$= (1/2)^n$
a nagy **n** határértéke:				0

Azaz az önbeporzással történő beltenyésztés során exponenciálisan csökken a heterozigóták, és nő a homozigóták várható gyakorisága (20.3. ábra). Ez az arányváltozás minden beltenyésztésre igaz, csak a változás mértéke más és más attól függően, milyen közeli rokonai egymásnak a szülők. Emberben és más váltivarú fajokban a legnagyobb fokú beltenyészettséget a szülő-gyermek, és fivér–nővér közötti utódnemzedék eredményezheti. Emberi populációkban az ilyen szexuális kapcsolatot a törvény is tiltja és szigorúan bünteti. A jog „vérfertőzés" (latinul: *incestus*) szóval külön meg is nevezi ezt a bűntettet.[2]

Az *incestus* tilalma feltehetően már a történelmi idők előtt kialakult az emberi közösségekben. A vallások előírásaiban csaknem teljesen általános a tilalma. Ez segített a minimumra visszaszorítani az utódok beltenyésztettségéből adódó károsodását és stabilizálni a családokat. Mivel az *incestus* egy család tagjait érinti és mivel csaknem mindig bűntudatot és szégyenérzetet kelt, ritkán beszédtéma, és gyakorisága egy–egy népességben többnyire nem ismert. Voltak olyan kultúrák és történelmi időszakok, amikor a

[2] Szűkebb értelemben *incestus*-nak számít a heteroszexuális kapcsolat testvérek, ill. féltestvérek között a pubertas utáni életkorban, a szülő–gyermek, a nagyszülő–unoka szexuális kapcsolat. Ezekből nagy fokban beltenyészett utódok származhatnak. A társadalomtudósok szélesebben értelmezik az *incestust*, beleértve a felnőttek – különösen a mostohaszülők, mostohatestvérek, vagy hasonló módon rokonok – fiatal gyermekkel létesített kapcsolatát is, melyből nem szükségképen származik utód. Ez esetben a lelki károkozás a fő ártalom.

fivér-nővér házasságot kívánatosnak tartották és megkövetelték a királyi családokban, de a köznép körében nem helyeselték az ilyen kapcsolatokat. Pl. az egyiptomi királynőnek, Kleopátrának volt egy fivér-nővér frigyből született gyermeke (a 20.4. ábrán nem szerepel).

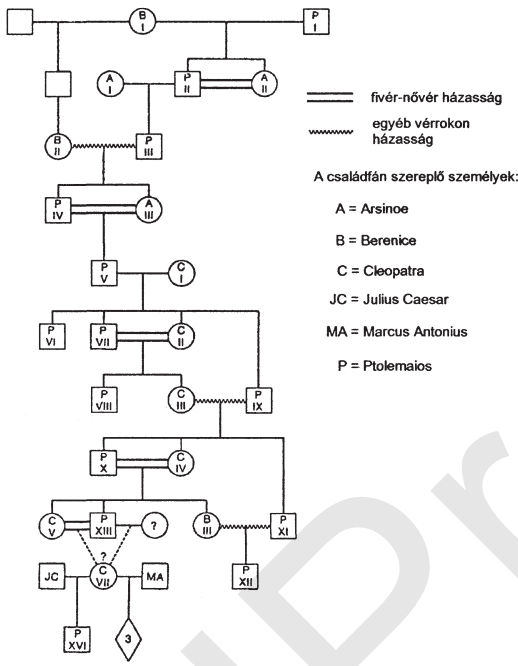


20.3. ábra. [A]: *Sorozatos önbeporzás (növények) és testvérpároztatás (állatok) útdiagramjai.* Figyeljük meg, hogy utóbbi esetben minden egyednek két szülője, csak **két** nagyszülője (!), csak **két** dédszülője(!) van, és így tovább. [B]: *A homozigóta állapot valószínűségének növekedése a nemzedékek során önbeporzással, ill. testvérpároztatással történő szaporítás esetén.* A számítás abból kiindulva történt, hogy az első generációban szereplő egyed ill. testvérpár véletlen párválasztással szaporodó, nagy létszámú populációból származik, melyben az egyes lokuszokon két–két allél található és ezek azonos valószínűséggel fordulnak elő.

A genetikusok testvér-pároztatások sorozatával állítottak elő beltenyésztett törzseket kukoricából, muslicából, egérből és más élőlényekből, ill. önbeporzással arra alkalmas növényekből. A beltenyésztett törzsek tagjai a lokuszok csaknem mindegyikére homozigóták, és genotípusuk annyira egyforma, mintha egypetéjű ikrek lennének. Ez az állapot önbeporzással gyorsan (6-10 nemzedék), testvér-pároztatással kicsit lassabban (kb. 20 nemzedék) érhető el. Hogy milyen allélekre válik homozigótává egy–egy vonal, a véletlen dönti el, de annak a valószínűsége, hogy az egyed bármely vizsgált lokuszra homozigótává válik, minden nemzedékben nő, és véges (nem is túlzottan nagy) számú nemzedéken belül megközelíti a bizonyosságot.

Emberi társadalmakban az első unokatestvérek közötti házasságok jelentik a közelebbi rokonok közötti házasságok leggyakoribb esetét. Ebben az is szerepet játszhat, hogy az unokatestvérek földrajzilag is, életkor tekintetében is közel vannak egymáshoz, és családjuk is jól ismeri egymást. Az első unokatestvérek házasságának gyakorisága rend-

szerint jóval kisebb az összes házasság 1%-ánál, bár némelyik kultúrkörben ennél gyakoribb.[3]



20.4. ábra. *A Ptolemaiosz–dinasztia családfájának részlete.* (Egyiptom királyai, azaz fáraók voltak *i.e.* 323 és *i.e.* 30 között. Alexandria szellemi teljesítményében és kereskedelmében az első három Ptolemaiosz idején élte virágkorát.) A dinasztia élete gyakran zavaros volt: intrikák, családon belüli erőszakos események és háborúk jellemezték. Az irodalomból is ismert Cleopatra, – Julius Caesar és Marcus Antonius kedvese, – a családfán **C VII** jelzéssel szerepel. Nem tudjuk biztosan, hogy testvérházasságból született–e vagy sem. A dinasztia hagyományai szerint öccse (féltestvére) házastársa kellett volna legyen, de öccse korábban meghalt háborúban. Másik fivérétől (féltestvérétől) méreg segítségével szabadult meg. Julius Caesartól született fia, XVI. Ptolemaios volt a dinasztia utolsó férfi tagja.

A beltenyészettség megítélése a családfák vizsgálatával

Rokonok házassága, akár társadalmi szokásokból származik és rendszeres, akár véletlen eseményként adódik és rendszertelen, növeli a homozigóta állapot létrejöttének valószínűségét a beltenyészett utódokban. A valószínűség növekedése kiszámolható a szokásos családfák alapján is, vagy még könnyebben a leszármazási út diagramjából.

Egy egyed egy vizsgált lokuszra természetesen homozigóta lehet akkor is, ha nem beltenyészett. A Hardy-Weinberg egyenletek értelmében, véletlen párválasztás esetén a

[3] Ma a japán kisvárosokban az első unokatestvérek házassága az összes házasságnak kb. 2-3%-át teszi ki. Egy generációval korábban sokkal gyakoribb volt (5-15%).

DUPress

homozigóták aránya a populációban $P(homozigóta) = p^2+q^2$. A beltenyészettségből származó homozigótaság ezen felül, többletként jelentkezik. Ez a többlet homozigóta–gyakoriság az, ami megnöveli annak valószínűségét, hogy a beltenyészett egyedekben a nem kívánatos hatások jeletkeznek. (Ne feledkezzünk meg arról, hogy a beltenyésztés nem egyetlen, hanem nagyon sok lokusz vonatkozásában növeli a homozigótaság valószínűségét (azaz a genom jelentős hányadát érinti, nemcsak egy-egy allélt, hanem annak hatását befolyásoló genetikai rendszereket is!).

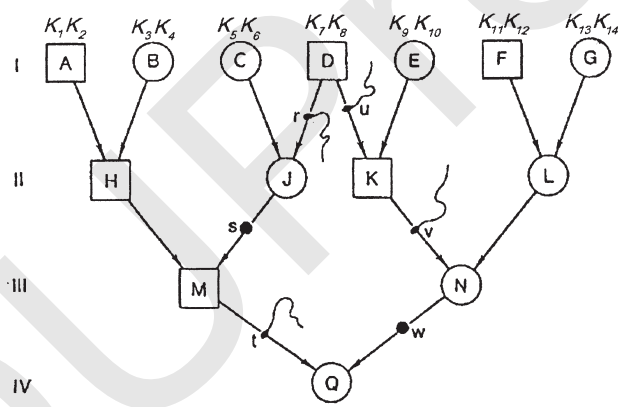
A homozigótaság valószínűsége azért is növekszik ritkán előforduló allélekre is, mert ha az megvolt a közös ősben, előfordulhat, hogy a házaspár mindkét tagja örökölte azt és heterozigóta erre az allélre. Ilyen módon utódjuk homozigótává válhat nagyon ritka, káros hatású recesszív génekre is – olyanokra, melyek a rokonházasságokból születetteket leszámítva, szinte soha nem fordulnak elő homozigóta állapotban.

KÖZÖS ŐSTŐL SZÁRMAZÓ AZONOS ALLÉLEK

Hogy konkrétabbá tegyük a kérdés vizsgálatát, tekintsük át egy példa segítségével. Vegyük az alkaptonúria esetét, melynek lokuszához kétféle allél, *K* és *k* tartozik, gyakoriságuk legyen *p* és *q*. Az alkaptonúriások homozigóták, *kk* genotípusúak. Közülük azok, akik nem rokonházasságból születtek (legalábbis a belátható múltban nem találunk közös őst) rendszerint két különböző eredetű, egymástól független *k* allélre homozigóták. Az egymástól független *k* allélek annak ellenére, hogy a fenotípusra kifejtett hatásuk egyezik, más–más ősben külön–külön végbemenő mutáció eredményeként jöttek létre. Ha bázissorrendjüket meghatároznánk, köztük valószínűleg különbséget találnánk.

A beltenyészett alkaptonúriások (akiknek szülei rokonok) esetében is előfordulhat, hogy egymástól független eredetű *k* allélre homozigóták. Mégis, mivel szüleiknek egy vagy több közös őse volt, annak is meg van az esélye, hogy egymással tökéletesen azonos *k* alléleket örököltek, melyek ugyanannak az egyetlen, valamelyik közös ősben lezajlott mutációval létrejött recesszív allélnek a leszármazottjai, pontos másolatai. Ui. az ős, aki az allél őspéldányát hordozta, minden utódjának 0,5 valószínűséggel adhatta azt tovább. Esély van rá, hogy mindkét szülő örökölte ugyanazt a hibás allélt a közös őstől. Ezeket az alléleket, melyek nemcsak ugyanazt a polipeptidet kódolják, de a hibás nukleinsav-szakaszban is teljesen megegyeznek és időben kinyomozható közös eredetük, ***leszármazásuk szerint azonos allélek***nek nevezzük. A beltenyészett egyedek tehát két különböző módon is homozigóták lehetnek: egyrészt független eredetű recesszív allélekre, ugyanolyan eséllyel, mint az átlag népesség, másrészt két, leszármazás szerint azonos allélre. Bármelyik forma valósul is meg, az eredmény ugyanaz. Annak valószínűségét, hogy egy homozigóta egyedben a két allél leszármazás szerint azonos legyen, beltenyészettségi koeffi-

ciensnek (*coefficient of inbreeding*) nevezzük. A gondolatmenetet a 20.5. ábra szemlélteti. A Q-val jelzett nő M és N házasságából született, akik fél–első unokatestvérek, mivel nagyszüleik közül D nagyapa közös ősük. Egyszerűség kedvéért feltételezzük, hogy az I. generációban szereplő 7 személy (A–G) nem rokona egymásnak, és közülük senki sem beltenyészett. Minden személynek sajátos genotípusa van a **K** lokuszra. Ezek a genotípusok egyébként a ***KK***, ***Kk*** vagy ***kk*** genotípusok valamelyikébe besorolhatók, de most nem csak a fenotípust meghatározó fő sajátosságokra, hanem az esetleges apró egyediséget adó variációkra vagyunk kíváncsiak, amik alapján különbséget tehetünk a független eredetűek között. Ezért az alléleket index-számokkal megkülönböztetjük K_1–től K_{14}–ig. Q genotípusa a hét ősben előforduló 14 allél közül bármelyik kettő kombinációjából adódhat. Lehet K_3K_9 vagy K_7K_8 vagy K_7K_{11}, és így tovább. (Bármelyik kombináció jelenthet homozigóta vagy heterozigóta állapotot a ***K*** és ***k*** allélek vonatkozásában.) Ezekben az esetekben az állélpárok tagjai független eredetűek. Ez igaz még a K_7K_8 kombinációra is, mivel annak ellenére, hogy a közös nagyapában egymás mellett voltak, nincs azonos történetük. Külön utakon jártak mielőtt a közös nagyapában találkoztak és külön utakon jártak utána is, ezért függetlenek.



20.5. ábra. *Q gyermek származásának útdiagramja.* Q szülei fél-unokatestvérek, mivel mindketten **D** unokái (a másik nagyszülőjük nem közös). Az első nemzedék hét tagjában a két–két alkaptonúria lokuszon található 14 allélt K_1–K_{14} jelzéssel tüntettük fel. Ezek az allélek lehetnek egymással azonosak vagy különbözők, dominánsak vagy recesszívek, azonos fenotípusos hatás esetén is egyezhet vagy különbözhet nukleotidsorrendjük. A domináns hatású ***K*** allél normális, egészséges fenotípust eredményez, a recesszív hatású, mutáns ***k*** allél pedig homozigóta állapotban alkaptonúriát hoz létre. Jegyezzük meg, hogy Q–nak csak 7 dédszüleje van (nem 8!), mivel D kétszeresen dédszülője. Q ***beltenyészettségi együttható***ja, $f_Q = 1/32$.

DUPress

Ha Q genotípusa K_7K_7 vagy K_8K_8 akkor más a helyzet. Ebben a két esetben Q leszármazás szerint azonos allélekre homozigóta. Ez csak akkor fordulhat elő, ha a 20.5. ábrán *rst* és *uvw* utakon ugyanazon K_7 (ill. K_8) másolatai adódtak tovább a feltüntetett utódoknak. Jelöljük *f* betűvel a beltenyészettségi koefficienst (Q index jelezze a személyt, akire vonatkozik):

$$f_Q = P(\text{Q leszármazás szerint azonos allélekre homozigóta}) =$$
$$= P(Q : K_7K_7) + P(Q : K_8K_8)$$

A BELTENYÉSZETTSÉGI KOEFFICIENS KISZÁMÍTÁSA

Annak valószínűsége, hogy Q K_7K_7 homozigóta legyen, ugyanakkora, mint annak, hogy K_8K_8 legyen a genotípusa. Így elég egyiket számolni. Az allélpárok meióziskor véletlen szétválása és megtermékenyítéskor véletlen találkozása következtében a t gamétának a $K_7 - K_8$ allélek bármelyikének hordozására ugyanakkora volt az esélye. Így $P(t:K_7)=P(t:K_8)=1/8$. Hasonló gondolatmenettel a w gaméta egyforma eséllyel hordozhatta a $K_7 - K_8$ allélek bármelyikét. $P(w:K_7)=P(w:K_8)=1/8$. Annak valószínűsége, hogy azonos allélt – pl. K_7-t – hordozó gaméták egyesüljenek, előfordulásuk valószínűségének szorzatával egyenlő:

$$P_{(Q:K7K7)} = 1/8 \times 1/8 = 1/64$$

K_8K_8 genotípus kialakulásának valószínűsége is ugyanakkora.

Tehát

$$f_Q = 1/64 + 1/64 = 1/32$$

Ez azt jelenti, hogy a Q-nak kb. 3% esélye van arra, hogy leszármazás szerint azonos alléleket örököljön egy lokuszon. Ennek keretében lehet homozigóta akár *K*, akár *k* allélre. Mivel a *k* allél sokkal ritkább, mint a *K* allél, ezért a *kk* homozigóta állapot valószínűsége is sokkal kisebb, mint a *KK* homozigóta állapoté. A későbbiekben bemutatjuk, hogy ritka recesszív betegségeknél a homozigóta állapot valószínűségének rokonházasságokból születetteknél mutatkozó többlete sokszorosan meghaladja a nem rokon heterozigóták véletlen összetalálkozásából adódó, Hardy-Weinberg egyenletnek megfelelő valószínűséget.

A beltenyészettségi koefficiens számításának választhatjuk egy másik, általánosabb útját is. Ez az út alkalmazható bármilyen családfára, akár bonyolultabb esetekre is. Ebben az eljárásban meghatározunk egy öröklődési hurkot, mely folyamatosan és a legrö-

videbb úton halad nemzedékről nemzedékre visszafelé a családfán, a vizsgált egyedtől a szülők közös őséig, majd a másik ágon hasonló módon a közös őstől a vizsgált egyedig. Az indulásnál az első számolt egyed az egyik szülő, utolsó a másik ágon a másik szülő.

Esetünkben ***Q*** vonatkozásában a hurok a ***M–J–D–K–N*** utat járja be, a vizsgált személyt sem induláskor, sem visszaérkezéskor nem számoljuk, csak az elődöket. A hurok által összekötött elődök számát jelöli az ***n*** (esetünkben n=5). A beltenyészettségi koefficiens a ***Q*** egyedre számítva

$$f_Q = (1/2)^n = (1/2)^5 = 1/32$$

Ugyanazt az eredményt kaptuk, mint az előbb, de lépésről–lépésre, konkrétabb formában következtetve.

Az eljárás helyessége egyszerűen igazolható. Nézzük a gamétákat, melyek valamelyik ős létrehozásában szerepeltek és amelyek a hurokban szereplő utódhoz vezettek tőle. Példaként válasszuk ***M***-et, ***Q*** apját. ***M*** létrehozásában az **s** gaméta szerepelt, ***M***–ből a **t** gaméta vezet ***Q***-hoz. A ***K*** lokuszt vizsgálva annak a valószínűsége, hogy a ***t*** gaméta az ***s*** gamétában szereplő allél másolata és ugyanennyi annak, hogy a másik gamétában jött allélé. Használjuk a másolat jelölésére az azonossági jelet (≡), és írjuk fel segítségével az előbbi állítást: $P(t \equiv s)=1/2$. Ugyanezt a megfontolást alkalmazhatjuk a hurokban szereplő minden gamétára, pontosabban az általuk hordozott allélre. Minden gaméta esetén 1/2 a valószínűsége annak, hogy a szülő egyik vagy másik alléljét viszi tovább. Így a közös őstől indulva $P(r \equiv u)=1/2$. A gondolatmenetet folytatva, a hurokban minden lépésben 1/2 a valószínűsége annak, hogy a szülőt gyerekével összekötő gaméta ugyanazt az allélt vigye tovább. Ebből következik, hogy

$$f_Q = P(t \equiv s) \times P(s \equiv r) \times P(r \equiv u) \times P(u \equiv v) \times P(v \equiv w) = (1/2)^5$$

BONYOLULTABB CSALÁDFÁK

Emberi családfák esetében háromféle bonyodalom módosíthatja az $f=(1/2)^n$ képletet. Tekintsük át ezeket röviden:

Egynél több közös ős. Első unokatestvérek esetében nem egy, hanem két közös ős van, a közös nagyapa és nagyanya. Az utódok adott lokuszon hordozhatnak leszármazás okán azonos alléleket egyik vagy másik közös őstől, de nem mindkettőtől. Ez azt jelenti, hogy két hurok van a leszármazásban, és az ezek alapján számított valószínűségek összege adja a koefficienst:

DUPLICATE

$$f = \sum_{i} (1/2)^n$$

azaz minden közös ősre ki kell számolni külön-külön a valószínűségeket és ezeket össze kell adni.

Egy közös ős több hurokban is szerepel. Néhány családfán egy beltenyészett egyed ősei közt van olyan is, aki több huroknak is összekötő láncszeme. Külön huroknak kell számítani minden olyan hurkot, amelyek legalább egy ősben különböznek egymástól. Ez azt jelenti, hogy a számításokat nem az egyes közös ősökre kell elvégezni, hanem minden hurokra külön-külön ki kell számolni és ezek eredményét kell összegezni.[4]

Közös ős, aki maga is beltenyészett. További módosítást tesz szükségessé a koefficiens számításában, ha a közös ős maga is beltenyészett. Erre a 20.3. ábrán találunk példát. III. Cleopatra beltenyészettségi koefficiensét számolva figyelembe kell vennünk, hogy szüleinek közös apja, V. Ptolemaios maga is beltenyészésből származik, mivel fivér–nővér házasságból született. (Akinek kedve van, megpróbálhatja a családfának ezt a részletét útdiagram formájában újrarajzolni, hogy jobban szembetűnjenek a rokonsági viszonyok.)

Egy beltenyészett egyedben a beltenyészettség mértékétől függő valószínűsége van annak, hogy két leszármazásilag azonos allélt hordozzon egy vizsgált lokuszon. A valószínűség a számított koefficiensnek megfelelő. Az azonos allélek miatt nő annak a valószínűsége, hogy mindkét ágon ugyanazt az allélt örökölje egy beltenyészett utód.[5]

Összegezve: a beltenyészettségi együttható annak valószínűségét méri, hogy származásilag azonos allélek hozzák létre a homozigóta állapotot (azaz ezek az allélek nemcsak funkcionálisan egyenértékűek egymással, hanem a közös ős adott lokuszon lévő két allélje közül ugyanannak az egynek a másolatai is). Első unokatestvérek házasságából származó utódok esetén ez a valószínűség 1/16. Ez azt is jelenti, hogy ezek az utódok 16 lokusz közül átlagosan 1 lokuszon ilyen típusú homozigóták, azaz teljesen azonos alléleket hordoznak.

---

[4] Gyakran előfordul, hogy a leszármazás túlságosan is szövevényes és szemmel nem könnyű észrevenni minden egyes hurkot. A nagyon bonyolult családfákat célszerű számítógépen elemezni, azt nem zavarja az egyhangúság és nem fárad.

[5] Az azonos allél továbbadásának valószínűsége $\frac{1}{2}+\frac{1}{2}f_C$ (f_C a közös ősre számított koefficiens). Ebből a korrigált számítási mód: $f = \sum(1/2)^n \cdot (1 + f_C)$, ahol az n minden hurokban más és más lehet.

A beltenyésztés hatásai

Hogy a beltenyésztés hatása jó vagy rossz, az attól függ, hogy a kialakuló homozigóta állapotok hatása kedvező vagy kedvezőtlen. Beltenyésztett állattörzsek esetében (ahol végső soron a véletlenre is épülő mesterséges kiválasztás érvényesül) nem feltétlenül romlik az életképesség, egészen jól sikerült kombinációk is vannak. Mivel szép számmal vannak nem kívánatos hatású allélek, nem kicsi annak az esélye, hogy ezek kerülnek homozigóta állapotba. Az emberi fajra az jellemző, hogy általában nem rokonok, vagy csak távoli rokonságban lévők kötnek házasságot. A beltenyészés gyakran vezet beteg, csökkent életképességű utódok születéséhez. Ezt a hatást mérhetjük egy-egy lokuszra vonatkozóan, melyhez ismert fenotípusos elváltozás tartozik – mint pl. az alkaptonúria, – vagy mérhetjük a gének összességére vonatkozóan az általános egészségi állapotot jellemző adattal.

EGYES RECESSZÍV BÉLYEGEK FELHALMOZÓDÁSA

Egy olyan populációban, melyben a párválasztás véletlen és más Hardy–Weinberg feltételeknek is megfelel, mint azt kimutattuk, a recesszív fenotípusú egyedek várható gyakorisága q^2 (q a recesszív allél gyakorisága). Alkaptonúria vonatkozásában a **k** allél gyakorisága q=1/500. Véletlen párválasztás esetén a homozigóták születésének valószínűsége $q=(1/500)^2=4\times10^{-6}$

Az alkaptonúria várható gyakorisága rokonházasságokból született utódokban. Fél–első unokatestvérek házassága esetén a született gyermekekre a beltenyészettségi együttható értéke $f_Q=1/32$.

Két eset lehetséges:

I. Az utód két származásilag azonos allélt hordoz, ennek valószínűsége:

1/32

II. Az utód alléljei származásilag nem azonosak, ennek valószínűsége:

31/32

Az első esetben a származásukban azonos allélek lehetnek dominánsak, vagy recesszívek, de minden esetben azonosak (homozigóta az utód). Egyiknek ill. a másiknak a valószínűsége a domináns ill. recesszív allél gyakoriságával arányos. A példaként ismertetett alkaptonúria génje esetén a ***k*** allél előfordulási aránya q=1/500, a domináns allélé p=1−1/500. Az esetek 31/32 hányadában az utód független származású alléleket örököl

az adott lokuszon, így lehet akár homozigóta, akár heterozigóta. Az egyes genotípusok aránya – pontosabban létrejöttének valószínűsége – a Hardy-Weinberg egyenletből számítható. Ebből adódóan $(1/500)^2$ valószínűséggel várhatók homozigóta recesszív utódok.

Rokonházasságokból született utódok kétféleképpen lehetnek homozigóta recesszívek. A két valószínűség összege adja a homozigóták születésének valószínűségét:

$$P(kk)_{összes} = q \cdot (\text{az I eset valószínűsége}) + q^2 \cdot (\text{a II. eset valószínűsége}) =$$
$$= (1/500) \cdot (1/32) + (1/500)^2 \cdot (31/32)$$
$$P(kk)_{összes} = 66.4 \cdot 10^{-6}$$

A gyakoriságok összehasonlítása rokonházasságok és véletlen párválasztás esetén. Vegyük észre a fenti példában, hogy rokonházasságból született, tehát beltenyészett utódok esetén a homozigóta recesszív állapot létrejöttének valószínűsége sokszorosa a nem rokonházasságokból származó utódokra a Hardy-Weinberg egyenlet alapján számított valószínűségnek. Példánkban a 66.4×10^{-6} érték kb. 17× nagyobb a 4×10^{-6} értéknél. A fél–első unokatestvérek házasságából született gyermekeknél is elég ritka ez a betegség, de a többlet a véletlen előforduláshoz képest még mindig többszörös. Ez igaz minden más ritka recesszív allélre is: minél ritkább egy allél, annál szembetűnőbb a homozigóták beltenyészetben való halmozódása.

A beltenyészett népességekben a homozigóták létrejöttének valószínűségét két paraméter határozza meg: ***q***, a recesszív allél relatív gyakorisága (ill. előfordulásának valószínűsége), és ***f***, az utódokra vonatkozó beltenyészeti együttható. A legáltalánosabb formában felírva az **a** allélre homozigóta állapot létrejöttének valószínűségét:

$$P(aa) = q \cdot f + q^2 \cdot (1-f)$$

Ez lépésről–lépésre azonos az alkaptonúria valószínűségének kiszámítására használt konkrét eljárással. Ezzel a módszerrel alkalmazni tudjuk a Hardy–Weinberg egyenletet beltenyészetek várható genotípus-gyakoriságainak kiszámítására is. Figyelembe véve a véletlen párválasztástól való eltérésekből adódó valószínűségeket, számítani tudjuk, hogy a genotípusok várható gyakoriságai milyen mértékben térnek el a Hardy–Weinberg egyenlet alapján számítható értéktől. Ehhez az utódnemzedék egészére kell kiszámítanunk a beltenyészettségi együttható átlagos értékét. Vegyük észre: amennyiben a beltenyésztés elhanyagolható, azaz $f=0$, a fenti képlet $P(aa)=q^2$ formára egyszerűsödik, azaz visszaérkezünk az eredeti Hardy–Weinberg egyenlethez).

A fenti képlet alkalmazásával kiszámolták a homozigóta állapot gyakoriságának növekedését különböző fokú rokonságban álló szülők utódaira, különböző allélgyakoriságok esetén (20.1. táblázat). Egy–egy oszlopon lefelé haladva az olvasással, ahogy egyre közelebbi rokonok a szülők, úgy nő a beltenyészettség mértéke. A sorokat olvasva figyeljük

PUPress

meg, hogy minél ritkább egy allél, a homozigótáknak annál nagyobb hányada születik rokonházasságból és annál kisebb hányada nem–rokonok házasságából. Ez abból adódik, hogy a rendkívül ritka allélek esetén elenyészően kicsi annak a valószínűsége, hogy véletlen folytán nem–rokon házaspár mindkét tagjában előforduljanak, s így független allélként együtt kerüljenek be az utódba. Rokonházasságokból származó utódokban esély van arra, hogy származásilag azonos allélek kerüljenek az utódba. Matematikai vonatkozásban ne felejtsük el, hogy nagyon kis q értékek esetén q^2 elhanyagolhatóan kicsi q-hoz képest.

Hasznos következtetési szabály ebben a kérdésben: ha valamilyen betegség esetén a családfákat vizsgálva, azok között a házaspárok között, akiknek beteg gyermekeik is vannak, több a rokonházasság, mint a csupa egészséges testvérek szüleinél, a betegség alapjaként ritka recesszív allél homozigótaságára gyanakodhatunk (l. 5. fejezet). Ez a következtetés ellentétes irányból közelíti meg a rokonházasságokat. Eddig azt vizsgáltuk, milyen gyakorisággal várható homozigóta utód rokonházasságból. Az idézett következtetés fordított irányú: a jelleghordozók szülei között a nagyobb arányú rokonházasság támasztja alá azt, hogy a jelleget recesszív allél homozigóta állapota hozza létre. Példaként felhozható egy tanulmány, miszerint Japánban az 1940-es években a házasságok 6%–át kötötték első unokatestvérek, viszont az albínó gyerekek 50%–a, Tay-Sachs betegségben szenvedő gyerekek 70%–a származott első unokatestvérek házasságából.

A beltenyészés domináns allélekre is növeli a homozigóták arányát. Ennek a ténynek azért kisebb a jelentősége, mert a domináns homozigóta fenotípusa legtöbbször ugyanaz, mint a heterozigótáké – kivételként említhetők pl. a valamilyen fenotípusos jegyre domináns, de a letalitásra recesszív gének.

Még egyszer húzzuk alá: a beltenyésztés nem önmagában káros. Ha a kiindulási populációban nem fordulna elő káros következményekhez vezető recesszív allél, azaz a populáció genetikai szempontból egyáltalán *nem lenne terhelt*, a rokonházasságoknak nem lenne káros következménye.

Ha a populációban vannak jótékony hatású recesszív gének, a rokonházasságok akár még életképesebb utódokat is eredményezhetnek. (Ezt használják ki az állat– és növénynemesítésben, ahol nem tragédia sikerületlen utódok születése, ezek a további programból egyszerűen kihagyhatók). A valóságos humán populációk ***genetikai terheltség***et, nem kívánatos hatású recesszív alléleket hordoznak, bár ezek egyenlőtlenül oszlanak meg az egyes családok között.

Más módon is sérülhet a véletlen párválasztás követelménye. Gyakran előfordul, hogy bizonyos fenotípusú egyedek előszeretettel választanak meghatározott fenotípusú párt. Leggyakoribb a hasonló fenotípusú pár választása. Ezt ***szétválogató párválasztás***nak (*assortative mating*) nevezzük. A hasonló fenotípus nagy valószínűséggel hasonló genotípus következménye. Ez a párválasztási forma is, hasonlóan a rokonházasságokhoz

– de azoknál kisebb mértékben – szintén odavezet, hogy a genotípus-arányok eltérnek a Hardy–Weinberg egyenlet alapján várhatóktól (ebben az esetben is nő a homozigóták aránya). Emberi populációkban a választás alapjául szolgálhat: bőrszín, testmagasság, intelligencia, vagy más mennyiségi bélyegek, melyek alakításában több gén és több környezeti tényező működhet közre (l. 9. fejezet).

20.1. Táblázat. *Az **aa** genotípusú utódok felszaporodása beltenyészetben a véletlen párválasztás viszonyaival összehasonlítva különböző allélgyakoriságok esetén*

Az utódok beltenyészettségi koefficiense (f)+	A beltenyészet P(*aa*) és a véletlen párválasztás utáni P(*aa*) hányadosa				
a szülők rokonsági foka	q= 1/10	q=1/30	q=1/100	q=1/300	q=1/1000
1/64 (másodunokatestvérek)	1,1	1,5	2,5	5,7	16,6
1/32 (unokatestvér gyermeke)	1,3	1,9	4,1	10,3	32,2
1/16 (első unokatestvérek)	1,6	2,8	7,2	19,7	63,4
1/8 (nagybácsi-unokahúg)	2,1	4,6	13,4	38,4	125,9
1/4 (testvérek)	3,2	8,2	25,8	75,8	250,8

Összefoglalva: a rokonházasság (beltenyészet) rendszerint csökkent életképességű vagy egészségükben károsodott utódok születéséhez vezet, mivel felszínre hozhatja a homozigóták gyakoriságának növelésével bizonyos, az ősökben jelenlevő recesszív allélek káros hatását (pl. alkaptonúria, fenilketonúria, albinizmus, cisztikus fibrózis, Tay-Sachs betegség, stb.). Ezek az allélek nem-rokonok házassága esetén nagyobbrészt rejtve maradnak a heterozigótákban. Az ismert betegségeket okozó recesszív allélek mellett azok a recesszív mutációk is károsíthatják az utódokat, melyek magukban nem okoznak felismerhető, jellegzetes betegséget, de hatásuk más hasonló allélek hatásával összegződve rontja az egészséget, ill. az életképességet, ha homozigóta formába kerülnek. Ne felejtsük el, szép számmal lehetnek olyan recesszív mutációk, melyek hatása homozigóta állapotban súlyos, de ritkaságuk miatt nem ismert.

ELTE Press

EGÉSZSÉGI ÉS HALÁLOZÁSI ADATOK

Sok tanulmány foglakozott különböző beltenyészettségi együtthatóval jellemezhető utódok egészségi állapotának és túlélésének összehasonlításával. A vizsgált sajátságok igen sokfélék voltak: veleszületett hibák, fejlődési rendellenességek, elmebetegségek, intelligencia, termékenység és egy-egy életkorban, ill. -szakaszban bekövetkező elhalálozás. Az életkorra jellemző halálozások között vizsgálták a vetéléseket, halvaszületéseket, újszülöttkori (1 hónapos korig) gyermekkori és kamaszkori halálozást. Ezeknek a felsorolt jellegeknek és halálozásoknak nagyon különböző okai lehetnek, melyeket gének ill. allélek és környezeti tényezők sokasága, ill. ezek együttesen határozhatnak meg. A tényezők között egyaránt vannak ill. lehetnek nagy és kis hatásúak.

A legsúlyosabb következményeket első fokú rokonok kapcsolatából született utódok esetében találták. Az összegyűjtött adatok értékelését nehezít, hogy az esemény ritka, a különböző területeken különböző szerzők által végzett felmérések között nagyok az eltérések. Az is kérdéses, hogy milyen kontrollcsoporthoz viszonyítsunk, mivel az esetek többségében az incesztust elkövető szülők is súlyos mentális vagy testi elváltozásokban szenvedtek. A kérdéssel foglalkozó szerzők szerint ezeknek a gyermekeknek a szülei genotípus–összetételükben nem tekinthetők a populáció egészét tükröző mintának. Ennek ellenére fenn kell tartani azt a tapasztalattal is alátámasztott következtetést, miszerint nagy a kockázata a súlyosan károsodott, abnormális gyerekek incesztusból való születésének.

Kiterjedt és aprólékos vizsgálatokat folyattak a háború utáni Japánban a kevésbé közeli rokonok (a szokások jóvoltából gyakrabban előforduló) házasságából származó utódok körében. Külön gondot fordítottak a kétes adatok minimumra csökkentésére mind a vizsgálók felkészítésében, mind a tanulmányozás módszereinek kidolgozásában. Adataiknak egy kis hányadát a 20.2. táblázat mutatja. Az oszlopokban lefelé haladva a rokonság közelebbivé válásával kis, de nem elhanyagolható mértékben nő az utódok mortalitása mindkét vizsgált város lakói körében. A két város adatait összegezve a tendencia még tisztábban mutatkozik meg.

Érdekes tendencia, hogy azokban a populációkban, országokban, ahol az unokatestvérek és hasonló mértékben közeli rokonok házassága hagyományosan gyakori (Japán, India, Brazília), a rokonházasságok utódainak kockázata közelebb van az átlagos népesség (nem rokonoktól származó utódok) kockázatához, mint azokon a területeken, ahol a rokonházasságok hagyományosan ritkák. Ez összhangban van azzal a feltételezéssel, hogy a gyakoribb rokonházasságok hosszabb idő alatt felgyorsítják néhány káros hatású recesszív allél kiszelektálását, azáltal, hogy az ezekre homozigóta utódok kiszorulnak a szaporodásból.

DUPRESS

A 20.2. táblázatban szereplő és hasonló adatok alkalmasak a genetikai terheltség mértékének, azaz a káros hatású recesszív gének egy egyedre eső számának becslésére. Ezek a káros recesszív gének heterozigóta állapotban találhatók a populációban, így nem mutatkozik meg káros hatásuk. (Azok az allélek, melyek csak homozigóta formában fejtik ki letális, szemiletális, vagy az egészséget súlyosan károsító hatásukat, ebből a szempontból akkor is recesszívnek tekintendők, ha más fenotípusos bélyeg kialakításában domináns hatásuk van.) A terheltség mértéke többféle számítási móddal is becsülhető, de a becslés szükségképpen nem adhat pontos, csak hozzávetőleges értéket.[6]

További óvatosságra int, hogy a káros gének életképességet rontó hatása nem lineárisan, hanem négyzetesen összegződik.

A bizton levonható következtetés, hogy néhány, homozigóta állapotban súlyosan károsító hatású allélt heterozigóta formában mindannyian hordozunk, ki többet, ki kevesebbet.

20.2 Táblázat. *A szülők vérrokonságának hatása a csecsemőhalandóságra Japánban*

Az utódok beltenyészettségi koefficiense (f)+ a szülők rokonsági foka)	Csecsemőhalálozás/élveszületés (= % elhalálozás)		
	Hirosima	Nagaszaki	Összesen
0 (nem rokon)	145/4089=3,5%	273/7988=3,4%	418/12077=3,46%
1/64 (másodunokatestvér)	32/722=4,4%	50/1312=3,8%	82/2034=4,03%
1/32 (unokatestvér gyermeke)	42/585=7,2%	53/1073=4,9%	95/1658=5,73%
1/16 (első unokatestvér)	101/1651=6,1%	173/329=5,2%	274/4947=5,54%

Különböző populációk genetikai terheltsége különböző lehet. (Elszigetelt kis populációkban gyakran nagyobb.)

---

[6] A beltenyészettségi együttható (***f***) ismeretében megpróbálhatjuk kiszámolni, mekkora lenne a mortalitás vagy a betegség gyakorisága a gyermekben ***f=1*** esetén. A megfigyelt értékek ***f=0*** és ***f***=1/16 közé esnek, ebből kellene extrapolációval ***f=1*** értékig kiterjeszteni a következtetéseinket. Az adatok nem mutatják, hogy a káros hatást egyetlen letális allél homozigóta állapota, vagy több homozigóta állapotú lokusz szemiletális hatásának összegződése eredményezi. A ***letális–ekvivalens*** fogalma összegzett hatásában egy letális alléllel egyenértékű allél–együttest jelent.

ELSŐ UNOKATESTVÉREK HÁZASSÁGÁBÓL VÁRHATÓ UTÓDOK

Mit mondhatunk, ha a házasságot fontolgató, utódaik lehetséges károsodásaiért aggódó unokatestvérek fordulnak hozzánk tanácsért? Népszerű vélekedés, hogy az ilyen házasságból születő gyermekek valószínűleg fejlődési rendellenességgel születnek, és kevésbé intelligensek, mint a nem rokonházasságból származó társaik. Az eddig tárgyalt adatok viszont azt mutatják, hogy első unokatestvérek házassága esetén is csak viszonylag kis mértékben növekszik a gyerekek kisebb-nagyobb mértékben súlyos genetikai károsodásának kockázata. Minden házasságban, a párok rokonságától függetlenül, szembe kell nézni a születendő gyermek általában 2–3%-ban bekövetkező komoly károsodottságának kockázatával. Ennek valószínűsége attól is függ, mit tartunk „komoly" károsodásnak. A gyermekeknek egy másik néhány százaléka kívül esik azon a határon, ameddig „normálisnak" tekintik, de defektusa nem súlyos.

Egy genetikai tanácsadó minden bizonnyal adatokat gyűjt a családról, felmenőkről, oldalági közeli rokonokról, unokatestvérekről. Ha arra következtet, hogy a családban káros hatású recesszív allél van jelen (valamelyik ős, partnerek egyike) célzottan számolhatja a homozigóták létrejöttének valószínűségét. Ennek alapján, ismerve mind a valószínűségét, mind a súlyosságát a várható elváltozásnak, dönthet a pár, hogy vállalja-e. Az esetek nagyobb részében nincs a család történetében semmi, ami célirányos számítások alapjául szolgálhatna. A ritka recesszív allélek nemzedékek hosszú során át rejtve maradhatnak heterozigótákban, mivel a nagyon ritka alléleknek alig van esélyük arra, hogy homozigóta formában találkozzanak. Ilyenkor nem tudunk valóban hasznos tanácsot adni. Azt mondhatnánk, hogy a veszély kicsiny, de kissé nagyobb, mint nem rokonok házassága esetén. Legokosabb dolog beismerni, hogy ilyenkor az utódok lehetséges károsodásának kockázata csak a népesség átlagára számolható, konkrét esetre nem látható előre. (Ne felejtsük: ami a nagy népességnek jelentéktelen ritkaság, az az érintett család számára 100%-os tragédia!) Ezt a pár a maga módján értékelheti és rájöhet, hogy nem kapott igazán kielégítő információt. Döntésüket valószínűleg érzelmi alapon fogják meghozni.

Elszigetelt populációk (= Izolátumok)

Elszigetelt az a közösség, melynek tagjai generációkon keresztül a csoporton belül választanak házastársat, génállományuk nem keveredik a faj egészének génállományával. Napjainkban a *félig elszigetelt* emberi populációk létezése a szabályszerű, mivel a házastárs megválasztását többé-kevésbé korlátok közé szorítják szociális-gazdasági, vallási,

kulturális tényezők. Minél kevesebb a bevándorló az adott csoportba, annál inkább klánszerűvé válik a csoport. A csoportból elvándorlók csak akkor vannak hatással az izolátum génállományára, ha a kivándorlók genotípusainak aránya lényegesen eltér a csoportra jellemző arányoktól. A kivándorlás ekkor sem változtat az elszigeteltségből adódó hatásokon.

Az izolátumok önmagukban is érdekesek. Van néhány genetikai sajátosságuk, melyeknek megismerése a genetika szempontjából tanulságos:

(*1*) Kis, zárt populációk lehetővé teszik a humán evolúció néhány sajátos módjának vizsgálatát. Ezek közül is a genetikai ***sodródás***ról, a *drift*ről (véletlen változások az allélgyakoriságokban) szerezhetünk különösen sok információt.

(*2*) Kiváló módon nyilvántartják leszármazásukat, mivel ezeknek a kis csoportoknak a tagjai büszkék őseikre. Ez lehetővé teszi a beltenyészettségek sok nemzedékre visszanyúló elemzését.

(*3*) Az izolátumokban gyakran uniformizáltak a létfeltételek. Ennek következtében az egyedek közötti különbségek kialakulásában nagyobb a genetikai tényezők szerepe és ezeket könnyebb tanulmányozni.

A legnagyobb fokú elszigeteltség vagy földrajzi okokból (pl. az óceánban minden más helytől nagyon távoli sziget), vagy nagyon szigorú vallási elkülönültségből adódhat. Példaként hozható fel a Pitcairn-sziget a Csendes-óceánban, Tristan da Cuñha az Atlanti-óceánban. Vallásilag elszigeteltek Pennsylvaniában, Ohioban és Indianaban az óhitű ámisok, és az USA nyugati vidékén a hütteriták.

Magyarországon ma nincsenek az ámisokhoz és hütteritákhoz hasonlítható elszigetelt populációk. Van néhány falu, ahol a múltban szinte kizárólag a kis népességen belül történt a párválasztás. Tovább szűkítette a populáció méretét, ha pl. a falu lakóinak egy része református, másik része katolikus volt (Bereg). A Bodrogközben Ivád, Tiszamogyorós népe alkotott egy-egy többé-kevésbé zárt közösséget (a számolt beltenyészettségi együttható átlaga ezekben a falvakban 0,003 körül van). Az újabb időkben ezen falvak házasodási zártsága jelentősen oldódott.

RECESSZÍV BETEGSÉGEK AZ ÁMISOK KÖRÉBEN

Az ámis szekta tagjai Svájcból származnak, a szekta a XVII. században jött létre a mennoniták felekezetéből kiválva. Mivel mind a protestáns, mind a katolikus egyháztól eltérő volt vallásgyakorlásuk, a hütteritákkal együtt arra kényszerültek, hogy elhagyják hazájukat. 1720 és 1770 között kb. 200 ámis vándorolt be Pennsylvaniába. Ezek leszármazottai Lancaster megyében élnek és mintegy 14 000-en vannak. Más ámisok Ohioban és Indianaban telepedtek le. Mind az ámisok, mind a hütteriták életének középpont-

PUPress

jában a biblia áll, náluk a vallás és a gazdálkodás szorosan összefügg egymással. A külső világtól elzárkózva, nagyon szigorúan szabályozott farmer közösségekben élnek. Nagyra becsülik az erkölcsi értékeket, kifejezetten pacifisták, felnőtt korukban keresztelkednek, keményen dolgoznak, segítik egymást.

Az ámisok elutasítják a modern technikai civilizációt, csak a törvény által megkövetelt minimális ideig engedik gyermekeiket iskolába járni.

Az ámisok körében több, máshol ritka örökletes betegség gyakoribb előfordulását tapasztalták. Ezek egyike az Ellis–van Creveld szindróma (20.6. ábra), ami a törpeségnek egyik különös változata. Aránytalanul rövid alkar és alsó végtag jellemző rá. Nagyon sok gyerek, aki ebben a betegségben szenved, röviddel születése után meghal. Néhányan, akik a tünetcsoport középsúlyos formáját mutatják, megérik a felnőttkort. Nagyon ritkán fordul elő, hogy egy Ellis–van Creveld szindrómás egyénnek gyereke legyen. A kb. 8000, Lancasterben élő ámis között 43 gyermek szenvedett a betegségben. A Hardy–Weinberg egyenletből – a beltenyészettségre nem korrigálva – számolva $f(ee)=q^2$ = 43/8000, ahonnan a $q \approx 1/14$. Az általában vett amerikai népességben a feltételezett recesszív allél gyakorisága megközelítően 1:1000, vagy ennél is kevesebb. Az ámis populációban az ***e*** gén gyakorisága tehát rendkívüli mértékben megnőtt. Az allélgyakoriság ilyen nagyfokú növekedésében feltehetően szerepet játszott mindkét mechanizmus, mely a kis létszámú populációk szokatlan allélgyakoriságának kialakulásához vezet: ezek egyike az alapítók hatása, a másik a genetikai sodródás (*drift*).

Az alapító elv azt fejezi ki, hogy egy újonnan elkülönülő/kialakuló populációt alapító egyedekben az egyes allélek aránya nem feltétlenül felel meg a nagyobb populáció (melyből az alapítók kiválnak) allélarányainak. Minél kisebb számban vannak az alapítók, annál valószínűbb, hogy allélarányaik nem jellemzőek az eredeti populációra, hanem attól jelentősen eltérnek. Az eset példával is szemléltethető: ha egy zsákban van 900 fekete és 100 sárga golyó és ebből véletlen mintát veszünk, a minta nagyságától függ, hogy a kihúzott fekete és sárga golyók aránya mennyiben egyezik meg, ill. tér el az eredeti arányokkal, ill. arányoktól. Ha nagyszámú, mondjuk 100 golyót húzunk ki, a sárgák aránya megközelítően 1:10 közelében lesz. Ha csak 10 golyó kihúzása adja a mintát, megeshet, hogy nem lesz közte sárga (p=0,35), vagy két sárga is lesz (p=0,19). A binomiális eloszlás képletének alapján számolva ellenőrizhetjük az állítást.

DUPRES

20.6. ábra. *Ellis–van Creveld szindrómás ámis gyermek:* rövid karok, számfeletti ujj a bal kézen.

A családok leszármazását, melyekben az Ellis–van Creveld szindróma előfordul, Samuel Kingig és feleségéig tudjuk visszafelé nyomon követni. A King házaspár 1744-ben vándorolt ki Amerikába. Minden beteg az ő leszármazottjuk. A mutáns allél recesszív, ez vagy egyikükben, vagy másikukban heterozigóta formában jelen volt. Lévén szó 200 emberről (=400 allél adott lokuszon), az allél gyakorisága, ha senki más közülük nem hordozta, 1:400 volt (ha másban is jelen volt, akkor nagyobb). Egyáltalán nem látszik valószínűnek, hogy az **e** allél gyakorisága abban az időben megközelítette volna az 1964-ben talált 1:14 gyakoriságot. Az alapítók hatása egymagában nem magyarázza a jelenlegi igen nagy gyakoriságot. (A beltenyészettség beszámításával is elérheti a relatív gyakoriság az 1:15~1:16 értéket.)

A véletlen sodródás – genetikai drift. Tulajdonképpen felesleges a véletlen jelző használata, a fogalom jelentésében magában benne van. Kis számú utód génállománya az esetek nagy részében nem felel meg a szülői allél–gyakoriságoknak. (Elméleti megközelítésben: a relatív gyakoriságok csak kellően nagy számú mintában közelítik meg kellő pontossággal a valószínűségek alapján várható értékeket.) Előfordulhat pusztán véletlenül, hogy egy szokatlan genotípusú szülőpár jóval több utódot hoz létre, mint más szülőpárok, másrészt a gyakoribb genotípusokat hordozó párok nem hagynak hátra utódot. Kisszámú egyednél a nagy számokra érvényes mendeli arányok is jelentősen torzulhatnak pusztán véletlenül. Másrészt kis populációban minden baleset, ami egyedek pusztulásához vagy utódnemzésre való képtelenséghez vezet, változtathatja az allélarányokat.

Az elmondottak következtében kis populációkban egyik nemzedékről a másikra is észrevehetően változhatnak az allélgyakoriságok. Több nemzedék távlatában összegződve ezek a változások az allélgyakoriságok szeszélyes és jelentős ingadozásaihoz vezetnek, függetlenül attól, hogy az adott allél hatása a túlélés szempontjából „jó" vagy „rossz". Az ilyen szeszélyes ingadozások mértéke annál nagyobb, minél kisebb a populáció. Ezt a

hatástól független, csupán a véletlennel magyarázható allélarány-változást nevezzük ***véletlen genetikai sodródás***nak (angolul: *„random genetic drift"*) vagy egyszerűen ***sodródás***nak, ***drift***nek. Az alapítók hatása is valójában a driftnek egy különleges esete, ami akkor következik be, mikor viszonylag kis számú egyed új populációt alapít, annak indító nemzedékét alkotja.

Egy másik különös esete a sodródásnak az ún. ***palacknyak hatás*** („szűk keresztmetszet", *bottleneck effect*), ami akkor következik be, ha valami miatt egy populáció létszáma nagyon lecsökken. Oka lehet természeti katasztrófa, járvány pusztítása, vagy más hasonló hatású esemény. A Lancaster megyében élő ámisok esetében Kingéknek és leszármazottaiknak több gyermeke született, mint más családoknak ugyanezen közösségben. Történt ez annak ellenére, hogy a családban jelen volt egy szemiletális allél, az Ellis–van Creveld törpeség allélje. Az lett a következmény, hogy ennek az életkilátásokat rontó allélnek a gyakorisága egyre magasabb értékek felé „sodródott" az egymást követő nemzedékekben. Erre feltehetően a korai időszakokban – amíg a populáció létszáma kicsi volt – adódott leginkább lehetőség.

BELTENYÉSZÉS A HÜTTERITÁK KÖRÉBEN

A hütteriták az ámisokhoz hasonlóan Svájcból Amerikába bevándorolt szekta, mely vallását követve elkülönül a körülötte lévő népességtől. Sajátos közösségi életstílusban élnek, aminek alapja az Újszövetségben az Apostolok Cselekedetei, 2.:44–45: „Mindnyájan pedig, akik hívének, együtt valának, és mindenük közös vala. És jószágukat és marháikat eladogaták és szétosztogaták azokat mindenkinek, amint kinek-kinek szüksége vala." A személyes tulajdon a hütteritáknál minimális, az ámisokkal ellentétben a hütteriták használják farmer gazdálkodásukban a modern technikát. A hütteritákat is a vallási türelmetlenség üldözte el Európából. Mintegy 400-an vándoroltak Amerikába és ott az 1870-es években három különálló földműves telepet alapítottak Dél-Dakotában. Sikeresek voltak és szaporodtak, és amikor egy-egy kolónia kinőtte a területet, mely eltartotta őket, kb. fele-fele arányban kettéváltak, egyik fele elvándorolt és új közösséget alapított. Ma kb. 300 közösségük létezik, melyekben összesen mintegy 23 000 ember él. Ellenzik a születésszabályozást, ezért a nagy család – átlagosan kb. 11 gyerek – jellemző rájuk.

Századunk legelejétől nagyon kevés házasságkötés volt a három eredeti telepes csoport leszármazottai között. Egyik csoport, a Schmiedenleut („*blacksmith's people*" – kovácsok népe) 1960-ra 51 csoportra osztódott, többnyire Dél-Dakotában és Manitobában élnek. Az eredeti telep alapításakor a csoportban mindössze 15 családi név fordult elő. Két családban megszakadt a fiú-leszármazottak sora, 13 családnév maradt. A másik két közösség leszármazottai földrajzilag távol élnek a Schmiedenleut csoporttól, ez akadálya közöttük a házasságoknak.

A házasodási mintájukkal kapcsolatban figyelemreméltó, hogy azok mintegy 17%-ában a menyasszonynak és a vőlegénynek azonos a vezetékneve. Ez megfelel a véletlen párválasztás esetén várható gyakoriságnak. Példaként említhető a Waldner veze-

téknév, ami a csoport tagjai 30%-ának családi neve. Amint az várható a házasságok 9%-át Waldner köti Waldnerrel. Ezt is várjuk, ui. $0,3^2 = 0,09$.

Elterjedt szokás, hogy testvérpár tagjai egy másik testvérpár tagjaival lépnek házasságra (20.9. ábra) – pl. két fivér felesége nővére egymásnak, a testvérek így egyúttal sógorai ill. sógornői is egymásnak. A házasságoknak mintegy 28%-a ilyen. Ez önmagában nem jelent rokonházasságot, mindössze azt eredményezi, hogy ezeknek a pároknak a gyerekei kétszeresen első unokatestvérei egymásnak. Ha duplán unokatestvérek házasodnának össze, gyerekeik esetében a beltenyészettségi együttható értéke kétszerese lenne az egyszerű első unokatestvérek házasságából születetteknek.

Az 1960-ban élt 5450 Schmiedenleut csoportbéli ember családfáját pontosan vissza lehetett követni az alapítókig. Valamennyien 68 elődnek a leszármazottai. Ez azt jelenti, hogy az esetlegesen előfordult, mutációkat leszámítva az 1960-as populációban előforduló összes allél a 68 ős egyik vagy másik alléljének pontos másolata (lokuszonként 136 allél másolatára terjed ki a választék). A telep alapítóinak átlagosan 80–80 utóda él. Az átlag mögött nagy eltérések lehetnek az egyes ősök leszármazottainak számában, mivel az egyes házaspárok termékenységében jelentős különbségek voltak. A kis létszámú populáció nemzedékeken át való zártsága eredményeként ma mindenki kimutathatóan közelebbi vagy távolabbi rokona a populáció minden más tagjának. Mindeddig a Schmiedenleut populáció beltenyészettsége nem érte el azt a fokot[7], hogy az látható következményekkel járt volna az utódok egészségére és halálozására. Általában első unokatestvérek vagy közelebbi rokonok nem kötnek egymással házasságot. Bár a rokoni kapcsolatok a házastársak között rendszerint többszörösek, de a számított beltenyészettségi együttható a több hurokra összegezve sem szokta elérni vagy meghaladni az első unokatestvérek közös utódjaira számolt értéket (1:16). Az 1900 és 1960 között kötött 667 házasságból származó gyermekre számolt együttható átlagos értéke ***f***=0,022 (~1/45). Ez valamivel nagyobb, mint a másod-unokatestvérektől származó gyermekek ***f***=1/64 együtthatója, de kisebb annál, ami az unokatestvér gyermekével kötött házasságból származó utódok esetén várható (***f***=1/32).

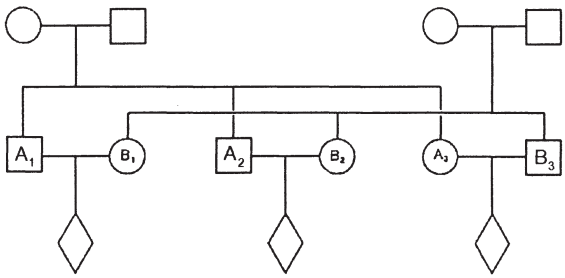
A Schmiedenleut populációban a távoli múltig visszamenően számon tartják az ősöket. Így arra is lehetőség van, hogy negyed-unokatestvéri fokú rokonságot is kimutassunk. Kérdés, vajon nagyobb értéket számoltunk volna-e a beltenyészettségi együtthatóra, ha a még távolabbi múltba visszamenően is ismertük volna a családfákat. A kérdésre nem tudunk pontos választ adni, becslésre szorítkozhatunk. Gondoljuk végig: a számolt ***f***=0,022 együttható két öszetevőre bontható. Egyik esetében az együttható másod-unokatestvérek és közelebbi rokonok házasságából adódó populációra jellemző átlagértéket számoltuk. A másik komponens a harmad- és negyed-unokatestvérek házasságából adódó hurkokból számolt együttható a populáció egészére. A második összetevő nem kisebb az elsőnél. A két összetevő:

fI = 0,010 (másodunokatestvérek és közelebbi rokonok)

fII = 0,012 (harmad- és negyedunokatestvérek)

---

[7] ui. a szülők közötti rokonság általában elég távoli ahhoz, hogy csak kis mértékben növelje az utódok beltenyészettségi együtthatóját (**f**).



20.9. ábra. *Érdekes házassági sorozat a hütteriták izolátumában.* Két fiútestvér két egymással szintén testvér lányt vett feleségül. Húguk a lánytestvérek öccséhez ment férjhez. Bár családi kapcsolatuk sokszoros, emiatt még sincs szó beltenyészetről, mivel egyik házaspár esetén sincs vérrokonság a házastársak között (többszörösen sógorok, sógornők).

Mindkét komponens hasonló mértékben járult hozzá az összeg alakulásához. Feltételezhetjük, hogy a még távolabbi, de gyakrabban egymással házasodó rokonok gyermekeire számított részösszeg még tovább növelné az együtthatót.

A beltenyészettség mértékét más módszerrel is elemezhetjük, azonos családnevű párok házasságából[8] kiindulva. A szülők azonos-nevűsége, a ***szülői izonímia*** („*parenteral isonymy*") módszere megkísérli számbavenni a szülők összes távoli múltban élt, ismeretlen közös ősét is. A számolás egy nagyon egyszerű viszonylaton alapul: az utódok beltenyészettségi együtthatója egynegyede a családnevek véletlen egyezése valószínűségének. Pl. az első unokatestvéreknek csak kb. egynegyede azonos családnevű, – azaz csak akkor azonos nevűek, ha a két apa testvére egymásnak, de nem azonos a családnév, ha egyikük anyja a másik apjának, vagy az egyikük anyja a másik anyjának testvére. – Másod-unokatestvérek azonos családnevére 1/16 az esély, házasságukból született gyermekek esetében ***f***=1/64. A névazonosságok alapján számolt együttható a Schmiedenleut populációra kb. kétszerese a közvetlen családfa-elemzés alapján számítottnak. Bizonyos tévesztések elkerülhetetlenek a módszer alkalmazása során, alkalmazásával némely populációban a valóságosnál nagyobbra becsülhetjük a beltenyészettségi együtthatót. Ennek ellenére a szülői névazonosságon alapuló módszert elterjedten használják napjainkban az emberi populációk szerkezetének tanulmányozására.

Véletlen és nem-véletlen beltenyészés. Önmagában egy populáció kis létszáma is oka lehet a beltenyészés egy részének. Pl. a Schmiedenleut csoportban hiába véletlen a párválasztás, mivel mindannyian rokonai egymásnak, elkerülhetetlen rokonok házasodása, s ezekből a házasságokból többé-kevésbé beltenyészett gyermekek születése! Ahogy már korábban leírtuk, Waldner vőlegény házassága Waldner menyasszonnyal nem több, mint a véletlen párválasztás feltételezéséből adódik.

[8] Pl. Magyarországon a Kovácsok, Nagyok, stb. – mely neveket a vezetéknevek kialakulásakor különböző helyeken egymással nem rokon családok szinte egyidőben, egymástól függetlenül kapták meg foglalkozásuk, vagy valamilyen testi jellegzetességük alapján.

Általában úgy ítélik meg, hogy kis létszámú populációban a beltenyészésnek két összetevője van:

(*1*) Az a beltenyészés, ami teljesen véletlen párválasztás esetén is létrejönne az izolátumban. Számításának módszertani ismertetése meghaladja e jegyzet kereteit, nem térünk ki rá. Amit fontos megjegyezni: minél kisebb létszámú a populáció, annál nagyobb mértékű a beltenyészésnek ez az összetevője. Ezt véletlen, idegen szóval ***random komponens***nek nevezik. (A Schmiedenleut csoportban ez a beltenyészés fő komponense.) Nagyon nagy létszámú populációkban a véletlen komponens értéke közel nulla.

(*2*) Beltenyésztés közelebbi vagy távolabbi rokonokat előnyben részesítő párválasztás következtében. Ez a beltenyésztés nem-véletlen (= ***non-random***) ***komponens***e; ez hozzáadódik az előzőekben ismertetett véletlen komponenshez, azt növelheti, akár csökkentheti is kis létszámú populációban. (A nem-véletlen komponens értéke 0, ha a párválasztás teljesen véletlen.) A Schmiedenleut populációban a nem-véletlen komponens kis mértékben növeli az együttható értékét. Ez azt jelenti, hogy van egy enyhe tendencia arra, hogy a rokonok valamivel gyakrabban válasszák egymást, mint az a véletlenből következnék. Van néhány olyan kis populáció, ahol kifejezetten kerülik a rokonokkal való házasságot, azaz ritkábban házasodnak össze rokonok, mint az a véletlen párválasztásból következnék. Ez az állítás ellentmondásosnak tünhet, de a kis populácóban sok váratlan esemény bekövetkezhet.

Összefoglalás

(*1*) Azok az emberek rokonai egymásnak, akiknek egy vagy több közös ősük van. Házasságukat rokonházasságnak nevezzük (sokan angol mintára a vérrokon kifejezést használják). A rokonházasságból született gyermekek beltenyészettek.

(*2*) Egy beltenyészett egyed nemcsak független úton örökölt allélekre lehet homozigóta (mint a nem-rokonok házasságából származó utódok), hanem származásilag azonos allélekre is, melyek a szülők közös őse egyik alléljének másolatai. A beltenyészés (ill. háziállatoknál, növényeknél beltenyésztés) legfontosabb következménye, hogy nő a homozigóták gyakorisága, többletként jelennek meg a származásilag azonos allélekre homozigóták.

DUPress

(*3*) Annak valószínűségét, hogy egy egyed származásilag azonos allélekre homozigóta legyen, a **beltenyészettségi együttható** fejezi ki. Az együttható értéke megközelítően $f=\Sigma_i(1/2)^n i$, ahol **n** származási diagramon a szülőket a közös ősön keresztül összekötő egyes hurkokban lévő személyek száma. A hurkokat legkönnyebb a leszármazási utakat ábrázoló diagramon felismerni (ehhez célszerű lehet a családfa átrajzolása útdiagrammá).

(*4*) Az, hogy a beltenyészés káros következményekkel jár vagy jótékony hatású lesz, attól függ, milyen hatású a homozigóták arányának megnövekedése; azaz milyen allélek halmozódnak fel és válnak homozigótává. Emberek esetében *a beltenyészés* (elsősorban első unokatestvérek házasságából származó utódokról van szó) általában – bár kis valószínűséggel – *rontja az egészségi állapotot és az életképességet.*

(*5*) Minél ritkább egy recesszív allél, annál inkább várható, hogy a homozigóta állapot nagyobb valószínűséggel alakul ki beltenyészett egyedekben, mint a nem-rokonok házasságából született egyedekben. Emiatt *a nagyon ritka recesszíven öröklődő betegségek szinte csak rokonházasságból születettek között fordulnak elő.*

(*6*) A nagyobb mértékben beltenyészett egyedek halálozási adataiból arra lehet következtetni, hogy *mindannyian hordozhatunk néhány olyan allélt, melyek homozigóta állapotban* még felnőtté válásunk előtt *halálunkat okoznák.* Ezek az utódok életképességét veszélyeztető allélek jelentik a genetikai terheltséget a populációkban.

(*7*) Az izolátumokban, azaz *az elszigetelt kis populációkban*, olyan allélegyüttesek, ill. *allélarányok* alakulnak ki, melyek *lényegesen különböznek a nagyméretű,* ún. *„általános populációk"-ra jellemző allélösszetételtől, ill. arányoktól.* Minél kisebb egy ilyen elszigetelt közösség és minél több generáción át élt elszigeteltségben, annál inkább valószínű, hogy *tagjainak beltenyészettsége nagyobb mértékű.*

(*8*) Bizonyos allélek nagyobb gyakorisága egyes elszigetelt populációkban – mint amilyenek pl. az ámisok és hütteriták – az alapító elvnek és a genetikai sodródásnak a következménye. Minél kisebb egy populáció, annál nagyobb annak valószínűsége, hogy ezek a véletlen hatások alakítják allélösszetételét.

(*9*) *Kis, elszigetelt populációkban* akkor is kialakul bizonyos fokú *beltenyészettség,* ha a párválasztás a csoportban teljesen véletlenszerű. A *beltenyészettség aktuális szintje magasabb is és alacsonyabb is lehet a véletlen párválasztás feltételezésével számított értéknél,* ha a csoport tagjai hajlamosak párválasztásnál előnyben részesíteni (vagy ellenkezőleg: kerülni) a rokonokat a nem-rokonokkal szemben.

DUPLICATE

Kérdések

(*1*) Az alábbiakban felsorolunk néhány beltenyésztési koefficinst. Igazoljuk a felsorolt értékek helyességét nyomon követve az útdiagram megfelelő hurkait:

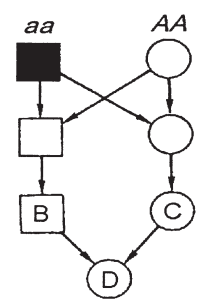
Utódok, akiknek szüleik közötti rokonság:	f=	Utódok, akiknek szülei közötti rokonság:	f=
testvérek	1/4	unokatestvér gyermeke	1/32
nagybácsi/unokahúg	1/8	másod unokatestvérek	1/64
első unokatestvérek	1/16	másod unokatestvér gyermeke	1/128

(*2*) Rajzoljon a 20.4. ábra alján IV. Ptolemaios származásáról egy olyan útdiagramot, melyben csak egy közös őse szerepel! (Tüntesse fel rajta azokat az elődöket, akiken keresztül a közös ős összeköthető IV. Ptolemaiossal és szüleivel!) Milyen rokonságban voltak egymással IV. Ptolemaios szülei? Ezek alapján mekkora IV. Ptolemaios beltenyészettségi együtthatója (f)?

(*3*) Rajzoljuk meg duplán másodunokatestvérek gyereke származásának útdiagramját! (Többféle módon is elképzelhető.) Milyen f érték számolható az útdiagram alapján?

(*4*) A 20.2. ábrán kövessük nyomon a J-vel jelölt egyed őseit! Állapítsuk meg milyen rokonság van J szülei között! Mekkora f értéke J esetében?

(*5*) A kérdéshez tartozó ábrán B és C első unokatestvérek. Közös nagyapjuk albínó volt, amint azt az útdiagramon is feltüntettük. Mi annak a valószínűsége, hogy első gyermekük, D, aki ezután fog megszületni albínó legyen? Az egyszerűség kedvéért vegyük úgy, hogy az albinizmus génjét csak a közös nagyapa hozta a családba.



(*6*) Az 5. kérdésben szereplő albínó nagyapa két, albinizmusért felelős alléljét jelölje a_1 és a_2. Mekkora annak a valószínűsége, hogy D két, egymással származásilag azonos a_1 allélt örökölt? Miért nem kell ezt a valószínűséget hozzáadni az 5. kérdés megválaszolásakor számolt értékekhez?

(*7*) Az 5. kérdés útdiagramján szereplő nagyanyában az albinizmusért felelős gén két normális alléljét különböztessük meg egymástól A_1 és A_2 jelöléssel. Számoljuk ki D

DUPress

utód f értékét úgy, hogy mind a négy nagyszülői allél öröklésének valószínűségét figyelembe vesszük!

(*8*) Mint a fejezetben szó volt róla a Lancaster megyei ámisok körében az Ellis-van Creveld szindrómáért felelős *e* allél gyakorisága f(*e*)= 0.07.

a/ Milyen gyakorisággal várható beteg utód születése a populációhoz tartozó első-unokatestvérek házasságából? (Vegyük úgy, hogy nem ismerjük a házaspárok családfáját.)

b/ Milyen gyakorisággal várható beteg utód nem-rokonok házasságából?

c/ Hányszor gyakrabban várható *ee* genotípusú gyermek első unokatestvérek házasságából, mint nem-rokonok házasságából?

(*9*) Tételezzük fel, hogy az ámisokat körülvevő népességben f(*e*)=0.001 (bár valószínű, hogy ennél is kevesebb).

a/ Milyen gyakorisággal várható *ee* genotípusú gyermek születése nem-ámisok körében véletlen párválasztás esetén?

b/ Hányszorosra növekszik a várt gyakoriság az első-unokatestvérek házasságából születendő utódokban? A válasz megkereséséhez használhatjuk az 20.1. táblázatot is. Hasonlítsuk össze ezeket az adatokat az ámis populációban várható gyakoriságokkal?

(*10*) A 8. kérdés c/ pontjában és a 9. kérdés b/ pontjában szereplő gyakoriság aránya

$$\frac{f \cdot q + (1 - f)q^2}{q^2}$$

Győződjünk meg róla, hogy ez az arány

$$1 + f \cdot \frac{p}{q}$$

formára egyszerűsíthető. Számítsuk ki a várható gyakoriságok arányát ennek az egyszerűsített képletnek a felhasználásával is!

(*11*) Az alábbiakban megadjuk a Hardy-Weinberg törvényt leíró egyenletek kiterjesztését olyan populációkra, melyekre a beltenyészettségi koefficiens f > 0. Az egyenletekben az fq és fp tagok annak valószínűségét fejezik ki, hogy a homozigóta két egyforma hatású allélje származásilag is azonos. (Mivel heterozigótákban a két allél azonossága kizárt, ez az érték heterozigóták esetén 0.) Az $(1-f)q^2$ ill. $(1-f)p^2$ annak valószínűsége, hogy az egyed két különböző eredetű, de azonos hatású allélre homozigóta. Ellenőrizzük az alábbi kifejezések helyességét! (f = beltenyészettségi együttható)

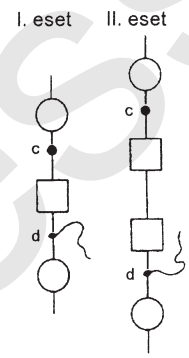
$P(aa) = fq + (1\text{-}f)q^2 = q^2 + fpq$
$P(AA) = fp + (1\text{-}f)p^2 = p^2 + fpq$
$P(Aa) = 0 + (1\text{-}f)2pq = 2pq - 2fpq$

DUPress

(*12*) Izraelben és Jordániában a szamaritánusok körében a beltenyészettség együtthatója f = 0.04. (Ismereteink szerint ez a legnagyobb fokú beltenyészettség elszigetelt emberi populációkban.) Milyen nagy valószínűséggel várhatók homozigóák az A lókuszon, ha P(*A*) = 0.9 és P(*a*) = 0.1?

(*13*) A 11. kérdésben felírt összefüggések szerint a homozigóták többlete a nem beltenyészett populációk p^2+q^2 gyakoriságához képest a többé-kevésbbé beltenyészett népességben 2fpq értéknek felel meg. Mutassuk ki, hogy az előző kérdésben szereplő szamaritánus közösségében ez a többlet kevesebb, mint 1% a véletlen párválasztással jellemzett nagyobb populációkhoz képest!

(*14*) Az X-hez kötött gének esetén a beltenyészettségi együttható kiszámításának menete különbözik az autoszómális génekre végzett számításoktól. Egyik különbség, hogy a származásilag azonos allélek fogalma férfiak esetén nem használható, lévén egyetlen X kromoszómájuk. Nézzük a mellékelt diagramon az I. és II. esetet. Az I. esetben egy fiú utód köt össze két nőt, a II. esetben egy nő két nemzedékben fiú utódokon keresztül van összekötve a negyedik nemzedékbeli nő utóddal. Mi a valószínűsége az I. ill. a II. esetben, hogy a feltüntetett c és d gaméták ugyanazt az X-hez kötött allélt hordozzák?

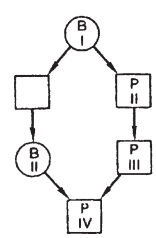


Válaszok

(*1*) Testvérekre két hurok adódik, mindkét hurokban három-három személlyel. Így f = $2(1/2)^3$ = 1/4, és így tovább.

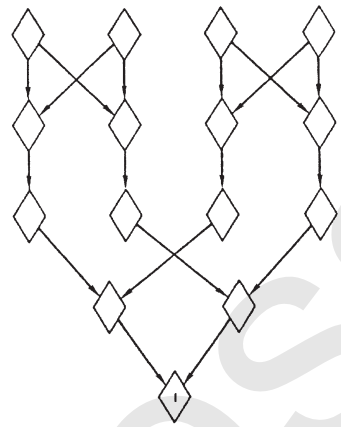
(*2*) IV. Ptolemaios szülei fél-első unokatestvérek, ezért

$f_{P.IV.}$= 1/32



DUPress

(3) $F_A = 4 \cdot (1/2)^7 = 1/32$



(4) Első unokatestvérek C_8-on és C_9-en keresztül. Első unokatestvér gyermeke C_{10}-en és C_{11}-en keresztül.

$f_f = 2 \cdot (1/2)^5 + 2 \cdot (1/2)^6 = 3/32$

(5) Mivel az albínó nagyapa gyermekei fenotípusukban nem érintettek, heterozigóták kell legyenek, azaz *Aa* genotípusúak. A B és C utódok létrehozásában közreműködő bármelyik gamétájuk 1/2 valószínűséggel adták tovább. Ebből számolva annak valószínűsége, hogy D homozigóta lesz *a* allélre $P(aa/D) = (1/2)^4 = 1/16$.

(6) $P(a_1a_1)+P(a_2a_2)= 1/64+1/64=1/32$. Ezt nem kell hozzáadni az előző válaszban számolt 1/16 valószínűséghez, mivel a homozigóta allapot már eleve magában foglalja ezt, mint megvalósulásának két lehetséges módját. Így vizsgálva háromféle formában alakulhat ki homozigóta genotípus: a_1a_1, a_2a_2 és a_1a_2. Az a_1a_2 homozigóta állapot létrejöttének valószínűsége szintén 1/32 és 1/32+1/32=1/16.

(7) $F_P = (P(a_1a_1) + P(a_2a_2) + P(A_1A_1) + P(A_2A_2) = 4x1/64 = 1/16$

(8) a/ $P(ee) = f \cdot q + (1-f)q = 0{,}07 \cdot 1/16 + 0{,}0049 \cdot 15/16 = 0{,}00897$
b/ $q^2 = 0{,}0049$
c/ 897:490 = 1,8

(9) a/ $q^2 = 10^{-6}$

b/ 63,4x gyakoribb - ui. minél ritkább egy recesszív allél, annál inkább rokonházasságokból született utódokban halmozódnak a homozigóták.

(*10*)

$[fq + q^2 - fq^2]: q^2 = [fq\,(1-q) + q^2]: q^2 =$

$= fpq/q^2 + q^2/q^2 = f \cdot p/q + 1$

(*11*) A 10. kérdésre adott válasz szerint alakíthatók át a kifejezések.

(*12*) $P(aa) = 0{,}0136$; $P(AA) - 0{,}8136$; $P(Aa) = 0{,}1728$

(*13*) $2f \cdot pq : (p^2 + q^2) = 0{,}0072 : 0{,}82 = 0{,}88\%$

(*14*) Első esetben: $P(c \equiv d) = 1$, mert a fiú egyetlen X kromoszómáját anyjától örökli és csak ezt adhatja tovább lányának.

Második esetben: $P(c \equiv d) = 0$, mert az apa nem ad át X kromoszómát a fiának, így az sem adhatja tovább azt, amit meg sem kapott.

DUPress

21. FEJEZET

AZ EVOLÚCIÓ

A mutáció

A spontán mutációk gyakoriságának kiszámítása
Humán gének átlagos mutációs rátája

Szelekció

Szelekció recesszív letális fenotípusok ellen
Szelekció mindkét homozigóta ellen

Átvándorlás és drift

Migráció és génáramlás
Véletlen sodródás = genetikai drift

Az evolúció mechanizmusára vonatkozó nézetek

A drift szerepe
A variabilitás természete
A molekuláris genetika hozzájárulása az evolúcióról alkotott elképzelésekhez

A rasszok áttekintése genetikai szempontok szerint

A rasszok létezésének realitása, és körülhatárolhatóságuk önkényes volta
Humán variabilitás – az emberi sokféleség
Egyediség (individualitás)

DUPress

Haldane – Wright és Fisher mellett – egyike volt azon három eredeti szellemnek, akik Mendel és Darwin tanításait egységbe fogták és kidolgozták az evolúciós folyamat matematikáját. Mint a tudomány más művelői is (kb. 1800 óta), magukénak vallották az evolúció elvét, azt, hogy az egyedek és a populációk az idők során változtak, és közös ősök utódai egymástól egyre inkább különbözőkké váltak, egyre többfelé ágazó úton létrehozták a ma élő fajok elmondhatatlan sokaságát.

Mindezen túl minden tudós rányomja a maga bélyegét a tényeket magyarázó elméletekre. Az említett három alkotó nézetei is különböztek egymástól az evolúció mechanizmusairól, ezek a nézetkülönbségek néha igen jelentősek voltak. Élesen viták folytak arról, hogyan is mehetett végbe, ill. folyik napjainkban is az evolúció.

Nincs értelme belebonyolódni a biológiai evolúcióval szemben az egyház által hirdetett **teremtés** kérdésébe[1], mivel az kívül esik a természettudományok területén.

Kezdjük a fokozatos, az idők során felhalmozódó és önmagukban egyáltalán nem rendkívüli változásokkal, melyek a nemzedékek millióin át elvezettek az alkalmazkodások csodálatra méltó komplexitásához és a fajok szédítő sokféleségéhez, beleértve saját magunkat is.

Az evolúció az a fonal, mely a biológia legkülönbözőbb területeit összekapcsolja egymással. Az evolúciós tant újból és újból újabb és újabb szempontból alapos vizsgálatnak vetették alá, és ezekben a vizsgálatokban újra és újra megerősítést nyert.

Az evolúció tényét alátámasztó, koherens bizonyítékok:

(*1*) A régmúlt időkből, földtörténeti korszakokból fennmaradt kövületek az egymást váltó formák többé-kevésbé folytonos időbeli sorozatát mutatják.

(*2*) Az élő és kihalt fajok földrajzi eloszlása nagy (pl. kontinensek) és kisebb területeken (szigetek) való eloszlása.

(*3*) Állat- és növénynemesítésben a mesterséges szelekcióval szerzett tapasztalatok, mellyel a nemesítők a háziállatok, virágok, étkezési növények, gabonafélék, stb. gazdag választékát állították elő.

(*4*) A távoli ősök fejlődési stádiumainak megőrzése a mai fajok egyedfejlődésében. (Haeckel: „Az egyedfejlődés megismétli a törzsfejlődést").

---

[1] A kérdésre vonatkozóan az USA legfelsőbb bírósága is állást foglalt. Arra az álláspontra jutott, alkotmányellenes az a követelés, hogy az evolúció tanításakor a tanár mindig ismertesse a teremtés bibliai leírását is. A bíróság leszögezte, hogy a fajok teremtése vallási tan (Mózes I. könyve), iskolai oktatása sértené az állam és az egyház szétválasztásáról szóló törvényt. Az ítéletben azt is kimondták, hogy a „teremtéstan" a szó semmilyen értelmében nem tudomány. A kérdést a Tudomány és Kreacionizmus Bizottsága is megtárgyalta (1982). A Vatikán 1996-ban úgy foglalt állást, hogy a fajok eredetére vonatkozóan elfogadja az evolúciós tant, a Biblia teremtésről szóló elbeszélése szimbolikusan értelmezendő.

(*5*) Azonos alapszerkezetek megőrzése néhány ma már funkciójában különböző testrészben – „homológ szervek" (pl. kéz és szárny), melyeket az összehasonlító anatómia tanulmányoz.

(*6*) A sejtek szerkezetének és a biológiailag fontos molekuláknak az igen nagyfokú hasonlósága ill. azonossága (kromoszómák, nukleotid sorrendek, aminosav sorrendek a közös eredetű génekben, ill. fehérjékben, stb.). Ezek vizsgálatával megállapítható, hogy két faj rokonsága mennyire közeli.

(*7*) A genetikai kód csaknem az egész élővilágra jellemző univerzális volta[2] és más, egymással összhangban lévő evolúciós hasonlóságok a biokémiai folyamatok tekintetében a legkülönbözőbb élőlények között.

Az evolúció eszméjének megjelenése tulajdonképpen megelőzte Darwin munkásságát. Lamarck az evolúció mellett érvelt már az 1800-as évek elején. Ő úgy vélte, hogy a *szerzett tulajdonságok* öröklődnek, és ebből jön létre a fejlődés. Ennek a feltételezett mechanizmusnak a működését viszont senki nem tudta tudományosan alátámasztani. Darwin ezzel szemben nagyszámú bizonyítékot sorakoztatott fel amellett, hogy az evolúció a természetes kiválogatódás útján megy végbe.

Tanait – néhány időszerű elemnek nagyobb hangsúlyt adva – a következőképpen foglalhatjuk össze:

i) az élő szervezetek populációinak alapsajátsága a változatképzés,

ii) a szaporodást az élőhelyek eltartó képessége mindig korlátozza, az új generációnak nem minden tagja lesz egyben szülő is,

iii) a változások iránya az adott környezetben véletlen, a környezet nem direkt módon irányítja a genetikai alkatnak azokat a változásait, amelyek az illető környezethez való alkalmazkodást biztosítják (a jelenséget nevezik ***preadaptáció***nak is),

iv) a faj egyedei nem egyformák, közöttük küzdelem folyik a fennmaradásért, a legjobban alkalmazkodó változatok lesznek képesek szaporodni.

A migráció (vándorlás) és sodródás a szelekcióval kölcsönhatásban eredményezik a fejlődést, az evolúciót.

A modern molekuláris kutatási módszerek mind alátámasztották és tovább gazdagították az evolúció ezen koncepcióját.[3]

---

[2] Közismert kivétel a mitokondriumok kevesebb tRNS-sel működő kódszótára, amely utólagos átalakulás eredménye.

[3] Történeti érdekesség, hogy mindezt Darwin zseniális módon anélkül foglalta rendszerbe, hogy az öröklődés alaptörvényeit, vagy nukleinsavak létét, ill. működését ismerte volna. Mendel a maga törvényeit már 1865-ben leírta, de azokról 1900 előtt senki sem tudott a tudományos világban. Az evolúció és genetika kapcsolatáról az 1930-as években Dobzhansky írt összefoglalót „*Genetika és a fajok eredete*" címmel. Ebben áttekintette a kérdésre vonatkozó elméleti és kísérleti eredményeket, megalapozva ezzel egy modernebb szemléletet.

Hogyan fogalmazhatunk manapság? Az élőlények olyan duális anyagi rendszerek, melyeknek többé-kevésbé összetett testfelépítése biztosít(hat)ja a fennmaradást egy adott környezetben, információ hordozó rendszerük pedig biztosítja a bevált struktúra reprodukcióját. DNS-ünk és fehérjéink viszont „eltérő logika" szerint működnek. A DNS fonál molekulája a nukleotidok sorrendjében egy dimenzióban hordozza az információt, a fehérjék fajlagos aminosav sorrendjéből viszont majd csak a három dimenziós térben alakul működő struktúra. Ennek a 3D struktúrának az egyedi élet során létrejött változásai már nem íródhatnak vissza direkt, célszerű módon az információs rendszerbe, mint ahogy egyik fehérjét a másikról sem lehet másolni.

Ennek egyáltalán nem mond ellent az a megfigyelés, hogy extrém körülmények között a populációban nő a mutációs ráta, az élőlények a változatképzés fokozásán keresztül alkalmazkodnak a nehéz körülményekhez.

Gondolatilag annak belátása lényeges, hogy az örökletes változásoknál mindig az információs rendszer változása az autonóm, amely csak másodlagosan, a hordozó egyed életképességén keresztül nyer visszajelzést. Ennek nyomát ismerhetjük fel a 16.1. ábrán. Nagy vonásokban az nyilvánvaló, hogy a bonyolultabb működésű sejtek nagy genomok, nagy információ készlet alapján szerveződhettek, de az eukariótákon belül már nem láthatunk egyértelmű összefüggést a genom-méret és a fejlettség között (egysejtű – soksejtű – valódi szövetes – gerinces – emlős). Keletkezésének idején a nagyobb genom valószínűleg csak kevéssel több hasznos információt biztosított hordozójának – **véletlen esemény** –, de annak életben maradásával nem volt összeegyeztethetetlen. Megteremtette viszont a hasznos információtartalom későbbi növekedésének feltételét a szelekció által. (Ma már molekuláris szinten mérhető, hogy a nagy méretbeli különbségek nem a gének számának különbségéből adódnak.)

A továbbiakban megpróbáljuk az evolúciós tényezőket nagyon leegyszerűsített formában áttekinteni. Minden tényező hatását egyetlen gén alléljeinek gyakoriság-változásaival szemléltetjük.

Beszélni kell a darwini ***életrevalóság*** vagy ***adaptációs érték*** („*fitness*") fogalmáról. Ez a jellemző egy egyed vagy az egyedek egy csoportjának átlagos utódszámát méri, mely utódok megérik az ivarérett kort és résztvesznek az újabb generáció létrehozásában. Az életrevalóság függ az egyed túlélésétől és termékenységétől, azaz attól, hogy maga megéri-e az ivarérettséget, és ha igen, milyen sikerrel vesz részt az utódok létrehozásában.

Pl. egy Tay-Sachs betegségben szenvedő egyén életrevalósága, adaptációs értéke nulla, mivel a beteg még gyermekkorban meghal. Ugyancsak nulla az adaptációs értéke egy Turner-szindrómás egyednek is, mivel nem lehetnek utódai. Bár nem biológiai adottság, mégis nulla a szerzetesek adaptációs értéke is, mivel coelibatusban élnek és – elvileg – nem lehetnek gyermekeik. Másrészt a Huntington-kórban szenvedőknek, bár geno-

típusuk progresszív agypusztuláshoz vezet és az egyed halálát okozza, adaptációs értéke közel normális lehet, mivel a betegség sokszor csak az utódok létrehozása után fejlődik ki. Ahhoz, hogy egy utód termékeny legyen és szaporodjék, egyrészt életben kell maradnia, másrészt termékenyítésre képesnek ill. megtermékenyíthetőnek kell lennie – a fizikai erő, ügyesség és bátorság sokszor nem is számít.

Minél nagyobb egy meghatározott genotípusú egyed életrevalósága, adaptációs értéke, annál több génjének van esélye arra, hogy a következő generációban jelen legyen. Ez az elv a természetes szelekció útján történő evolúció alapköve. Aláhúzzuk, hogy az életrevalóság (***fitness***) általában nem a minden vagy semmi alapon érvényesül. Rendszerint néhány százaléknyi eltérés az egészségi állapotban vagy a termékenységben jelenti a különbséget egyedek ill. típusok életrevalósága között. A már szinte jelszóvá tömörödött megfogalmazást: „túlél a legéletrevalóbb"[4] inkább úgy kell érteni, hogy „valamivel nagyobb arányban hagynak maguk után utódokat a valamivel életrevalóbb egyedek". Ráadásul „életrevalóbb" vagy „alkalmasabb" (nagyobb adaptív értékű) az előzőleg volt környezetre vonatkozik. Ha változik a környezet, szükségképpen változik az egyes élőlények alkalmassága is. Ez különösen szembeszökően mutatkozik meg, mikor egy gének által meghatározott betegség gyógyíthatóvá válik: pl. a fenilketonuriát okozó recesszív homozigóta genotípus szokásos étrend mellett közel letális hatású, de megfelelő diétáztatás esetén közel normális az egyed életrevalósága.

A mutáció

A mutációk jelentik a biokémiai, élettani, anatómiai és viselkedésbeli változékonyság és változatosság forrását. A változékonyság nélkül nem lenne evolúció.

A modern molekuláris genetika és biológia eredményei újragondolásra késztetnek bennünket a mutációk értelmezését illetően is. Induljunk ki az egyszerű „...a mutáció az egyedben bekövetkező örökletes elváltozás..." megfogalmazásból. Mai ismereteink szerint (l. 13. és 14. fejezet) világos, hogy az örökletes információt hordozó genomban molekuláris szinten emögött számos, az okokat és mechanizmust illetően igen eltérő folyamat húzódhat meg (***pontmutáció***, ***mozgékony elemek***, ***exon keveredés***, ***meio-***

[4] Ez a nagyon leegyszerűsített mondat nem szerepelt „A fajok eredete" első kiadásában, erre az alakra Spencer sarkította, majd Darwin – engedve a csábításnak – beillesztette a későbbi kiadásokba.

tikus átkereszteződés, a ***DNS javító rendszerek*** által létrehozott szekvencia változások stb.). Az evolúció folyamatát tekintve pont az ötlik szembe, hogy a magasabbrendűek felé haladván egyre hatékonyabbakká váltak azok az enzimrendszerek, amelyek a DNS új meg új változatait képesek generálni. A genomba beépülve találjuk a változatképzéshez szükséges mind tökéletesebb genetikai apparátust.

A mozgékony elemek sajátsága, hogy hosszú időn keresztül némák maradhatnak a faj életében, majd időről időre a faj néhány egyedében aktiválódnak. Ilyenkor a transzpozonok többszörös áthelyeződése és több új fenotípusbeli változás egyidejű fellépése figyelhető meg. Főleg növények vonatkozásában írták le, hogy a ***transzpozíciós robbanások***at környezeti stressz-hatások képesek provokálni. A gyors genom-átrendeződés sok új variánst produkál, melyek között megjelenhetnek majd az új körülmények között is túlélő, szaporodni képes egyedek (l. 14. fejezet).

Ugyanilyen – evolúciós skálán mérve – gyors változásokat eredményeznek a retropszeudogének beépülése útján bekövetkező szekvenciaváltozások. Az emlősök genomját szinte állandóan „bombázzák" a reverz transzkripcióval keletkező cDNS-szekvenciák. A jelenséget némi fantáziával a kutatók ***Vezúv-evolúció***nak (*Vesuvian mode of evolution*) is szokták nevezni (l. *Alu* és *L1* szekvenciák, 14. fejezet).

A rekombinációk és a szubpopulációk közötti vándorlások az allélek elkeveredését eredményezik. Az elkeveredés következtében jobb hatású kombinációk jöhetnek létre. Csak a létező allélváltozatok kombinálódhatnak egymással, melyek vagy újonnan, vagy régebben, az elődökben történt mutációkkal keletkeztek. A 13. fejezetben esett szó a mutációk természetéről a DNS molekulák szintjén. A legtöbb mutáció kedvezőtlen, ill. kóros hatású, és recesszív allélt eredményez. Általában azért ártalmasak, mert megváltoztatják egy már létező és a környezethez hangolódott rendszer működését. A recesszív hatás azzal magyarázható, hogy a gén által kódolt működő fehérjéből a változatlnul maradt allélről is megszintetizálódik annyi, amennyi a mutáns allél által kódolt fehérje csökkent vagy hiányzó működését ellensúlyozza, s ezzel a heterozigóták fenotípusa normális marad. Egy-egy ritka esetben a mutáció hasznos is lehet hordozójának: vagy már kezdettől fogva is (különösen ha csak kis fokú változást okoz a fenotípusban), vagy később válhat hasznossá, ha a környezet megváltozik. Ez utóbbi esetet példázza az a mutáció, amelyik rezisztenssé teszi a baktériumot – mondjuk – penicillinnel szemben. Ennek a mutációnak mindaddig nincs semmi haszna a baktérium számára, míg a baktérium környezetében meg nem jelenik a penicillin. (Ami hasznos a fertőzést okozó baktériumnak, az rossz a betegnek – de ez nem az evolúció szempontja!)

Az az idő, ami a mutáció, azaz a DNS molekulában lejátszódó változás, és a fenotípusos megjelenés között eltelik, széles határok között változik. Ha pl. mutációval autoszomális domináns allél jön létre, ez azonnal megnyilvánul, amint olyan utód jön létre, amelyik azt örökli. A másik véglet, ha a mutáció recesszív allélt hoz létre, az nemze-

dékek hosszú során át lappangva maradhat, amíg homozigóta formába nem kerül egy egyedben. Hogy milyen hosszú lappangás után jön létre a homozigóta állapot, több tényezőtől függ: 1. a mutációs ráta, mely az adott mutáció ismétlődését jellemzi, 2. a párválasztási gyakorlat mintázata, 3. véletlen események. Minél gyakoribb a rokonok házassága – ill. állatoknál párosodása – és minél nagyobb a recesszív allélt eredményező mutáció rátája, annál nagyobb valószínűséggel jelennek meg a homozigóták. A véletlen sodródás a mutáns allélek gyakoriságát növelheti, vagy csökkentheti egyaránt, a változás iránya előre nem számítható ki.

Amellett, hogy allélkülönbségek létrehozásával más evolúciós erők számára alapanyagot szolgáltatnak, az ismétlődő mutációk maguk is egy nagyon lassú allélarány-változást idéznek elő. Tegyük fel, hogy az A_1 allél bizonyos valószínűséggel A_2 alléllé alakul minden generációban ($A_1 \rightarrow A_2$) és *nem hat semmi más evolúciós erő.* Tegyük fel, hogy az A_2 allél mutációval nem alakul vissza A_1 alléllé, azaz A_2 valamilyen okból fixált. Ez oda vezet, hogy A_2 gyakorisága $f(A_2) = 1$ lesz, $f(A_1) = 0$, azaz A_2 kizárólagossá válik, A_1 pedig eltűnik a populációból. Nagyon valószínűtlen, hogy ez a forgatókönyv maradéktalanul megvalósuljon a természetben. A valószínűtlenségnek több oka is van, melyek között nem tartozik az utolsók közé az a rendkívüli hosszú időtartam, ameddig a mutációk viszonya változatlanul kellene maradjon. Humán gének esetében a mutációs ráta közel esik az 1 mutáns/1 millió gén/generáció értékhez. Más szavakkal, ha nyomon követjük a gének útját a zigótától a felnőtt egyedben képződő érett gamétákig, annak valószínűsége, hogy egy sejtciklus során 1 gén mutál (azaz egy fehérjét kódoló, vagy szabályozó DNS-szakaszon báziscsere, deléció, inszerció, stb. következik be) 1 : 1 000 000, azaz 10^{-6}. Ez olyan kis valószínűség, hogy az A_1 allélek felének A_2 alléllé alakulásához, ha ez csak mutáció következménye lenne, több százezer generáció volna szükséges. Időben ez hosszabb lenne, mint amennyi a *Homo sapiens* megjelenése óta eltelt.

Típusos esetben az A_2 allél is mutál és visszaalakulhat A_1 alléllé ($A_1 \rightarrow A_2$). Ez esetben egyik allél sem vész el a populációból. Ha elegendő idő áll rendelkezésre, az oda- és vissza-mutációk között egyensúly áll be, az A_1 és A_2 allélek aránya állandósul. (a mutációs ráta szorozva az allélgyakorisággal lesz egyenlő a két allél vonatkozásában és nem a gyakoriságuk) az egymást követő nemzedékekben.

Az ilyen helyzetet ***genetikai egyensúly***nak nevezik, és egymással ellentétes irányú hatások hozzák létre. Egyetlen eddig tanulmányozott gén esetében sem találtak olyan alléleket, melyről tudnánk, hogy egyensúlyukat az ellentétes irányú mutációk gyakoriságának állandó volta tartaná fent. Viszont más mechanizmusokról kimutatható, hogy együttes hatásuk génegyensúlyhoz vezet. Ezeket alább még ebben a fejezetben tárgyalni fogjuk.

SPONTÁN MUTÁCIÓK GYAKORISÁGÁNAK KISZÁMÍTÁSA

A spontán mutációk esetében a mutációs ráta (azaz a mutáció bekövetkezésének valószínűsége, ill. gyakorisága) mérése, ill. számítása az esemény ritkasága miatt is meglehetősen nehéz. Még nehezebb ez a feladat recesszív mutációk esetében, ahol az esemény bekövetkezte és látható megjelenése között hosszú – sok egymást váltó nemzedéknyi – idő telik el. Ezek a gondok kísérleti élőlények – különösen haploid mikroorganizmusok, ahol nincs dominancia-recesszivitás probléma – tanulmányozása során megkerülhetők, vagy lényegesen csökkenthetők. Baktériumok és vírusok tenyésztése rendkívül nagy számú egyed előállítását és vizsgálatát teszi lehetővé. Ráadásul mód van a körülmények változtatásával a nagyon ritka mutánsok megtalálására is. Pl. ha egy szer (antibiotikum) iránt érzékeny mikroorganizmus tenyészetét a szer hatásának tesszük ki, a milliónyi, milliárdnyi aszexuális úton létrejött sejtből csak azok szaporodnak tovább, képeznek telepet, melyek mutáció következtében már a szer alkalmazása előtt rezisztenssé váltak a szerrel szemben. A rezisztens sejtek gyakorisága így számolható, ebből a mutáció valószínűsége becsülhető.

Diploid élőlények esetében is van mód a mutáció gyakoriságának vizsgálatára. A *Drosophila*k néhány ezer génjének mutációját tanulmányozni lehetett anélkül, hogy tudták volna, melyik gén melyik kromoszómán található. Legkönnyebben az X-hez kötött letális hatású allélek deríthetők fel, mint egy jól körülhatárolt mutációs osztály.

Egerekből a kutatók sajátos génösszetételű, a mutációk kimutatására alkalmas ún. „tesztelő" beltenyésztett törzseket állítottak elő. A „tesztelő" törzsek homozigóták néhány, viszonylag könnyen felismerhető fenotípusos jegyet eredményező (pl. szőrzet színe) recesszív allélre.[5]

A mutációs ráta meghatározásához szükséges idő, tér és pénz azonban igen meredeken növekszik, ahogy mikroorganizmusokról *Drosophila*kra, ill. ez utóbbiakról egerekre térünk át.

---

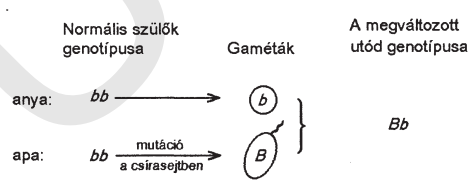
[5] A tesztelés logikája egy lokuszra egyszerű: vad típusú, fekete szőrszínre homozigóta (*BB*) genotípusú egér homozigóta barna szőrűvel (*bb*) keresztezve csupa heterozigóta (*Bb*) fekete szőrű utódot hoz létre. Ha valamelyik csírasejtben a domináns ***B*** allél mutáció következtében recesszív ***b*** alléllé változott (*B* → *b*), ebből barna szőrű, homozigóta recesszív (*bb*) utód fog származni. Ha mondjuk 7 allélre homozigóta recesszív (pl. ***a*** = non-agouti, ***b*** = barna, c^{ch} = csincsilla, ***p*** = rózsaszín szem, ***d*** = dilute („kihígult", azaz halványbarna szín), ***s*** = tarka, ***se*** = rövid fülű) tesztelő törzset keresztezünk vad típusúval, valamivel – bár nem sokkal – könnyebbé válik a mutációk gyakoriságának tanulmányozása.

Egyetlen genetikus néhány nap alatt egy kis asztalfelületen tisztes megbízhatósággal képes meghatározni, viszonylag szerény pénzösszegek felhasználásával, baktériumokban vagy vírusokban valamelyik kiválasztott gén mutációs rátáját. Ahhoz, hogy *Drosophilá*kban néhány általános mutációs gyakoriságot becsülni tudjunk, az utódok vizsgálatához és az eltérések számlálásához több hónapon keresztül több technikai kisegítő részvételére van szükség. Egerek esetében hasonló vizsgálatokhoz hosszú évek munkája és háttérként nagy állattenyésztő telep szükséges, ahol az állatok tenyésztése és felnevelése különös szakértelmet igénylő felügyelettel és gondoskodással történik. Ehhez jelentős beruházásra van szükség, a fenntartás és működtetés is költséges. A becslések várható pontossága a nagy költségek ellenére is szerény, és a becslés csak néhány gén mutációs gyakoriságára szorítkozik.

Emberen nem szabad kísérletezni. Aki emberi gének mutációjáról akar információkat szerezni, fel kell kutassa a világ egész népessége köréből azokat a családokat, amelyeknek megfigyelése és vizsgálata adatokkal szolgálhat a kérdés megválaszolásához.

Még ha nagyon ritka is egy-egy mutáció, elegen vagyunk ahhoz a Földön, hogy önmagunkat bázis-populációnak tekintve és egy-egy mutáció okozta betegségre vonatkozó kórházi adatokat összegyűjtve számításokat lehessen végezni. Mód van arra, hogy legalább néhány mutáns fenotípus előfordulását rendszeresen átvizsgálva és számba véve megközelítő pontosságú becsléshez jussunk az azokra vonatkozó mutációs rátákról. Erre két út is kínálkozik: egyik a közvetlen felmérés; a másik a közvetett következtetés, melyet mind domináns, mind recesszív allélek mutációs rátájának számolására használhatunk, ezt röviden fogjuk említeni.

Közvetlen számolás. Mivel domináns allélből egy is elég ahhoz, hogy a fenotípus a dominánsnak megfelelő legyen, ha az eredeti (normális) allél recesszív a mutáns (abnormális) allélhez képest, elegendő azoknak az egyedeknek a gyakoriságát kiszámítani, akik mutáns fenotípusúak, de mindkét szülőjük fenotípusa normális.



Példánkban a spermium hordozta a mutáció (***b*** → ***B***) következtében megváltozott allélt.

Ilyen mutációk bizonyos valószínűséggel mindig történnek a csírasejt-vonalban. Hasonló valószínűséggel történhet mutáció a petesejt képződése előtt, ill. közben is.

Gyakorlatban a vizsgáló áttekinti adott területen az összes születések számát egy adott időszakban és erre vonatkoztatja a friss mutációk gyakoriságát.

DUPress

Legyen

T = az összes újszülött száma

M= domináns mutáns fenotípusú újszülöttek száma, kiknek szülei normálisak

μ = a vizsgált gén mutációjának valószínűsége 1 gamétára és 1 generációra számítva.

$$\mu = \frac{1}{2} \cdot \frac{M}{T}$$

Az 1/2 szorzó azért szerepel, mivel minden egyed 2 gamétából jön létre és ezek közül csak egyik hordozta az új mutáns allélt. Ha **μ=M/2T** formában írjuk az összefüggést, még világosabb a valószínűségi értelmezés: ez esetben úgy olvashatjuk, hogy a mutáns allélek száma (**M**) osztva az összes allél számával (**2T**) az újszülött nemzedékben.

Morch 94075 újszülöttből 8 olyan akondroplá̧ziás[6] törpét talált, akinek szülei közül egyik sem volt törpe. (Az akondroplá̧ziás törpeségért felelős allél domináns a normális alléllel szemben.)

Nelson és Holmes 69 277 újszülött között 2 akondroplá̧ziás törpét talált, akiknek apja és anyja is normális volt. Az akondroplá̧ziás törpeség viszonylag könnyen felismerhető fenotípust eredményez (21.1. ábra). Mivel az allél hatása a hosszú csöves csontok normális fejlődését zavarja meg, abnormálisan rövid végtagok (különösen feltűnő ez a kar esetében) és normális méretű, de csapotthátú törzs és túlzottan nagy fej jellemző a rendellenes fenotípusra. Az a biokémiai mechanizmus, mellyel a mutáns allél által kódolt fehérje a csontosodást megzavarja, még nem ismert.

---

6 Görögben: „*a*"= fosztóképző, „*chondros*" = porc, „*plasia*" = formálódás, képződés.

21.1. ábra. *Szemmel láthatóan akondroplázias törpe.* (Giacomo Favorchi, Karel van Mander holland festő 1600 körül)

Előfordulnak olyan súlyos esetek, hogy az allélt hordozó gyermek halva születik vagy még gyermek korában belehal. Aki az első életévét túléli, rendszerint egészséges, normális szellemi képességű felnőtté fejlődik, és gyermekei is lehetnek.

A fentebb idézett adatokból mutációs rátákat számolhatunk (pontosabban erre vonatkozó becsléseket tehetünk).

A koppenhágai adatokból: $\mu = \frac{8}{2 \cdot 94075} = 4{,}25 \cdot 10^{-5}$

A bostoni adatokból: $\mu = \frac{2}{2 \cdot 69227} = 1{,}4 \cdot 10^{-5}$

azaz 100 000 gamétából 1-4 frissen mutált allélt hordozó várható. (Figyeljük meg, hogy bár egyik érték háromszorosa a másiknak, a két eredmény nagyságrendjét tekintve egyezik.)

Azon túlmenően, hogy kis számú új mutánsra alapozva végeztük a számításokat, néhány további fenntartásra is okunk lehet, amire feltétlenül gondolni kell:

1. Ugyanazon fenotípus származhat különböző génikus okokból is. Legalábbis a dániai, korai tanulmányban közölt esetekben nem mindig ugyanannak az egy génnek recesszívből dominánsba mutálása volt felelős az azonosnak vett fenotípus kialakulásáért. A törpéknek tekintett csoport genetikai szempontból heterogén volt. A kapott adat néhány hasonló hatású allél mutációs rátájának az összege. Más jellegek esetében is látszólag egyező fenotípust hozhatnak létre különböző lokuszokon lévő allélek is: lehet az ok egyik lokuszon domináns mutáns allél megléte vagy egy másik lokuszon recesszív mutáns allélek homozigóta állapota. Vannak öröklődő bélyegek, melyeket az esetek egy részében egyetlen lokusz, más esetekben polilokuszos rendszer alléljei, ill. allélkombiná-

ciói határoznak meg. Másrészt bármelyik gén hatását utánozhatja a fejlődési folyamatot befolyásoló tényező hatása is – ezt ***fenokópiá***nak nevezzük.

2. A penetrancia kisebb lehet 100%-nál. Ez a tényező akondropláziás törpeség vonatkozásában nem látszik jelentősnek. Egyébként irreálisan nagynak becsülhetjük a mutációs gyakoriságot olyan domináns allélek vonatkozásában, melyek úgy lehetnek jelen valamelyik szülőben, hogy jelenlétüket azok fenotípusa nem mutatja. Ez esetben ui. a gyerekben megnyilvánuló örökölt allélt új mutációnak véljük.

3. A valóban megjelenő esetek egy részét nem ismerjük fel – a számbavétel kevesebb lehet 100%-nál.

Ez a tényező szintén jelentéktelen akondropláziás törpeség és minden más olyan betegség esetében, melyek születéskor is egyértelműen felismerhetők. Más esetben az érintett egyének egy részét nem vesszük észre. Nagyon súlyos génikusan meghatározott betegségek esetén az érintett magzat meghalhat még születése előtt vagy nem sokkal születése után, még mielőtt felismernénk és igazolni tudnánk az okot.

Ez a hiba a mutációs gyakoriság alulbecslését eredményezi.

A közvetett módszer. Recesszív – különösen ritka recesszív – allélek létrejöttében a mutációs gyakoriság becslésére nem használható a közvetlen számlálás. Normális szülők gyermekében a mutáns jelleg megjelenését szinte soha nem tekinthetjük friss mutáció eredményének. A jellegért felelős recesszív allél szinte minden esetben mindkét normális szülőben jelen volt, a homozigóta állapot kialakulása a mendeli hasadás következménye. (Kivételesen, nagyon-nagyon ritkán megeshet, hogy csak egyik szülő heterozigóta, a másik ivarsejtvonalában mutáció következik be.) Csaknem minden esetben a recesszív allél létrejötte nemzedékekkel korábbi mutációk következménye volt. Mégis becsülhető a mutációs ráta annak feltételezésével, hogy az érintett személyek száma hosszabb időszakot tekintve is állandó. Feltételezhetjük, hogy egyensúly van az allél arányokban, azaz amennyi allélt a csökkent életrevalóság miatt a szelekció kiküszöböl, ugyanannyi jön létre mutációval. Ez a megfontolás mind domináns, mind recesszív, mind autoszomális, mind X-hez kötött allélekre alkalmazható. (μ-vel jelölve a mutációs gyakoriságot, s-sel az életrevalóság csökkenését jellemző szelekciós koefficienst, a domináns allél egyensúlyi gyakorisága:

$$\hat{p} = \frac{\mu}{s}$$

a recesszív allélé:

$$\hat{q} = \sqrt{\frac{\mu}{s}}$$

A képletek fontos következtetéseket sugallnak[7]. Egyik, hogy egy káros domináns allél azonos μ és s értékek mellett kisebb gyakoriság mellett kerül egyensúlyba, mint egy recesszív allél. A másik: minél károsabb egy gén jelenléte, egyensúly esetén adott mutációs gyakoriság mellett annál ritkábban fordul elő.

Meg kell jegyeznünk, hogy még akkor is, ha az egyensúlyra vonatkozó feltételezésünk helytálló, a számítási módszernek ez a nagyon leegyszerűsített formája többékevésbé pontatlan becslést fog adni sok, ha nem a legtöbb recesszívnek mondott allél vonatkozásában. Ez abból adódik, hogy általában felszínesen értelmezzük egy allél recesszív voltát. Ui. az, hogy a recesszív génnek nincs feltűnő hatása a látható fenotípusra nem jelenti azt, hogy a heterozigóták és a homozigóta dominánsok egymással mindenben egyenértékűek. Az életképességet homozigóta állapotban súlyosan károsító alléleknek heterozigóta állapotban is lehet több-kevesebb károsító hatásuk, melynek mértékét rendszerint nem ismerjük, így számba venni sem tudjuk. *Az életképességben mutatkozó esetleges kis eltérések komoly hatással lehetnek az egyensúlyi allél arányokra.* A hatás azért is jelentős, mert minél ritkább egy recesszív allél, annál jelentéktelenebb a homozigóta recesszívek előfordulási aránya a heterozigótákhoz képest – azaz a heterozigóták kis fokú csökkentértékűsége több recesszív allél kiküszöbölését eredményezheti, mint pl. a homozigóta állapot letális hatása. Így a mutációs gyakoriságot többnyire alábecsüljük.

HUMÁN GÉNEK ÁTLAGOS MUTÁCIÓS RÁTÁJA

A 21.1. táblázatban adatokat sorolunk fel néhány autoszomális domináns és X-hez kötött recesszív allél mutációs rátájára vonatkozóan. A gyakoriságok tág határok között szóródnak. A táblázatban szereplő legnagyobb gyakoriság 73, a legkisebb 2 mutáció 10^6 gamétában – más kifejezéssel: $2 \cdot 10^{-6} - 73 \cdot 10^{-6}$ mutáció/gén/generáció. A legnagyobb gyakoriság valószínűleg nem az átlagos mutabilitást képviseli, lényegesen nagyobb lehet egy gén mutációjának átlagos valószínűségénél. Az ilyen gyakoribb örökletes betegségeket sok családban megtalálhatjuk (megeshet, hogy az átlagosnál jóval sérülékenyebb génekről van szó)[8]. Bizonyos örökletes elváltozások, betegségek (l. McKusick 1988-ban megjelent katalógusát) csak néhány családban lelhetők fel. Ezek valóban ritka örökletes betegségek, melyek génjében a mutáció is ritkább lehet. Vannak olyan gének is, melyek mutációjáról

[7] A p, ill. q fölötti ∧ (caret) jel az egyensúlyi értéket jelenti, gyakran "p kalap", ill. "q kalap" formában mondják.

[8] A különösen sérülékeny génekre két jól ismert példa a disztrofint és az antihemofíliás globulint (VIII. véralvadási faktort) kódoló gén. Mindkettő az X kromoszómán található, és sokkal nagyobb más géneknél, részletesebben l. 5. fejezet.

egyáltalán nem tudunk. Mindezek figyelembe vételével az emberi génekre az átlagos mutációs ráta $1 \cdot 10^{-6}$ mutáció/gén/generáció közelében lehet, azaz egy-egy gén vonatkozásában 10^6 gamétában kb. 1 friss mutáció várható átlagos esetben (felismeréséhez arra van szükség, hogy hatása a fenotípusban látható, ill. felfedezhető változáshoz vezessen).

A táblázatban felsorolt gének abban is különlegesek, hogy könnyen azonosítható fenotípusos változást okoznak. Egy átlagos, „közönséges" mutáció rendszerint ezeknél sokkal ártalmatlanabb (pl. olyan aminosavcserét jelent a kódolt fehérjében, melynek hatása jelentéktelen – ha van egyáltalán – a fehérje működésére). Néhány kutató úgy véli, hogy az evolúció folyamán bekövetkezett ill. bekövetkező, báziscserét eredményező mutációk közül a legtöbbnek a hatása közömbös volt, ill. közömbös a fenotípus, és így az életrevalóság szempontjából. Ezeket nevezik ***neutrális***, ill. ***közel neutrális mutációk***nak (l. a későbbiekben).

A humán mutációs ráták tanulmányozása molekuláris szinten még éppen csak elkezdődött. A munkához hozzá tartozik a fehérjék aminosav sorrendjének, ill. klónozott DNS molekulaszakaszok nukleotid sorrendjének felderítése és az adatok összehasonlítása (pl. globin polipeptidláncok, ill. az ezeket kódoló DNS-szakaszok összehasonlítása) különböző egyedekből származó mintákból.

Érdekes lenne feleletet kapni arra a kérdésre, hogy van-e eltérés a két nemben bekövetkező mutációk valószínűségében. A nemek közötti különbséget azon az alapon feltételezik, hogy jóval több mutáció történik a replikáció során és jóval kevesebb a sejtciklus más szakaszaiban. Úgy számíthatjuk, hogy 24 sejtosztódás történik az **XX** zigóta és a belőle származó bármely petesejt létrejötte között (az összes leendő petesejt az első meiotikus osztódás profázisában leállítva várakozik az érésre a magzati lét adott szakaszától kezdve). Másrészről egy 25 éves férfiben az **XY** zigóta kialakulásától kezdődően már mintegy 300 sejtosztódáson átesett spermatogoniumokból indul a spermiogenezis. Ha a mutációk valószínűsége az osztódások számával arányos, férfiak ivarsejtjeiben nagyobb – sokkal nagyobb – gyakorisággal fordulnak elő mutációk. Mindezideig az erre vonatkozó állatkísérleti adatok is ritkák és egymásnak ellentmondók. Mivel a spermatogoniumok az egész felnőttkorban folytatják szaporodásukat, és évenként kb. 23-szor osztódnak, az érett spermiumok mondjuk egy 38 éves férfi esetében a 25 éves kor után is újabb 300 osztódást tudhatnak maguk mögött (a zigótától számítva 600 osztódás). Ha

DUPress

21.1. táblázat. *Megbízhatónak tekinthető mutációs ráták néhány humán génre vonatkozóan.*

Jelleg és leírás	Ország	Friss mutáció egy millió gamétában	
Neurofibromatosis (AD)[9]: többszörös, fibromatosus daganatok bőrben és idegszövetben; szétszórt, barnán pigmentált foltok a bőrben (ún. tejeskávé-foltok). Biokémiai háttere nem ismert.	Oroszo. USA	46 100	átl.= 73
Duchenne-típusú izomdisztrófia (XR): Az izomszövet előrehaladó degenerációja fiúkban. Gyermekkorban kezdődik és rendszerint még a felnőttkor elérése előtt halálhoz vezet. Oka egy izommembránhoz kötődő fehérje, a disztrofin hiánya (l. 5. fejezet). Viszonylag könnyen felismerhető halálos betegség.	Anglia Lengyelo. Anglia Németo. É-Írország Japán Svájc USA I. USA II.[10] Anglia	43 46 47 48 60 65 73 92 95 105	átl.= 67
Hemofília A (=klasszikus) (XR): Belső vérzések, különösen ízületi üregek bevérzése, mely az ízület deformálódását is okozhatja, ha sokszor ismétlődik. A véralvadás elhúzódása a VIII. véralvadási faktor hiánya miatt.	Finno. Németo.	32 57	átl.= 44
Akondroplázia (AD): Aránytalan törpeség, rövid végtagok. Normális méretű törzs, nagy fej. Az orrnyereg hátrább nyomott, a homlok előbbre ugró. Porcképződési zavar okozza.	Németo. Dánia É-Írország	8 10 13	átl.= 10
Retinoblasztóma: (AR) Egyik *Rb* allél hiánya, mely rendszerint a másik allél elvesztésével társul a retina fejlődése során. Gyermekkorban retinából kiinduló rosszindulatú daganat, mely ha nem távolítják el a szemet, halálhoz vezet. Fenokópiák valószínűleg komplikálják a képet. Az egyik allél működőképességének hiánya olyan benyomást kelt, mintha autoszomális domináns lenne.	Franciao. Magyaro. Japán Hollandia	5 6 8 12	átl.= 8
Marfan-szindróma (AD): Rendszerint hosszú végtagok és ujjak, gyakran szívbillentyű hibával és szemhibával társulva. Kötőszövet képződésének hibája.	É-Írország	5	–
Hemofilia B (Christmas-betegség) (XR) Hasonló a klasszikus hemofiliához, de rendszerint enyhébb. Véralvadási zavar a IX. faktor hiánya miatt.	Finno. Németo.	2 3	–

[9] A = autoszomális; X = X-hez kötött ; D = domináns ; R = recesszív.

[10] Független felmérések.

Digress

helytálló a mutáció és a sejtosztódások száma között feltételezett arányosság, az idősebb apák utódaiban több mutációt kellene találnunk, mint a fiatal apákéban. Az adatok arra engednek következtetni, hogy ez bizonyos gének esetében megtörténhet. Az apa életkorával növekedni látszik pl. az akondroplóziás törpeség génjének mutációs gyakorisága, de nem minden rendellenesség esetében mutatkozik ilyen emelkedés. Az anya életkorának növekedésével nem várható a mutációs gyakoriságok ilyen növekedése.

Mindent összevetve a gének stabilitása figyelemreméltó, mivel a 10^{-6} körüli mutációs gyakoriság úgy is magyarázható, hogy egy adott gén 1 millió generációnként valószínűleg csak egyszer mutál. Ember esetében az 1 millió nemzedék 20–30 millió évet tenne ki (sokszorosan több, mint az emberiség története!). Ez a becslés akkor helyes, ha a mutációt a fenotípusban könnyebben felismerhető változás okozójaként fogjuk fel. (A feltételezhető neutrális mutációkat nehezebb kimutatni.) Figyelembe véve génjeink nagy számát (25 000–125 000 körülire szokták becsülni, a ma leginkább elfogadott szám kb. 100 000), ezek összessége már elegendő nyersanyagot szolgáltathat mutációjával a változékonyságnak. Az egyes gének vonatkozásában mind a mutációk molekuláris mechanizmusa, mind a valószínűsége nagymértékben különbözhet (utalunk az ún. dinamikus mutációk példájára, ahol a kicsit mutált molekula nagyobb valószínűséggel mutál tovább).

Szelekció

A ***természetes szelekció***, vagy egyszerűen csak szelekció, azt jelenti, hogy a populációban adott időszakban a különböző genotípusú egyedek nem azonos mértékben szaporodnak. A különböző genotípusok felnövekvő utódainak eltérő száma fokozatosan megváltoztatja a populációban lévő allélek együttesét – angol kifejezéssel *gene pool* – melynek kombinációi a populációt alkotó egyedek genotípusait adják. A fenotípusos változások, melyek a szelekciót jelzik, ezekből a genetikai változásokból adódnak. Ezen a módon jöttek létre az evolúció során bekövetkezett változások.

Ebben az alfejezetben megvizsgáljuk a szelekció legegyszerűbben áttekinthető esetét: egyetlen lokusz allélgyakoriságainak változását állandó környezetben.

A valóságban a különböző egyedek eltérő alkalmassága (életrevalósága) azok teljes genotípusának a változatos és változó környezettel való komplex kölcsönhatásától függ (tehát nem elegendő egyetlen lokuszon számbavenni az allélkombinációt).

Az állati és növényi populációkban zajló természetes szelekciót sokan és sokoldalúan tanulmányozták, a folyamat jól dokumentált. Ha egy faj új környezeti feltételek

közé kerül, más típus lesz a legalkalmasabb, és az eltérő szaporodási siker megváltoztatja a populáció génösszetételét, új génösszetételű vonal („törzs", de nem rendszertani értelemben) alakul ki belőle. Erre példák a penicillin-rezisztens baktériumok, a DDT-vel szemben ellenálló szúnyogok, stb. Az Ausztráliába betelepített, s ott később mértéktelenül elszaporodott nyulak ellenállók lettek egy számukra korábban halálos vírussal szemben, mellyel azért fertőzték meg a populációt, hogy a létszámát lecsökkentsék. Idővel a vírus is megváltozott, virulenciája (megbetegítő képessége) lényegesen csökkent. Ez utóbbi változás annak következménye, hogy a vírus csak élő gazdában képes szaporodni, így hátrányba kerültek azok a típusok, melyek a gazda gyors pusztulását okozták, gyorsabban terjedtek szét azok, melyek kevésbé végzetes betegséget okoztak. Híres példa az angol iparvidékek koromtól fekete kérgű nyírfáinak hatása a lepkék evolúciójára: a kezdetben világos szárnyú nyírfaaraszolók populációi olyan népességekké alakultak át, amelyekben a sötét lepkék voltak túlsúlyban, mivel a ritka, sötét színű mutánsok kerülhették el, hogy a madarak észrevegyék és elfogyasszák őket. Majd a használt energiaforrás változásával és a környezet védelme következtében a nyírfák kérge újra világosodni kezdett, ezzel a lepke-populációkban ható szelekció iránya is megváltozott. Újabban ismét nő a világos lepkék gyakorisága.

Újabb állati és növényi tenyészvonalakat, fajtákat állítanak elő ***mesterséges szelekció***val. A nemesítők ezzel növelni tudják ezen élőlények gazdasági hasznosságát vagy esztétikai értékét. Meg kell jegyezni, hogy a szelekció következménye a tenyészvonal szempontjából kedvező, közömbös, vagy – ami leggyakrabban megesik – az általános életrevalóságot rontó hatású. Miközben az ember számára hasznosabbá vagy érdekesebbé válik az új változat, az a csökkent életrevalóság miatt különös gondoskodást igényel.[11]

Azt tartják, a természetes szelekció már nem működik az emberi populációban, mert olyan technológiáink vannak, melyekkel az alkalmasabbak és a kevésbé életképesek esélyeit közelítjük egymáshoz. E szerint a nézet szerint a természetes szelekció változatlan sebességgel tovább működik a többi fajban, de már az emberi népességben hatása nem komoly, szorítása engedett. Az bizonyos, hogy az orvostudomány mára már igen hatékony: felnevel és viszonylag egészséges állapotban tart néhány korábban az életben maradást veszélyeztető genotípust. A fenilketonúriások kevés fenilalanint tartalmazó diétát, a hemofiliások VIII. alvadási faktort kapnak, a cukorbetegeknek inzulint adnak. Bizonyos anatómiai és élettani rendellenességeket, akár öröklöttek, akár nem, a sebészek

---

[11] Tyúk kell, ami többet tojik? Szokatlan színű nutria? Zsírtalanabb disznó? Kecsesebb aranyhal? Bizonyos előrehaladás bármilyen cél irányába a gyakorlatban mindig lehetséges. Nemesíthetünk teheneket, melyek tejében több vagy kevesebb a zsír, kutyákat, melyeknek hosszabb vagy rövidebb lábai vannak, hosszúszőrűek vagy rövidszőrűek, kívánság szerint. Ezek a példák azt mutatják, hogy a mutációk bőségesen ontják a genetikai változatokat, amikből a mesterséges vagy természetes szelekció válogathat.

korrigálnak. A rövidlátók szemüveget hordanak, és ezzel növelik alkalmasságukat a túlélésre, amire kevesebb esélyük lett volna szemüveg nélkül egy vadászó kultúrában. Amennyiben a kezelés képes kiküszöbölni egy-egy allél korábban káros hatását – de csak ennyiben és nem nagyobb mértékben – a szelekció tényleg felfüggesztődik emberi populációkban.

Másrészt Dobzhansky azt feltételezi, hogy a technikai civilizáció szintén hátrányosan megkülönböztethet bizonyos génösszetételeket, melyek korábban jól alkalmazkodottnak számítottak. Fontos-e ma – amikor cigarettafüstnek vagyunk kitéve, egyre több a szennyezés levegőben, vízben és a talajban, étrendünkben feleslegesen sok a zsír – a jó génösszetételen alapuló fokozott ellenállóképesség keringési és tüdőbetegségekkel szemben? Van-e olyan, genetikailag megalapozott élettani rendellenesség, melyet a komplex módon értelmezett társadalmi helyzet, a túlzsúfolt városi környezet súlyosbít? Mekkora különbségek vannak az egyének genetikai adottságaiban? Kevés a válasz és elég sok a kérdés ahhoz, semhogy kijelenthetnénk: a természetes szelekció az embernél már nem működik.

Azt is mondhatjuk, az orvostudomány viszonylag kevés öröklött betegség kezelésére képes. Gyermektelenül halnak meg emberek olyan genetikai adottságok következtében, amivel az orvoslás ma alig tud mit kezdeni. Ráadásul a természetes szelekció nyilván meglehetősen változatlanul működik tovább életünknek abban a szakaszában, amelyik a gametogenezistől az embrionális létünk első néhány hetéig tart. A becslések szerint a megtermékenyítések 15%-a végződik *felismert* spontán vetéléssel, és ismeretlen hányada úgy, hogy a terhesség létrejötte is észrevétlen marad. Feltételezik, hogy a megtermékenyítéseknek legalább 50%-a nem jut el a terminusig, nem végződik gyermek születésével. Így egyes, nem kívánatos allélek kigyomlálása rendszerint nem látható módon folytatódik a gamétaképzés szakaszától az embriogenezis korai szakaszáig (a későbbi hatás észrevevődik).

A 21.2. táblázatban az egyszerű szelekció három különleges típusát mutatjuk be. Az első esetben az ***A*** domináns allél káros, vagy akár letális. Ha ***A*** letális, egyetlen nemzedékben közel nullára csökkenhet gyakorisága. ***Ne felejtsük el,*** a letális nem mindig azt jelenti, hogy az allél megöli hordozóját! A génöszszetétel alakulása szempontjából akkor is letálisnak tekinthető egy allél, ha csupán megakadályozza, hogy az egyed utódokat hozzon létre. Ez esetben minden nemzedékben csak annyi domináns születik, ahány domináns gén friss mutációval (***a*** → ***A***) létrejött, mivel csak az ***aa*** genotípusú egyedeknek vannak utódai.

SZELEKCIÓ RECESSZÍV LETÁLIS FENOTÍPUSOK ELLEN

Nézzük a 21.2. táblázatban feltüntetett II. esetet, ahol homozigóta állapotban a recesszív allél hoz létre csökkent értékű fenotípust. Szélsőséges esetben az életrevalóság csökkenése letális hatást jelent. A csökkenés számszerűen is jellemezhető. (Az életképesség, „fitness", több szerzőnél ***adaptációs érték***, jelölése W, az átlagos utódszámmal jellemezhető. W értéke 1, ha az utódszám egyezik a populációs átlaggal. W < 1, ha az adott fenotípus átlagos felnövekvő utódszáma kisebb a populációs átlagnál: W = 1-s, s: a szelekciós együttható, ami az életképesség, ill. az utódok hátrahagyására való képesség csökkenését méri [$0 \leq s \leq 1$].)

Letális hatás esetén az egyes genotípusok életrevalósága:

	AA	***Aa***	***aa***
W	1	1	0

Az életrevalóság W=1 és W=0 határok között változik: W= 1 a legsikeresebb, W=0 a letális genotípushoz tartozik. A bemutatott példában ***AA*** és ***Aa*** genotípusok adaptációs értéke egyenlő, azaz a heterozigóta állapot nem rosszabb hatású a homozigóta dominánsnál. Ez a helyzet alapvetően más, mint ami a domináns letális allél esetében fennáll. A homozigóta állapotban letális ***a*** allélt normális heterozigóták hordozzák és adják át a következő nemzedéknek. A recesszív allél a heterozigótákban bujkálhat nemzedékek során át, s így védve van a szelekciótól.

21.2. táblázat. *A természetes szelekció különböző típusainak egyszerű modellje*

Modell	*AA*	*Aa*	*aa*	*A szelekció típusa*
I. eset	∅	∅		Egy fenotípus, a domináns ellen
II. eset			∅	Egy fenotípus, a recesszív ellen
III. eset	∅		∅	Mindkét homozigóta ellen (a heterozigóták vannak előnyben)

Kérdés, mennyivel csökken az allél gyakorisága egy generációban. (Ezt a generációnkénti csökkenést szokás ***szelekciós nyomás***nak nevezni.) A válasz könnyebb megtalálása érdekében tételezzük fel, hogy az ***aa*** genotípusú egyedek élve születnek, de meghalnak, mielőtt utódokat hoznának létre. (Bármilyen más körülmény, melynél a homozigóta genotípus adaptációs értéke 0, azaz ki van zárva az utódnemzedék létrehozásából, ugyanarra az allélarány-változásra vezet.)

DUPass

Feltételezzük azt is, hogy a populációban a Hardy és Weinberg által szabott feltételek teljesülnek. A várható csökkenés kiszámolásának menetét a 21.3. táblázatban foglaltuk össze.

Ha a recesszív letális allél relatív gyakorisága a szülők nemzedékében

$$f(a) = q_0,$$

akkor az első utódnemzedékben előfordulásának valószínűsége

$$q_1 = \frac{q_0}{1 + q_0}$$

lesz. Úgy jutunk ehhez az eredményhez, hogy az első nemzedékben várható genotípus-gyakoriságok mindegyikét megszorozzuk saját adaptációs értékével és az így módosított genotípus-arányokból számoljuk ki a gamétákba bejutott s így az utódoknak átadott allélek arányát. Példánkban a p^2, 2pq és q^2 genotípus-arányokat 1, 1 és 0 számokkal kell szorozni, miáltal az utódokat létrehozó genotípusok p^2, 2pq és 0 arányban lesznek jelen; az utódokat létrehozók a populáció egészénél kisebb számban, $1-q^2$ arányban lesznek (azaz csak a homozigóta dominánsoknak és a heterozigótáknak lesznek utódai). A dominánsok homozigóták aránya:

$$\frac{p_0^2}{1 - q_0^2}$$

a heterozigótáké

$$\frac{2p_0q_0}{1 - q_0^2}$$

értékre nő. A gamétákban ezzel a következő nemzedékben a recesszív allél gyakorisága ennek megfelelően

$$q_1 = \frac{p_0q_0}{1 - q_0^2}$$

lesz. Az $1-q^2$ szorzatként is felírható: $(1-q_0) \cdot (1+q_0)$. Mivel $p_0+q_0=1$, $1-q_0=p_0$, ebből a változás mértéke (a szelekciós nyomás):

$$\Delta q = q_1 - q_0 = \frac{-q_0^2}{1 + q_0}$$

DUPress

21.3. táblázat. *A recesszív letális allél gyakoriságának változása egy generációváltás során.*

Algebrai megközelítéssel

0. nemzedék

Egyesülő gaméták: f(a)=q, f(A)=p

	AA	Aa	aa	összes:
Újszülött nemzedék	p^2	2pq	q^2	1
Adaptációs érték	1	1	0	
Utódokat nemző nemzedék	p^2	2pq	0	$p^2+2pq=1-q^2$

1. nemzedék

Egyesülő gaméták:

$$f_1(a) = q_1 = \frac{0 + \frac{1}{2}(2pq)}{1 - q^2} = \frac{pq}{(1-q)\cdot(1+q)} = \frac{q}{1+q}$$

	AA	Aa	aa	összes:
Újszülött nemzedék	p_1^2	$2p_1q_1$		1
Adaptációs érték	1	1	0	
Felnőtt korra	p_1^2	$2p_1q_1$	0	$p_1^2 + 2p_1q_1 = 1 - q_1^2$

azaz negatív számértékeket kapunk, mivel a letális allél gyakorisága a szelekció következtében csökken. Ritkán előforduló allélek esetében a csökkenés mértéke lényegesen kisebb, mint a valamivel gyakrabban előfordulóké. Nagyon ritka allélek esetén a szelekciós nyomás megközelítően a gyakoriság négyzetének felel meg (a nevezőben szereplő 1+q gyakorlatilag nem különbözik 1-től). A szelekciós nyomást %-ban is megadhatjuk. Néhány példa:

q	$q_1=q/(1+q)$	Δq, % (=100x$\Delta q/q$)
0,200 =1/5	0,167 =1/6	-16,67
0,0200 =1/50	0,0196 =1/51	-1,96
0,0200 =1/500	0,001996 =1/501	-0,20

DUPress

Kiemelendő a nagyon nagy elétérés a domináns letálisok szelekciójának hatékonyságától, azok ui. bármilyen ritkák legyenek is, egyetlen lépésben maradéktalanul kiszelektálódnak. Alá kell húzni továbbá, hogy minél ritkább egy recesszív letális allél, annál kevésbé hatékonyan működik ellene a szelekció. Kimutatható, hogy ha egy letális recesszív allél gyakorisága induláskor a szülői nemzedékben q_0, az első utódnemzedékben

$$q_1 = \frac{q_0}{1 + q_0}$$

a másodikban

$$q_2 = \frac{q_0}{1 + 2q_0}$$

és az n-edik nemzedékben

$$q_n = \frac{q_0}{1 + n \cdot q_0}$$

Ez alapján számolva ahhoz, hogy egy recesszív letális allél gyakorisága 0,2-ről 0,02-re csökkenjen 45 generációra van szükség (ui. $1+45 \cdot 0{,}2=10$, azaz a tört értéke a számláló egytizede lesz), 0,02-ről 450 nemzedék alatt csökken 0,002-re. Emberek esetében 25–30 év választja el a szülők nemzedékét az utódokétól, a 450 nemzedék 11 000–13 500 évet jelent. A történelem kezdeteitől eltelt idő nem lett volna elég egy ilyen csökkenéshez, ennyit visszamenve időben a legprimitívebb földművelés kezdeteihez érkeznénk vissza. A hatékonyság romlása jól érthető, ha a Hardy–Weinberg egyenlet alapján áttekintjük különböző allélgyakoriságok esetén a heterozigóták és homozigóta recesszívek létrejöttének valószínűségét. Egyszerűség kedvéért legyen a populáció egyedszáma egymillió:

q	heterozigóták (*AA*) száma	homozigóta recesszívek (*aa*) száma	*Aa:aa* aránya
0,200	320000	40000	8:1
0,020	39200	400	98:1
0,002	3992	4	998:1

Azaz, ahogy egy allél egyre ritkábbá és ritkábbá válik, a heterozigóták száma korántsem csökken olyan rohamosan, mint a homozigótáké. A példa utolsó sorában majdnem ezerszer annyi heterozigóta van, mint homozigóta recesszív. A fenotípusosan normális heterozigótákban a recesszív letális allélek túlnyomó többsége rejtve van a szelekció elől. A szelekció ebben a példában csak a homozigótákra hat.

Századunk elején voltak olyan, ún. ***eugenika***i törekvések(l. 22. fejezet), melyek az emberi faj genetikai állapotát kívánták megjavítani. Azt javasolták, hogy sterilizálják (azaz tegyék utódok létrehozására képtelenné) azokat a személyeket, akik örökletes betegségben szenvednek. Mivel az esetek többségében recesszív allél homozigóta állapota okozza a bajt, kimutatható, hogy egy ilyen program végrehajtása nem lehetett volna sikeres. Tekintsük pl. nemkívánatosnak az albinizmust és legyen az allél kiindulási gyakorisága q=0,01. Az albínók kizárása az utódok létrehozásából a következő gyakoriságokat eredményezné: $q_1 = 0{,}0099 \rightarrow q_2 = 0{,}0098 \rightarrow q_3 = 0{,}0097$, stb. három nemzedék, azaz kb. 100 év alatt nem érnénk el szinte semmi csökkenést. A várható haszon még csak megközelítően sincs arányban az okozott kárral, ami emberi viszonylatokban jelentkezne. Másrészt azt a következtetést is levonhatjuk, hogy a ritka recesszív letális fenotípusú egyedek gyógyítása – pl. a fenilketonúriások diétáztatása –, mely lehetővé teszi számukra a normális emberi életet és utódok nemzését, csak nagyon lassú növekedést okoz az illető recesszív allél gyakoriságában. Évezredekbe telhet, míg az ilyen allélek gyakorisága észrevehetően változik. Szelekciós nyomás híján a változás más evolúciós mechanizmusok – mutáció és genetikai sodródás – közreműködésével következik be.

A recesszív letális allélek csigalassúságú szelekciója az evolúcióban nem a leglassúbb változás. A nem letális, csupán az életképességet csökkentő recesszív allélek szelekciója ennél is lassúbb folyamat. Ez esetben ui. a homozigóta recesszívek is, bár a többi genotípusnál rosszabb hatásfokkal, továbbadják génjeiket (recesszív alléljüket minden utódjuk örökli). Figyelemmel kell lenni arra az esetre is, melyben a „recesszív" allél a heterozigóták esélyeit is rontja valamennyire. Ha ez bekövetkezik, a szelekció felgyorsul, mivel a heterozigóták viszonylag gyakoribbak.

Lényegesen csökkenthető a recesszíven öröklődő súlyos betegséggel születő gyermekek aránya, ha felismerjük és figyeljük az ilyen jellegre heterozigótákat (a felismerést néhány esetben biokémiai módszerrel végezhető szűrés segítheti). Genetikai tanácsadás, prenatális diagnosztika segíthet elkerülni azt, hogy heterozigóták házasságából beteg gyerek szülessen (l. 22. fejezet). A szolgálat igénybevétele önkéntes, és több eredményre vezet, mint a korábban javasolt sterilizáció.

DIAPress

SZELEKCIÓ MINDKÉT HOMOZIGÓTA ELLEN

A 21.2. táblázatban III. esetként leírt formája a szelekciónak. Legismertebb humán példája a maláriás vidékeken élő emberi populációk polimorfizmusa a sarlósejtes hemoglobin allélre. Nézzük először az elméleti modellt, amit szokás a ***heterozigóták előnye***ként emlegetni:

	Genotípusok		
	Hb^AHb^A	Hb^AHb^S	Hb^SHb^S
Adaptációs érték	$1-s_1$	1	$1-s_2$

A homozigóták adaptációs értéke kisebb 1-nél, mivel ellenük szelekció hat, azaz nem eléggé alkalmazkodottak adott helyen a létfeltételekhez. A kétféle homozigóta esetében nem azonos a szelekciós hátrány – mások szóhasználatában a ***szelekciós koefficiens*** –, ami az életrevalóság, ill. utódok létrehozására való esély csökkenését méri. (Az adaptációs érték: W=1-s; következésképpen $0 \leq s \leq 1$; ha $s = 1 \rightarrow W = 0$, ha $s = 0 \rightarrow W = 1$). A 21.4. táblázatban tekinthetjük át a szelekció ezen típusának következményeit és a használható számítási módszereket. Az allélgyakoriság egy nemzedék alatt bekövetkező változása (a ***szelekciós nyomás***) kissé bonyolultabb képlet segítségével számítható ki. Mivel a p+q=1 viszony továbbra is megmarad, $\Delta q = -\Delta p$.

Kérdezhetjük, mitől függ az, hogy Δp értéke pozitív (p növekszik) vagy negatív (p csökken) lesz. Minden paraméter (p, q, s_1, s_2) önmagában csak 0 vagy pozitív lehet. A számláló a benne szereplő tagoktól függően negatív is, pozitív is ill. 0 is lehet. A nevező csak pozitív lehet (mivel, ha az összes homozigóta kiszelektálódna is megmaradnának a heterozigóták).

A számlálót áttekintve adódik, hogy Δp akkor lesz negatív, ha s_1p nagyobb, mint s_2q, és akkor lesz pozitív, ha s_1p kisebb s_2q értékénél. Mikor lesz $\Delta p=0$? Ha $s_1p=s_2q$.

Oldjuk meg az egyenletrendszert p-re, hogy megkapjuk az egyensúly feltételét!

$$s_1p=s_2q=s_2(1-p) = s_2-s_2p$$

$$s_1p+s_2p = s_2$$

$$p(s_1+s_2) = s_2$$

$$\hat{p} = \frac{s_2}{s_1 + s_2} \qquad \hat{q} = \frac{s_1}{s_1 + s_2}$$

DUPress

Vegyük észre, hogy

$$\frac{s_1}{s_1 + s_2} + \frac{s_2}{s_1 + s_2} = 1$$

Az egyensúly akkor áll be és marad fent tartósan, amikor az allélgyakoriságok elérik a szelekciós koefficiensek által meghatározott értékeket. Az egyensúlyi arányok mindaddig változatlanok maradnak, amíg a környezet megváltozásával egyik vagy másik, vagy mindkét homozigóta adaptációs értéke ill. szelekciós hátrányának mértéke meg nem változik.

A sarlósejtes allél esete jól szemlélteti az ilyen típusú szelekciót. Afrikának azokon a vidékein, ahol a malária hosszú idők óta elterjedt, hátrányban vannak a hemoglobin normális β-láncának alléljére homozigóták (Hb^AHb^A) is, mivel megbetegszenek és gyakran belehalnak a maláriával történő fertőzésbe. A heterozigóták (Hb^AHb^S) fenotípusosan egészségesek és ellenállók maláriával szemben. Jóllehet a sarlósejtes allélra homozigóták (Hb^SHb^S) szintén ellenállók maláriával szemben, ennek alig van jelentősége. Súlyosan anémiások, mert vörösvérsejtjeik könnyen szétesnek, állapotukba többnyire belehalnak még a felnőttkor elérése előtt. A Hb^AHb^A homozigótáknak 15%-a hal bele a maláriába, mielőtt gyereke lehetne, a Hb^SHb^S homozigóták 90%-a hal bele a sarlósejtes anémia komplikációiba szintén kamasz koráig. (Ezek az adatok a heterozigótákhoz viszonyítva értendők.) Áttekintve a leírtakat:

	Genotípus		
	Hb^AHb^A	Hb^AHb^S	Hb^SHb^S
szelekciós koefficines	0,15	0	0,90
adaptációs érték	0,85	1	0,10

Ezekből számolva az egyensúlyi gyakoriságokat:

$$\hat{p} = \frac{s_2}{s_1 + s_2} = \frac{0,9}{0,15 + 0,9} = \frac{90}{105} = 0,86$$

$$\hat{q} = \frac{s_1}{s_1 + s_2} = \frac{0,15}{0,15 + 0,90} = \frac{15}{105} = 0,14$$

DUPress

Ezek az allélarányok jellemzők Afrika azon vidékeinek lakosságára, ahol az emberek maláriával való fertőzésnek vannak kitéve.

Ha összehasonlítjuk a malária elterjedtségének és a sarlósejtes anémia allélje gyakoriságának térképét, meglepő módon hasonlóak, ill. fedik egymást (21.2. ábra). A malária és egy másik hemoglobin-defektushoz vezető allél gyakoriságának földrajzi egybeesését alapul véve Haldene vetette fel először a fertőző betegség gyakori előfordulása és a hibás gén felszaporodása közötti összefüggés gondolatát. Annak igazolására, hogy a $Hb^S Hb^S$ genotípusú heterozigóta egyedek valóban ellenállóbbak maláriával szemben, mint a normális homozigóták, több forrásból is vannak adataink:

(1) Azokon a területeken, ahol a maláriával való fertőződés gyakori, a heterozigóták aránya a normális homozigótákhoz képest az életkor előrehaladtával növekszik. Ez a heterozigóták jobb ellenálló képességével magyarázható.

(2) A populációk átvizsgálása és önkéntesekkel végzett kísérletek azt mutatják, hogy a heterozigóták A- és S-hemoglobinokat tartalmazó vörösvértestjeit nehezebb maláriával fertőzni, és ha mégis fertőződnek, a paraziták kevésbé eredményesen szaporodnak azokban, mint $Hb^A Hb^A$ homozigóták normális vörösvérsejtjeiben.

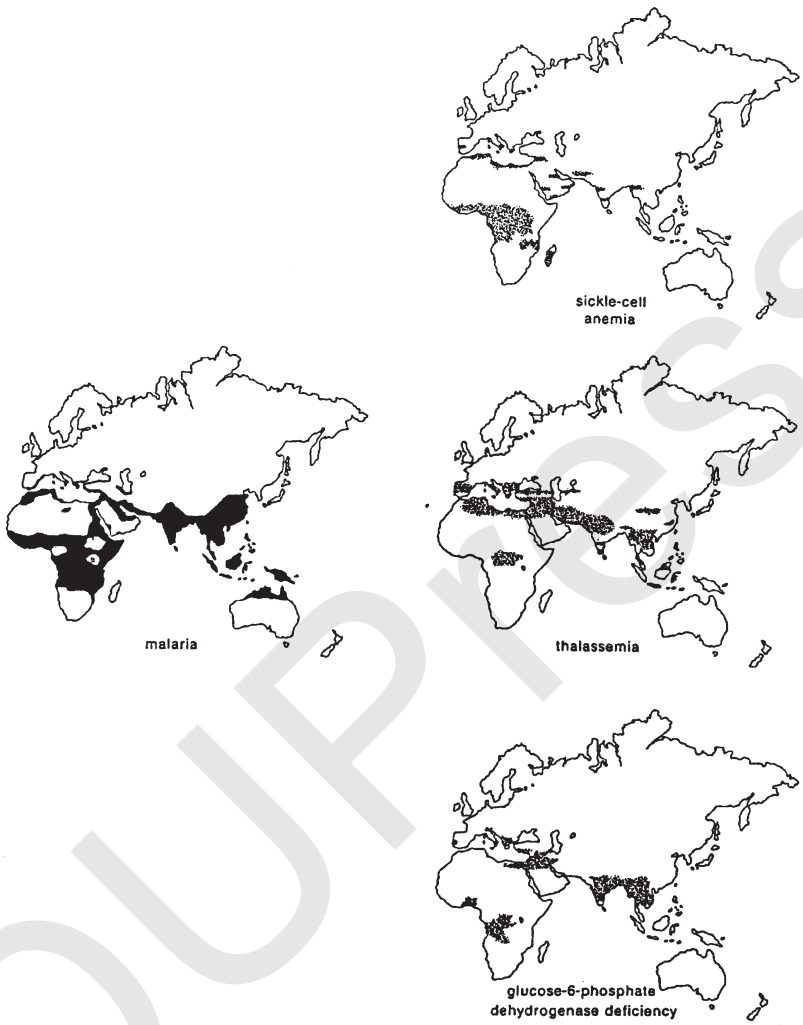
(3) Kórházi statisztikák is azt mutatják, hogy a heterozigóták maláriás halálozása messze alatta marad a normális homozigótákénak.

Magyarázatul szolgálhat, hogy a malária kórokozója, a *Plasmodium vivax* (ill. másik két, vele rokon faj) a vörösvértestekben szaporodik. A fertőzött vörösvértestek megduzzadnak, merevebbekké válnak, könnyen fennakadnak a kapillárisokhoz közeledve valamelyik elágazásnál. A fennakadt vörösvértest környezetében lokális 0_2-hiány keletkezik. Az S-hemoglobint is tartalmazó vörösvértest 0_2-hiányban szétesik (a csak S-hemoglobint tartalmazó vvt károsodása 0_2-hiány nélkül is bekövetkezik), a vörösvértest szétesésével a paraziták szaporodása megszakad. A heterozigóták tehát kevésbé fogékonyak e betegségre.

A heterozigóták szelekciós előnye ***stabil polimorfizmus***t eredményez. A szelekció stabilizáló hatású: az allél-arányok bármilyen eltolódása esetén a szelekció az egyensúlyi arányokhoz téríti vissza azokat. Visszatérve ismertetett példánkhoz, ha az $s_1p = s_2q$ egyensúlyi feltétel nem teljesül, szelekció hatására változni kezdenek az allélarányok, pl. $s_1p > s_2q$ esetén csökkenni kezd a normális allél gyakorisága (fordított helyzetben fordítva). Másként kifejezve: adott szelekciós koefficiensek mellett, ha

$$p < 0{,}86, \rightarrow \Delta p > 0, \text{ ha } p > 0{,}86 \rightarrow \Delta p < 0.$$

A heterozigóták előnye az egyik út, ami az allélek gyakoriságának köztes értéken való kiegyensúlyozásához vezet az egymással ellentétes hatású szelekciós erők közreműködése által.



21.2. ábra. *A malária földrajzi elterjedtsége az Óvilágban, 1930 előtt.* Hasonlítsuk össze három örökletes betegséget okozó allél elterjedtségével (sarlósejtes anémia, thalassemia és glükóz-6-foszfát dehidrogenáz defektus [X-hez kötött]). Meg kell jegyezni, hogy a glükóz-6-foszfát dehidrogenáz hiánya is sérülékennyé teszi a vörösvértesteket, s ezzel a malária kórokozójának szaporodása ellen hat.

DUPress

Hasonló egyensúlyhoz más okok is vezethenek. Pl. szelekciós előnyt jelenthet egy allél, ha ritkán fordul elő a populációban, de hátrányos lehet, ha gyakorisága nagy – azaz a szelekció iránya és erőssége (***szelekciós koefficiens***) az allélgyakoriságtól is függhet[12]. További lehetőség, hogy a környezet több, egymástól eltérő mikrokörnyezetet („ökológiai fészek" vagy ***niche***) foglal magába, ezért eleve többféle genotípus egyidejű jelenléte szükséges a populáció optimális alkalmazkodásához. Bár bizonyítani nehéz, feltételezhető, hogy ez utóbbi két forma, ill. ezekhez hasonló mechanizmusok gyakrabban okai a kiegyensúlyozott polimorfizmusnak, mint a heterozigóták előnyének a sarlósejtes allél esetében érvényesülő szélsőséges formája.

A világnak azokon a tájain, ahol a malária nem megszokott fertőző betegség, a normális hemoglobin génjére homozigóták adaptációs értéke maximális, mivel a maláriás vidékeken csak a könnyebb fertőződésből, és a betegség súlyosabb kimeneteléből adódott szelekciós hátrányuk. (A heterozigóták adaptációs értéke szokványos körülmények között szintén maximális, de az O_2-hiányos állapotot nehezebben viselik el.)

Ha nincs malária, csak a sarlósejtes homozigóták ellen működik szelekció, az allélek arányának eltolódása ennek következtében egyirányúvá válik (leszámítva a nagyon ritka mutációk hatását). Az Egyesült Államokban is a Hb^S allél csak egyszerű közel letális recesszívként jelenik meg, nem jelentkezik heterozigóta-előny. Afrika maláriás vidékeiről az Egyesült Államokba vitt feketék leszármazottaiban a Hb^S allél lassú kiküszöbölődése figyelhető meg. Az eltelt idő még nem volt elegendő, hogy az allél gyakorisága az európai eredetű népességben megfigyelhető alacsony szintre csökkenjen. A homozigóták születése ma is komoly probléma.

Átvándorlás és drift

A mutáció és szelekció, melyek hatásait az allélgyakoriságokra áttekintettük, az evolúciós változásoknak csak egy részét magyarázza meg. Még két tényező, a szubpopulációk közötti átvándorlások (=migrációk) és a drift hatása is jelentős. A következőkben ezeket fogjuk áttekinteni.

---

[12] Ennek egyik példája a heterozigóták már leírt előnye, melynél a homozigóták ellen irányuló szelekció tartja az egyensúlyt. Elvileg hasonló hatású bizonyos, akár több lokuszt is magába foglaló rendszeren valamilyen allélkombináció kedvező volta.

MIGRÁCIÓ ÉS GÉNÁRAMLÁS

A migráció, azaz a vándorlás – ami egyedek, csoportok, populációk vándorlását jelenti – az emberi evolúcióban is fontos szerepet játszott. A történelem előtti időkben ez gyakran korábban ember-nem-lakta területek benépesítését jelentette (pl. kelet-ázsiaiak átvándorlása az amerikai kontinensre), az újonnan benépesedett területeken új szelekciós hatások érvényesülésével. Az újabb korok bevándorlásai (pl. európaiak és afrikaiak betelepülése Amerikába) már lakott területekre történtek. Még ha az újonnan betelepülők genetikailag elkülönültek is szomszédaiktól, az elkülönülés nem volt teljes, legtöbbször történt bizonyos keveredés. Ha nem is nagyobb számban, születtek utódok különböző eredetű szülőktől, ez kevert származású (hibrid) populációk létrejöttét eredményezte a későbbi nemzedékekben.

Gének, allélek átadását egymástól különböző eredetű populációk (pontosabban szubpopulációk) között ***génáramlás***nak nevezzük. (Ez lehet egyirányú vagy kölcsönös.) Ha a két alpopuláció (egyik amelyikből, másik amelyikbe „áramlanak" gének) allélgyakoriságai különböznek egymástól induláskor, a génáramlás, azaz új allélek belépése a populációba, egy idő után kimutatható. Egy, egyébként önazonosságot megőrző populáció esetében új allélek beáramlása a genetikai változatosságot, sokféleséget növeli. Másrészt, mivel a gének beáramlása miatt lesznek a két populáció számára közös ősök, a génáramlás következtében az érintett populációk hasonlósága nagyobb lesz.

A génáramlások mennyiségi analízisét felhasználják a vándorlások történetére vonatkozó hiányos ismeretek kiegészítésére. Az eddig vizsgált hibrid-populációk közül néhány példa:

- Amerikai feketék: különböző afrikai populációk leszármazottaiba különböző európai populációk (leginkább angol) génjeinek beáramlása.
- Brazíliai populációk altípusai: három különböző népesség génjeinek keveredése: amerikai bennszülöttek (indiánok), szudáni és bantu négerek, európaiak (portugálok, olaszok és spanyolok).
- Hawaii népcsoportok: több úton is lezajlott keveredések (polinéziaiak, európaiak, kínaiak, Fülöp-szigetiek).

Ha a keveredés mértékére, arányaira kívánunk információt nyerni, azokra a génekre összpontosítjuk figyelmünket, melyek a szelekció szempontjából közöm-bösek, vagy megközelítően közömbösek, és amelyek alléljeinek gyakoriságában markáns különbségek vannak a kiindulási populációk között.

Egyik ilyen allél az Rh-vércsoport génje esetén az R^O allél[13] (esetében enyhe szelekció hat az Rh-negatív anya és az Rh-pozitív magzat összeférhetetlensége miatt, de a szelekciós hatás kifejezetten gyenge).

[13] R^0 -ként jelölik – az elnevezések hagyományát őrizve – az Rh-allélek cDe kombinációját.

A számításokban használt jelölések:

p = a vizsgált allél (esetünkben R^o) gyakorisága a hibrid-populációban

p_1, p_2, p_3, ... = a vizsgált allél (R^o) gyakorisága a kiindulási populációkban

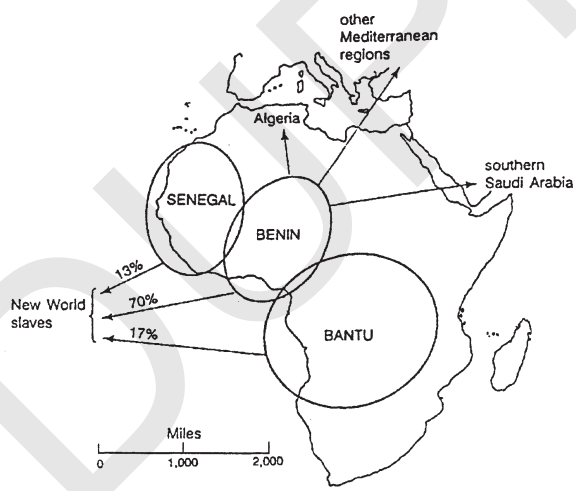
m_1, m_2, m_3, ... = adott kiindulási populáció génjeinek aránya a kevert populáció génállományában, azaz a hányad, mellyel egyik és másik szülői populáció a hibrid-populáció létrejöttéhez hozzájárult.

A felsorolt mennyiségek közötti összefüggés:

$$p = m_1p_1 + m_2p_2 + m_3p_3 + ... + m_np_n$$

Az alkalmazott számítási mód emlékeztet pl. festékoldatok keverésével előállított oldat fényelnyelésének kiszámolására: a végső szín kialakításához minden komponens a saját koncentrációjával hozzákeverése arányában járul hozzá. A végeredményben megjelenő p arány közti helyet foglal el a szülői szélsőségek között. Ez egyaránt igaz festékoldatok vagy populációk génállományának összekeverésére.

Gyakorlatban a kifejezés számos hiba lehetőségét rejti magában, az egyes összetevők arányai (az m értékek) csak durván becsülhetők segítségével. A nehézségeket az amerikai feketék példáján szemléltetjük. A XVIII. század folyamán kb. 400 000 rabszolgát hurcoltak az Egyesült Államokba Afrika nyugati partvidékeiről. A rabszolgák összefogdosása északon Szenegáltól kezdve (innen származott 13%), középen Beninen keresztül (70%) délen a bantu nyelvet beszélő vidékekig (17%) terjedő parti sávban történt. (Ez a sáv kb. 4800 km-es partszakaszra terjedt ki. Az egyes vidékekről származók arányát a leszármazottak sarlósejtes mutációt hordozó kromoszómáinak restrikciós enzimmel végzett elemzése alapján lehetett becsülni. l. 21.3. ábra és későbbi szöveg!)



21.3. ábra. *A Hb^S allélt hordozó három különböző kromoszóma eredete és terjedése afrikai népcsoportok migrációjával.* (Ellipszisek jelzik az eredet helyét.) Minden kromoszóma haplotípus felismerhető és meghatározható a β-globin gén környezetében található 60 kbp nagyságú DNS-darab RFLP-mintázata alapján. Egymástól független $Hb^A \rightarrow Hb^S$ mutációk jöttek létre mindhárom, háttérként szolgáló haplotípusban valamikor a távoli múltban, és ma azt tudjuk vizsgálni, hogy ezek közül melyik haplotípusba van a mutáns allél beágyazva.

DUPLICATE

Az USA-ban a fekete rabszolgák és az európai eredetű fehérek közös utódait, csaknem minden esetben, feketéknek tekintették és tekintik. Nagyon ritka, hogy azt, akinek fekete őse is volt, fehérnek tartsák. Ennek következtében az a látszat keletkezik, hogy a génáramlás egyirányú.

A kortárs amerikai feketék vonatkozásában jelölje m_1 az afrikai ősöktől származó allélek hányadát és m_2 az európai ősöktől származó allélekét, és legyen $m_1 + m_2 = 1$ (azaz csak ezt a két szülői populációt tartjuk említésre érdemesnek). A két összetevő értékei a képlet segítségével a p, p_1 és p_2 ismeretében kiszámíthatók:

$$p = m_1 p_1 + m_2 p_2$$

Az R^o allél esetében ismerjük a mai amerikai feketék populációjában p értékét, azaz az allél gyakoriságát. Nincs adatunk viszont arra vonatkozóan, mekkora volt p_1 és p_2 értéke a keveredésben részt vevő populációkban sok-sok évvel ezelőtt, mivel visszamenőlegesen nem tudjuk megállapítani az Rh-allélek vonatkozásában az egyedek genotípusát. A legjobb, amit tehetünk, hogy a mai nyugat-afrikai és európai populációk adataival számolunk (súlyozva az adatokat!).

Egy másik nehézség abból ered, hogy az Egyesült Államokban élő feketék nem tekinthetők homogén populációnak. Az R^o allél vonatkozásában a feketék között a következő variációkat találjuk:

$p = f(R^o)$	mintavétel helye
0,56	Charleston, Dél-Karolina
0,49	Oakland, Kalifornia
0,36	New York

A pontatlanságok tudatában típusosnak vesszük az alább felsorolt adatokat:

$p = 0,5$ (amerikai feketék)
$p_1 = 0,6$ (afrikai ősök)
$p_2 = 0,025$ (európai ősök)

Ezekből becsülve:

$$m_1 = \frac{p - p_2}{p_1 - p} = \frac{0,5 - 0,025}{0,6 - 0,025} = \frac{475}{575} = 0,83$$

$$m_2 = 1 - m_1 = 0,17$$

Ezen számítás eredménye szerint tehát általában véve az amerikai feketék őseinek 83%-a afrikai, 17%-a európai volt. Ha az alpopulációkat tekintjük jelentős különbségeket kapunk: a déli államokban a fehér ősök aránya kisebb (4–10%), északon nagyobb (20–30%) – talán azért, mert délen több volt a fekete és merevebb volt az elkülönülés.

A β-globin gén sarlósejtes alléljének vizsgálatát is használni lehet emberi populációk múltbeli vándorlásainak felderítésére. A mai sarlósejtes alléleket létrehozó $Hb^A \rightarrow Hb^S$ mutációk 2000–3000 évvel ezelőtt következtek be Afrika néhány maláriás vidékén és Ázsiában. A β-globin gén környezetében lévő DNS restrikciós enzimekkel nyert fragmentumainak vizsgálatával Afrikában három különböző vidéken (Szenegál, Benin és a bantu nyelvű terület) három, egymástól független mutáció nyoma mutatható ki. A negyedik mutáns allél Ázsiában valahol a Szaud-Arábia és India közötti területen történt.

Ez a négy mutáns allél szaporodott fel és terjedt el a maláriás területeken. A Benin környékén létrejött mutáns allél jutott el a Szaharán átkelő karavánok közvetítésével a Földközi-tenger térségébe és Szaud-Arábia déli részébe. Az egyes allélek eredete a globin gén környezetét alkotó 60 kbp-nyi DNS restrikciós fragmentum-hosszak polimorfizmusának vizsgálatával (RFLP) egyértelműen megállapítható.

Az egyes eltérő eredetű allélek környezetében lévő DNS más-más restrikciós enzimekkel hasítva az enzimtől és az eredettől függően más-más hosszúságú fragmentumokra esik szét. Egyes restrikciós enzimek néhány felismerő helye hiányzik, néhány felismerő helye újként van jelen az eltérő eredetű allélek környezetében. A kapott eredmények alapján az allélt hordozó kromoszóma szakaszról, a kromoszomális háttérről, az egy kromoszómán, egymás szomszédságában elhelyezkedő, kapcsoltan öröklődő gének csoportjáról, gyakran használt megnevezéssel a haplotípusról kapunk képet. Azokon a vidékeken, ahol az allélek létrejöttek és felszaporodtak, a sarlósejtes anémiások döntő többsége ugyanarra az adott vidéken létrejött haplotípusra homozigóta.

Érdekes, hogy az Észak-Afrikában – pl. Algériában – élő feketék, más mediterrán vidékek és Szaud-Arábia déli részének lakói kizárólag a benini típusú Hb^S allélt hordozzák (= terjedés a szaharai karavánutak mentén).

A negyedik haplotípus (eredete nincs feltüntetve a 21.3. ábrán) Ázsiában található. Mindeddig fel nem derített okból homozigóta állapotban ez az allél valamivel enyhébb sarlósejtes anémiát okoz.

VÉLETLEN SODRÓDÁS = GENETIKAI DRIFT

A ***sodródás*** (*drift*) példáját már ismertettük a 20. fejezetben a pennsylvaniai ámisok körében az Ellis–van Creveld szindrómát okozó recesszív allél felszaporodásának magyarázataként. Valami véletlen mintavételi ok[14] következtében az allél kezdeti gyakorisága nagyobb volt a populációt alapító kis csoport körében, mint az átlagnépességben. Ez az ***alapító hatás*** is a drift egyik példája. Az alapító hatás szélsőséges esetében (egyetlen pár az alapító) nagyon különböző allélgyakoriságok kialakulásának valószínűségeit a 21.5. táblázat mutatja. (A szimmetria kedvéért feltételezzük, hogy az alappopulációban, melyből a mintavétel történik p=q=0,5 az *R* és *r* allélekre.) Mindössze egyetlen szülőpár kiválasztása az alappopulációból nem valószínű, hogy jól reprezentálná azt. Az esetek háromnyolcadában a kiválasztott pár allél arányai egyezni fognak az alappopuláció allél arányaival. Ez akkor esik meg, ha a pár mindkét tagja heterozigóta, vagy ha egyikük az egyik, másikuk a másik allélre homozigóta. Az eljárás kiterjeszthető különböző allél gyakoriságok előfordulási valószínűségének tetszőleges számú egyedből álló kis mintákban történő kiszámítására is. Az ilyen elemzések legfőbb tanulsága, hogy

[14] Mintavételnek tekintjük itt egy kis létszámú csoport elkülönülését a nagy létszámú népességtől (bár maguk választották külön önmagukat). Ilyenkor, ha a kis létszámú mintába belekerül egy olyan allél, ami az alapnépességben nagyon ritka, már a minta kis mérete is megnöveli gyakoriságát.

minél nagyobb a minta, annál nagyobb valószínűséggel fog egyezni allélgyakorisága az alappopuláció (melyből a minta származik) allélgyakoriságával.

Általánosabb érvényű fogalmazásban: a véletlen genetikai sodródás, a drift, annak következménye, hogy az utódok nemzedéke, a kis létszám miatt, nem tekinthető a szülői nemzedék allél-összetételét és arányait jól, torzítás nélkül tükröző (=reprezentatív) mintának. A mintavétel pontatlanságában fontos tényező, hogy az egyes szülőpárok nem azonos számú utóddal járulnak hozzá a következő, szintén utódok létrehozására képes nemzedékhez. Alá kell húzni, hogy itt nem a szelekció okozta különbségekről van szó! (Szülők és még fel nem nőtt utódok elsősorban nem genetikai okok következtében, leggyakrabban véletlenül szoktak elpusztulni. Pusztulásuk vagy megmaradásuk az esetek nagyobb részében nem függ genotípusuktól.)

21.5. táblázat. *Alapító hatás modellje egy két szülőből álló populáció esetén.* Az ábra azt mutatja, hogy egy p=q=0,5 allélgyakorisággal jellemezhető populációból hányféleképpen és milyen valószínűséggel kombinálódhatnak az adott lokuszon vizsgált genotípusok, ha véletlenszerűen választja egymást egy emberpár (ez jelentheti az egyetlen emberpárral induló alapító hatást is). 6 különböző kombinációban találkozhat a 3 genotípus – ezt a táblázatban a genotípus jele alatt a megfelelő sorban elhelyezett Ø mutatja. Minden kombinációban megadjuk a domináns és recesszív allélek számát és ábrázoljuk a *P* értéket.

Az alapítók genotípusa	Genotípusok és gyakoriságok			Allélek száma a mintában		$P = f(R)$					A minta valószínűsége
	RR	*Rr*	*rr*								
	1/4	1/2	1/4	*R*	*r*	0	0.25	0.5	0.75	1	
1	Ø,Ø			4	0						$(1/4)^2 = 1/16$
2	Ø	Ø		3	1						$2(1/4)(1/2) = 4/16$
3		Ø,Ø		2	2						$(1/2)^2 + 2(1/4)^2 = 6/16$
4	Ø		Ø	2	2						
5		Ø	Ø	1	3						$2(1/2)(1/4) = 4/16$
6			Ø,Ø	0	4						$(1/4)^2 = 1/16$

Ha a populáció kis létszáma miatt nemzedékeken át pontatlan és nem reprezentatív a mintavétel, azaz az utódok allél arányai nem egyeznek a korábbi nemzedékével, nagyfokú eltolódás halmozódhat fel az allél arányokban. Egyik-másik allél ok nélkül eltűnhet, mások érdemtelenül kizárólagossá válnak.

Visszatérve a példaként ismertetett ámisokhoz, azok a családok, melyek az Ellis–van Creveld szindrómáért felelős allélt hordozták, néhány generáción át valamilyen más, véletlen okból termékenyebbek voltak az átlagosnál.

Az is a mintavétel véletlen ingadozását okozhatja és sodródáshoz vezethet, ha a heterozigóták megtermékenyítő ill. megtermékenyített gamétáiban az allélek aránya eltér a várható 0,5 : 0,5 értéktől.

Megismerve a szelekció és sodródás hatásait, joggal kérdezhetjük, mi a következménye az egyszeri, nem ismétlődő mutációnak a populáció allél összetételének alakulására. Ha a populáció hirtelen szaporodásnak indult ("népesség-robbanás"), még az adaptációs értéket többé-kevésbé csökkentő mutáns allélek is megmaradnak és elszaporodnak.

Nem növekvő populációban viszont az adaptációs érték szempontjából az eredetivel egyenértékű mutáns allélek is „kihígulnak", egyre csökkenő valószínűséggel lesznek jelen az egymást követő nemzedékek génállományában. Fisher szerint az elvesztés valószínűségét az egymást követő nemzedékekben Poisson-eloszlás alapján lehet kiszámítani. Így annak valószínűsége, hogy már az első utódnemzedéknek sem adódik át $P_1(m \Rightarrow 0)=0{,}3679$, a harmadik nemzedékig $P_3=0{,}6259$, 15.-ig $P_{15}=0{,}8873$, 127.-ig $P_{127}=0{,}9847$. Ha a mutáns allél 1%-os szelekciós előnyt ad hordozójának. Ez esetben $P_1=0{,}3642$, $P_3=0{,}6917$, $P_{15}=0{,}8783$, $P_{127}=0{,}9729$ valószínűséggel vész el.

Az evolúció mechanizmusára vonatkozó eltérő nézetek

Az egyes evolúciós erők fontosságára vonatkozóan bemutatunk néhány egymással versengő nézetet. Azt a tényt, hogy a mai élőlények az evolúció folyamatában alakultak ki, nyíltan egyik nézet képviselői sem vonják kétségbe. A vita a hogyanról folyik, arról, hogy melyik tényezőnek mekkora volt a szerepe. Ha meg kell magyarázni az egész mai élővilág csodálatos sokféleségét és bonyolultságát, látszólag minden hivatásos biológus érvek sokaságát képes felsorakoztatni, melyek mind az evolúciós változások évmilliók – évszázmilliók alatti fokozatos létrejöttét és egymásra épülését bizonyítják. Olyanok is akadnak azonban, akik (sokszor nagyon hevesen és nagy publikumot megcélozva) megpróbálják magát az evolúciós elméletet felremagyarázva lejáratni.

A viták a tudomány élő voltát és erejét jelzik. Bizonyos mértékig a tudományt művelő személyiségek között a nézetkülönbségek időnként elkerülhetetlenek.

A DRIFT SZEREPE

Sokat vitatták és vitatják a sodródás szerepét az evolúció alakulásában. Míg Wright nagyon fontos szerepet tulajdonított a drift hatásának, addig Fisher nem tartotta ezt jelentősnek. Bár az egymással ütköző érvek alapját legtöbbször gondos és szakszerű statisztikák adták, a különbségek bemutatása nem a matematika nyelvén történt. Fishernek az volt a meggyőződése, hogy az evolúció nagy populációkban ment végbe valamilyen fajta

szelekciós rendszer keretében (azokhoz hasonló rendszerekben, amilyeneket korábban is leírtunk). Az ilyen rendszerekben az evolúciós változások nagyon lassan mennek végbe, ebben biztosak lehetünk, viszont a rendelkezésre álló idő is nagyon hosszú. Wright azt hangsúlyozta, hogy az evolúció gyorsabban is haladhat, ha a populáció szétszakad mérsékeltebb létszámú csoportokra, szubpopulációkra, melyek között korlátozott számban vándorolnak át egyedek. Ez az ún. ***elcsúszó egyensúly elmélete***. Ennek értelmében lehetőség van egy nagy, de alcsoportokra osztott populációban arra, hogy jó alkalmazkodást biztosító allél kombinációt akkor is felválthasson egy még jobb, ha egyik kombinációból csak kevésbé életrevaló közti formákon át lehet eljutni a másikba. Másrészt viszont ha az alpopuláció túlságosan kis létszámú, ez elkerülhetetlenül valamelyik allél fixálódásához, ezzel a genetikai változatosság csökkenéséhez vezet, ami képtelenné teszi a populációt a változó környezethez való alkalmazkodásra, ill. az csak valamely új mutáció elterjedése útján történhet. Wright írta, hogy a se nem túl kicsi, se nem túl nagy létszámú populációban állandó a kaleidoszkóp-szerűen változó, ide-oda csúszkáló egyensúly-változás az allél kombinációk között. Ezek a kombinációk önmagukban nem adaptív jellegűek, de lehetővé teszik, hogy időről-időre új, adaptív értékű kombinációk is megjelenjenek. Ezek az új, az alkalmazkodást is szolgálni tudó kombinációk soha nem jönnének létre, ha csupán a szelekció hatna a génösszetételre.

Wright felfogása szerint ezek a szerencsés allél kombinációk, melyek véletlenszerűen alakulnak ki különböző lokuszokon, ugyanolyan szelekciós nyomásnak vannak kitéve, mint az egyes allélek, melyeknek szelekciójára Haldane és Fisher alapozták elméletüket. Az egymástól viszonylag elkülönült alpopulációkban a mutáció, szelekció és drift egymáshoz kapcsolódva alakítja az allél-kombinációkat, így alakulhatnak ki egy-egy fajnak egymástól különböző, de egyaránt jól alkalmazkodott ún. törzsei (a tenyészvonal értlemében vett „törzs"-ről van szó!). Az emberi populációk evolúciójában a történelem előtti időkben nagyobb szerepet játszott a drift, mivel az emberi faj egymástól meglehetősen elszigetelt kis csoportokban élt (vadász-csoportok, törzsek, nemzetségek). Bár még ma is vannak többé-kevésbé elszigetelt népek, izolátumok, napjainkban az emberiség egyre inkább a Fisher által elképzelt nagy populációhoz válik hasonlóvá.

A VARIABILITÁS TERMÉSZETE

Az allélek változatossága nélkül, a változatosság folyamatos létezése nélkül a szelekció tehetetlen lenne, nem volna evolúció. A fajokra általában elég nagyfokú genetikai

sokféleség jellemző[15]. Az emberi globin láncokban a működés szempontjából elviselhető aminosav-cserék legnagyobb része valóban elő is fordul, bár ezek legtöbbje nagyon ritkán található meg. Definició szerint akkor tekintünk egy lokuszt polimorfnak, ha két vagy több olyan allél tartozik hozzá, melyek gyakorisága legalább 1%. A fajokban több gén vonatkozásában polimorfizmus mutatható ki. Emberi populációkban a különböző rendszerekbe tartozó vércsoportokat és a HLA-antigéneket meghatározó gének különösen polimorfak. Más fehérjék, enzimek vonatkozásában elektroforézissel mutattak ki polimorfizmust véletlenszerűen kiválasztott egészséges egyénekből vett minták vizsgálatával. Így emberi enzimeket tanulmányozva 104 különböző lokusz közül 33 polimorfizmusa volt kimutatható – ha nem is minden populációban, de legalább egy nagy etnikai csoportban. A lokuszok 32%-ának (33/104) kimutatható polimorfizmusa több okból is a várható érték minimumának tekinthető:

(*1*) A lehetséges aminosav-cserék ill. különbözőségek kétharmada nem okoz eltérést a fehérjék töltésében.

(*2*) Megesik, hogy egy adott fehérje két eltérő töltésű variánsa elektroforézisben a szokásos körülmények között azonos sebességgel vándorol .

(*3*) Vannak mutációk, elsősorban a kodon harmadik bázisát megváltoztatók, melyek egyáltalán nem okoznak változást a kódolt fehérje aminosav-sorrendjében. Hasonlóképpen, egy báziscsere valamelyik gén egyik intronjában általában nincs hatással a gén által kódolt fehérjére. Ezeknek a mutációknak a kutatása egyre gyakoribb, módszertana is fejlődőben van: restrikciós analízis, PCR + SSCP (polimeráz láncreakció + egyszálas DNS konformációs polimorfizmusának vizsgálata), DNS nukleotid sorrendjének meghatározása.

A DNS vizsgálatával a polimorfizmus minden esetben felismerhető. A vizsgált fajokban igen sok lokusz polimorfizmusát tapasztalták. Ezek létrejöttét két egymással ellentétes nézetet valló tábor magyarázza. Egyik a szelekcióban hívők, a másik a neutrális mutációk szerepét hirdetők tábora.

---

[15] Hogy a természetben mennyire hátrányos a genetikai egyformaság, több példa is szemlélteti. Egyik a gepárdok esete. Csaknem minden lokuszon homozigóta fajról van szó, melynek egyedei majdnem úgy hasonlítanak egymáshoz, mint ha egypetéjű ikrek lennének. Nagyon rosszul szaporodnak, ivarsejtjeiknek is nagyobb része abnormális. A fajt a kihalás fenyegeti. (Evolúciójukban valamikor nagyon lecsökkent az egyedszám, túlságosan erős volt az ún. palacknyak-hatás. Másik példa a növények és a növényevő rovarok küzdelme. A növények védekezésül mérgező alkaloidákat termelnek, a rovarok ezek ellen rezisztens mutációk megjelenésével és elterjedésével veszik fel a harcot. Kimutatták, hogy nem az a növényi populáció áll ellen a rovaroknak, amelyik nagy mennyiségű alkaloidot termel, hanem az, amelynek egyedei leginkább különböznek egymástól a termelt alkaloidokat tekintve. A genetikai egyformaság kiszolgáltatja a fajt egy-egy parazitának, kórokozónak, vagy egy környezeti változás pusztító hatásának.

A ***szelekcionista álláspont***[16] Darwinig nyúlik vissza. Úgy tekinti, hogy a variációkat a természetes szelekció tartja fent, melynek nyersanyagát a véletlenszerű mutációs események szolgáltatják. A mutációk többsége káros az életrevalóság szempontjából, vagyis szelekció hat a mutáns allélek ellen, ezért ezeknek az alléleknek a gyakorisága alacsony szintre szorul vissza (ez a klasszikus nézet). Néha az is előfordul, hogy a mutáció kedvező hatású allélt hoz létre, mikor is az allél kedvező hatású lehet már a létrejöttekor is vagy később válhat azzá a környezet változásával. Ez esetben az új allél ki fogja szorítani idővel a kevésbé megfelelő régit.

A polimorfizmus a szelekcionista álláspont szerint többnyire azt jelenti, hogy az allélváltás valamilyen köztes állapotig haladt előre, azaz a polimorfizmus átmeneti (=tranziens) jelenség. Akkor is polimorfizmus jön létre, ha a szelekció mindkét allél homozigóta állapota ellen hat – mint pl. sarlósejtes hemoglobin esetén –, ez esetben a polimorfizmus egyensúlyozó. (A szelekcionista álláspont szerint is van még néhány módja annak, hogy polimorfizmus alakuljon ki).

Mint arra lábjegyzetben már utaltunk, a genetikai polimorfizmus önmaga is szelekciós előny.

A ***neutralista álláspont*** feltevése szerint a változatok jelentős része szelekciós szempontból közömbös, azaz neutrális. A populációkban kimutatható allél-változatok magyarázatát a múltban lezajlott mutációk és a későbbiekben végbement véletlen gyakoriság-változások adják. A véletlen gyakoriság-változás, vagyis a drift nagy valószínűséggel kiküszöböli a mutáció következtében létrejött új allélek többségét, míg néhány, mutációval létrejött, kezdetben ritka allélt felszaporít. A neutralisták elfogadják azt, hogy bizonyos mutációk károsak, és a káros mutáns allélek gyakoriságát a szelekció szorítja le a tapasztalt alacsony szintre. Viszont nézetük szerint néhány ritka allél-variáns és a polimorf allél-változatok szelekciós szempontból közömbösek, neutrális hatású mutációk eredményeként jöttek létre, gyakoriságukat a drift alakította.

A neutralisták szerint azonos eredetű, funkciójú gének különböző fajokban megfigyelhető különbségeit hosszú idő alatt a neutrális változatok létrejöttén és arányaik véletlen változásain keresztül, a drift hozza létre.

---

[16] Ma a szelekcionista táborban is két különböző irányzat képviselői találhatók. A **punktuációnalisták** azt hangsúlyozzák, hogy az evolúcióban a változások viszonylag rövid ideig tartó szakaszait, olyan hosszú időszakok követik, melyekben gyakorlatilag nincs változás, ún. *stasis* alakul ki. Szerintük a kövületekből hiányzó láncszemek nem jelentenek kihagyást a kövületek kialakulásában, hanem az evolúciós változások ugráló jellegét tükrözik. Ez az irányzat is fontosnak tartja a kis populációk és a drift szerepét. Mások **gradualisták**, az evolúciós változások fokozatosságát, folyamatosságát hangsúlyozzák. Napjainkban - úgy tűnik - a két irányzat közeledik egymáshoz és egységes elméletté olvad össze.

Duplicate

A neutralista álláspont alátámasztására adatokat nyerhetünk valamely fehérjemolekula (vagy DNS-szakasz) sorrendjét vizsgálva különböző fajokban. Pl. ha a normális hemoglobin β-láncát tanulmányozzuk emberben és más fajokban:

Fajok	Az emberi β-lánc adott pozícióban lévő aminosavától különböző aminosavak száma
csimpánzok	0
gorillák	1
Rhesus macacus	8
más gerincesek	>8

A néhány aminosavnyi eltérés ellenére valamennyi felsorolt hemoglobin kiválóan ellátja feladatát abban a szervezetben, melyben található.

Az egyes fajok közös eredetű fehérjéiben bekövetkezett aminosav-cserék számából következtetni lehet arra, hogy fejlődésük mennyi ideje (rendszerint 10 és 100 millió években mérve) különült el egymástól, történt meg az utak szétágazása („divergencia"). Az egyes fejlődési utak szétválásának idejére a paleontológusok is tudnak következtetni a kövületekből. A két eredmény egyeztethető, ezzel az evolúciós biokémiai óra hozzáigazítható az őslénytani órához.

A MOLEKULÁRIS GENETIKA HOZZÁJÁRULÁSA AZ EVOLÚCIÓRÓL ALKOTOTT ELKÉPZELÉSEKHEZ

Az élőlényeket felépítő alkotó elemek molekuláris szinten történő megismerése sok tekintetben kiegészítette, de egyben alá is támasztotta Darwin elképzeléseit.

A neutralisták álláspontját pl. alátámasztani látszik ha bizonyos fehérjék bizonyos szekvenciáit vizsgáljuk. Jól ismert azonban a tény, hogy ugyanazon fehérjéken belül is találunk szakaszokat, amelyek gyakrabban, más szakaszok viszont soha sem változnak. A különböző DNS szekvenciák kutatásában is fontos kutatási módszer annak vizsgálata, vajon az illető szekvencia evolúciósan konzervált-e, vagy sem (l. 16. fejezet). A konzervált szekvenciák állandósága nem erősebb szerkezeti felépítésükből ered, hanem abból szükségszerűségből, hogy az őket hordozó élőlény csak változatlanságuk esetén marad életképes.

A hiszton molekulák aminosav sorrendje pl. a legkülönbözőbb fajokban is csaknem azonos. Ennek nyilvánvalóan az az okszerű magyarázata, hogy a funkció szempontjából a molekula minden részlete fontos, praktikusan minden aminosav-csere összeegyez-

tethetetlen az élettel. DNS-szakaszok nukleotid-sorrendjének vizsgálata azt mutatja, hogy intronokban és a kodonok harmadik helyén a mutációk gyakoribbak, mint a funkció szempontjából kritikusabb pozíciókban.

A magasabbrendűekre jellemző magára az információs rendszerre ható mechanizmusok fejlődése, tökéletesedése. Ilyenek a DNS javító rendszerek, a kromoszómák struktúrájának összetettebbé válása, de mindenekelőtt a változékonyságot biztosító mechanizmusok tökéletesedése.

♦ A magasabbrendűekben a genetikai információ tárolása nem folyamatos, génjeinkben exonok és intronok váltják egymást (ami egyébként az Archebaktériumoktól származó örökség). Ez az információs rendszernek nagyfokú flexibilitást kölcsönöz (l. 16. fejezet).

♦ A fajok döntő többségében új egyed csak megtermékenyülés (szexuális folyamat) útján képződhet, ez mintegy intézményesíti a különböző DNS szekvencia változásokat.

♦ A mozgékony genetikai elemek, mindenek előtt az ***exon keveredés*** (*shuffling*) megjelenése, melyek a mutáció szervezett, „beépített" mechanizmusait képviselik. Vegyük észre, hogy az exon keveredés során olyan genetikai elemek újra kombinálása megy végbe, amelyek más génekben, más kombinációban már betöltöttek eredményes funkciót. Az exon keveredésnek a törzsfejlődés szempontjából fiatal jellegét mutatja, hogy pont az ún. ***moduláris fehérjék*** nélkülözhetetlenek a soksejtes élőlények működéséhez (extracelluláris struktúrfehérjék, sejt-sejt kölcsönhatásokban résztvevő fehérjék, sejtfelszíni receptor fehérjék, véralvadási faktorok, valamint a vérrögök feloldódásában szereplő enzim fehérjék és az immunglobulinok, l. 14. fejezet). Különösen az immun rendszerrel kapcsolatban fontos tudni, hogy az a gerincesek között is csak a fejlettebbek sajátja.

♦ A hnRNS molekulák alternatív átszabása lehetővé teszi, hogy egy kisebb számú átírási egységből nagyobb számú fehérjeféleség keletkezzék (l. 16. fejezet). Emlékeztetünk rá, hogy az emberben mintegy 35 000 gén, de ugyanakkor legalább 100 000 különböző fehérje mutatható ki. Sejtjeink ezt a lehetőséget a sejtanyagcsere szabályozásában is messzemenően kihasználják. Ismert olyan adat, mely szerint ugyanazon hnRNS molekula átszabása még a napszakok szerint is változik![17]

♦ az immunglobulinok génjeinek kialakulása folyamán a nyiroksejtekben (szomatikus sejtek!) programozott helyspecifikus rekombináció figyelhető meg (V-D-J szekvenciák, l 14. fejezet).

Természetesnek kell tartsuk, hogy a magasabbrendűek fejlettebb változatképzési mechanizmusaiban is benne rejlik a hibalehetőség. Tanúságos felfigyelni arra, hogy a ***daganatok*** olyan, a szomatikus sejtek szintjén bekövetkező genetikai változások ered-

---

[17] Olyan kísérleti adat is ismert, hogy amikor a magasabbrendű sejtbe exonmentes DNS szekvenciát ültettek *in vitro*, a sejt utólag „írt" bele intronokat.

ményeként keletkeznek (hiperdiploidia, kromoszóma transzlokáció, deléció, stb., ill. az ezek hátterében meghúzódó, ma már jól ismert molekuláris mechanizmusok [illegitim rekombinációk, transzpozíciók stb.]), amelyek a fajok átalakulása során is meghatározóak. A daganatos sejtek elődeiktől örökletes módon különböző, életképes sejtek. Az eukarióta, ill. emlős sejtek nagyobb genetikai variációs lehetőségei ezen molekuláris mechanizmusok megjelenésének köszönhetők, eredményezik az ide tartozó fajok jobb alkalmazkodó képességét, nagyobb változékonyságát. Másrészt viszont, ugyanezen mechanizmusok működésének tudható be sok súlyos, ma még gyógyíthatatlan betegség.

A rasszok áttekintése genetikai szempontok szerint

A ***faj*** és ***fajta*** (emberek esetében a fajtát ***rassz***nak nevezik) jól ismert fogalmak és olyan csoportokat jelölnek, melyek határain belül több közös vonás van az egyedek között, mint a csoport valamelyik tagja és bármely más csoporthoz tartozó egyed között. A rassz (fajta) vonatkozásában nem mindig egyszerű feladat sem a csoportok körülhatárolása, sem a rasszok közötti különbségek mérése.

Kezdjük az egyértelműbb és egyszerűbb fogalommal, a fajjal. A faj hasonló egyedek olyan csoportja, melynek tagjai egymás között párosodva termékeny utódokat hoznak létre, míg más fajok egyedeivel párosodva nem jön létre, vagy terméketlen az utód, (pl. ló × szamár → öszvér). A közös őstől származó fajok elkülönülése egymástól az evolúció legfontosabb kérdése, mely nagyrészt a már leírt mechanizmusok közreműködésével valósul meg.

A szétágazási folyamat hosszú időszaka alatt a földrajzilag elkülönült csoportokban egymástól eltérő allél gyakoriságok alakulnak ki, más mutáns allélek halmozódnak fel, kromoszóma részletek más–más módon rendeződhetnek át, még a DNS mennyisége is módosulhat. Az elszigeteltség hosszas fennállása során előbb-utóbb, így vagy úgy megszűnik a csoportok közötti termékeny kereszteződés lehetősége. Ezzel az elkülönült csoportok új fajokká alakultak.

DUPress

A RASSZOK LÉTEZÉSÉNEK REALITÁSA, ÉS KÜRÖLHATÁROLHATÓSÁGUK ÖNKÉNYES VOLTA

Ahogy az egymástól elszigetelt populációk egyre különbözőbbé válnak és különöző fajokká fejlődnek, ha elég hosszú ideig tart az elkülönültség, ugyanúgy az egyes fajokon belül is lehetnek egymástól többé-kevésbé különböző csoportok, alcsoportok. A *Homo sapiens* kiterjedt vándorlásai során bejárta az egész Földet és azon szétszóródva telepedett meg mintegy 40 000 – 60 000 évvel ezelőtt. A különböző területeken letelepedett csoportok között – részben az erősen eltérő környezetben ható természetes szelekció következtében – jellemző különbségek alakultak ki. Ezek egy része szabad szemmel látható, mint a bőrszín, testalkat, jellegzetes arc. Ezeket a fenotípusos jegyeket lehet felhasználni a főbb csoportok kialakításában. Három nagy rasszt szokás megkülönböztetni: afrikai, kaukázusi és keleti. Az egyes főbb csoportok között jellegzetes különbségek vannak bizonyos allélek gyakoriságában is, mint pl. vércsoportok, HLA-típusok, enzimváltozatok, különböző DNS-régiók RFLP-mintázata, stb. Ezek a különbségek rejtettek és csak laboratóriumi vizsgálatokkal deríthetők fel.

> A rasszok, mint egy fajon belüli, egymástól többé-kevésbé különböző alcsoportok definiálhatók, melyek allél gyakoriságaiban is különbségek vannak, és egymástól többé-kevésbé elkülönülő populációkban élnek. Alá kell húznunk, hogy az emberi rasszok esetében nincsenek olyan nagyfokú különbségek, amelyek akárcsak meg is közelítenék az egymástól elválóban lévő fajok különbségeit. Két tény is alátámasztja, hogy nincs szó külön fajokra válásról: 1) A rendelkezésre álló idő ehhez nagyon kevés volt, 2) A csoportok elszigeteltsége viszonylagos volt, állandó volt az egyedek vándorlása a csoportok között, és így mindig volt valamennyi génkeveredés. (A számítások szerint 4 generációnként egyetlen bevándorló egyed bármilyen nagy populációban már befolyásolja az allél összetétel ill. arányok alakulását!) Ha van egyáltalán, nagyon kevés lehet az olyan humán populáció, mely teljes elszigeteltségben élt vagy él néhány generációnál hosszabb ideig.

Abban általános az egyetértés, mikor tekintsünk két populációt két külön fajnak, *viszont nincs egyetlen olyan általánosan elfogadott, egyértelmű kritérium sem, melynek alapján a rasszokat megkülönböztethetnénk egymástól.* Arra vonatkozóan is többféle vélemény és elgondolás van, hogy milyen rasszok vannak egyáltalán az emberi fajban és hogyan végezzük a besorolást[18].

---

[18] Az osztályozás problémái azzal kezdődnek, hogy hány választóvonalat és hol helyezünk el az egymással gyakran összemosódó, ill. átmenetekkel összekötött típusok között. A típusoknak a számbavétele, ha helyesen járunk el, tudományos érdeklődésre tarthat számot. Elsősorban annak megválaszolásában segíthet, hogyan fejlődött az emberiség, milyen evolúciós erők és mechanizmusok járultak hozzá a különböző típusok kialakulásához. Orvosi haszna is lehet a különbségek ismeretének: pl. Finnországban nem kell fenilketonúriára szűrést végezni.

A rasszista előítéletek miatt néhányan szívesen helyettesítik a rassz kifejezést semlegesebb jelentésű szavakkal, pl. ***etnikai csoport***ot vagy populációt mondanak helyette. *A humán variabilitás, az emberi sokféleség, valóban létezik,* de az, ahogyan a sokféleséget megtestesítő típusokat kisebb vagy nagyobb fogalmi keretekbe, kategóriákba soroljuk, a határokat ide vagy oda tologatjuk, az önkényes. Az egyes. rasszokba történő besoroláshoz semmiféle különös értéket vagy értéktelenséget nem rendelhetünk hozzá, az ilyesminek nincs semmilyen tudományos alapja!

HUMÁN VARIABILITÁS – AZ EMBERI SOKFÉLESÉG

A rasszok közötti különbségek felderítésére és jellemzésére használt hagyományos antropológiai mérések során különböző testrészek nagyságát (szélesség, hosszúság, körfogat, stb.), alakját, színét mérték ill. jellemezték a mért adatokkal[19]. A mérések eredményei folytonos skálán helyezkednek el, és nem tudjuk, milyen elvi alapon húzhatjuk meg a határt a folytonos skála egyik vagy másik értékénél.

Az antropológusok, hogy a jelzett problémákat legalább részben elkerüljék (minden ellentmondás semmiképpen sem küszöbölhető ki), egyre inkább az egyértelműen megkülönböztethető, hatásukban is egyszerű gének vizsgálatára térnek át, melyek egy vagy több populációban polimorfak. Az allél gyakoriságokat az öröklésmenet ismeretében a Hardy–Weinberg egyenlet alapján számolták pl. az AB0 vércsoportrendszer vonatkozásában. Nagy adattömeget összegezve kétségtelenül találunk különbségeket az emberi rasszok allél gyakoriságaiban.

A 21.4. ábrán jelen tudásunk példájaként az AB0 rendszer B antigénjét kialakító I^B allél földrajzi elterjedését mutatjuk be. A legnagyobb gyakorisággal (kb. 30%) Közép-Ázsiában fordul elő. Európa felé nyugatra haladva a centrumból a gyakoriság 5% alá csökken, és még ennél is kevesebb a Spanyolország és Franciaország egymással határos vidékein élő baszkok populációjában. A I^B allél nyugat felé fokozatosan csökkenő gyakorisága Európában az V. és XV. századok közötti időkben lezajlott mongol betörések, ill. bevándorlások következménye. Hiányzik az I^B allél az Amerikában őshonos indián és az ausztráliai bennszülött populációkban.

Más vércsoportok, pl. az MN, Rh és Duffy, esetében még nagyobb eltéréseket találtak az allélek gyakoriságában. (A variációk fajlagossága génről génre változik.) A 21.6.

---

[19] Ezeket a jellegeket lényegesen befolyásolják a környezeti tényezők, és genetikai hátterüket is sok gén alléljeinek kombinációja adja. A poligénes rendszerben résztvevő gének pontos funkcióját, hatását nem ismerjük. Így azok a törekvések, melyek a rasszok körülhatárolását a morfológiai különbségekre kívánnák alapozni, komoly nehézségekbe ütköznek.

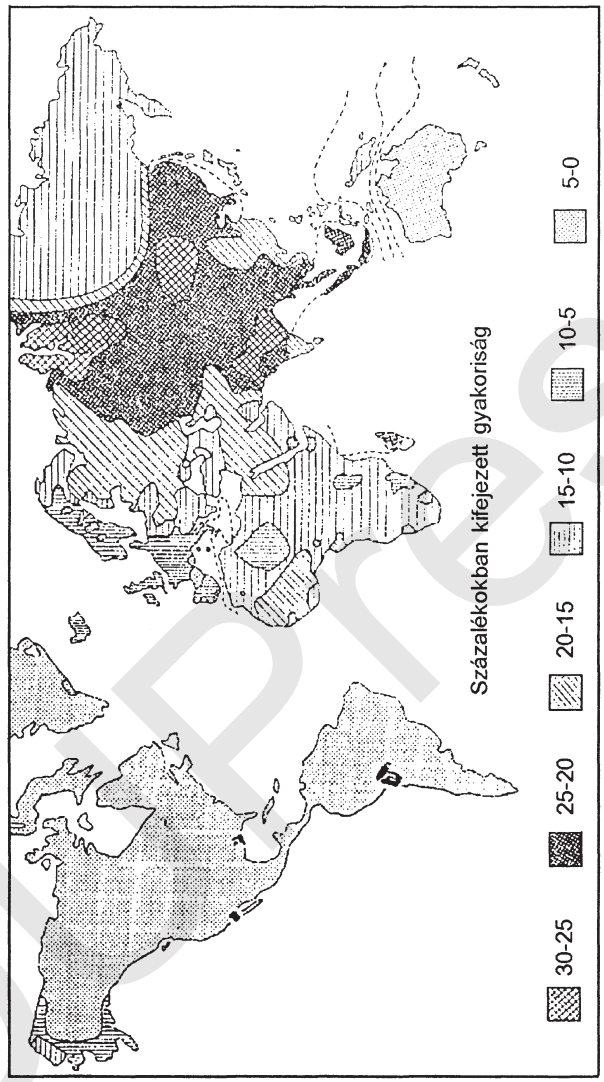
táblázat néhány típusos *Rh* allél gyakoriságot mutat, melyeket egy rendkívül nagy adathalmazból emeltünk ki. Az Rh-negatív fenotípust eredményező recesszív allél (*r*) legnagyobb gyakorisággal a kaukázusi rasszban fordul elő és a keleti rasszban a legritkább. Ne felejtsük el, hogy valamely rasszhoz tartozás sokkal jellemzőbb ebben a vonatkozásban, mint adott népesség földrajzi elhelyezkedése – hasonlítsuk össze pl. az amerikai fehérek, amerikai feketék és indiánok allél gyakoriságát.

21.6. táblázat. *Tipikus Rh allél frekvenciák különböző emberi populációkban.*

	Allélgyakoriságok (%)	
Populáció	*R (= D)*	*r (= d)*
Kaukázusiak		
Spanyol baszkok	50	50
Amerikai fehérek Ausztráliai fehérek Spanyolok	60	40
Afrikaiak		
Amerikai feketék	70	30
Angolai bantuk Nigériaiak	75	25
Keletiek		
Amerikai indiánok Ausztráliai bennszülöttek Japánok Kinaiak	95<	közel 0

Újabban másfajta, de szintén egyszerűen öröklődő markerek vizsgálatával gazdagodott az antropológusok eszköztára. Ezek közé tartozik különböző plazmafehérjék (immunoglobulinok, haptoglobinok, transzferrinek), vvt enzimek (dehidrogenázok, foszfatázok), hemoglobin típusok, hisztokompatibilitási típusok és mitokondriális DNS-szekvenciák variánsainak tanulmányozása. További eredményeket várhatunk a rasszok közötti különbségek megismerésében bizonyos DNS-szakaszok restrikciós enzimekkel történő elemzésétől és a nukleotid sorrendek összehasonlításától.

DuPress



21.4. ábra. *Az I^B allél gyakorisága különböző földrajzi területeken az ottani eredeti népességben.*

DUPress

Az ilyen vizsgálatokból levonható általános következtetés az, hogy az emberi populációk allél gyakoriságaiban figyelemreméltó variációk fedezhetők fel. A különbségek a rasszok allél gyakoriságaiban általában nem minőségiek (nem arról van szó, hogy egy allél egyes populációkban jelen lenne, másokból hiányozna), hanem mennyiségiek (= egyikben gyakoribb, másokban ritkább egy-egy allél). Nincs egyetlen allél sem, melynek jelenléte vagy hiánya alapján körülhatárolhatnánk egy rasszt, vagy annál is kisebb csoportot. Inkább az allél-gyakoriságok kombinációja sok eltérő génre, a génállomány egészének összetétele az, amit egy-egy rassz jellemzésére elfogadhatóan objektív kritériumként használni lehet[20].

EGYEDISÉG (INDIVIDUALITÁS)

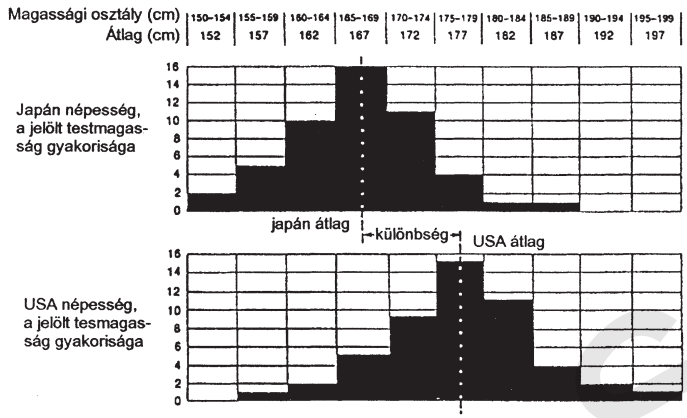
Mivel nagyon sok polimorfizmus létezik, ez azt jelenti, hogy a „tiszta rassz" eszméje hamis. A tisztaság a típusok állandóságát, azaz csupa homozigótákból álló populációt jelentene, valami hasonlót a Mendel által használt tiszta származéksorok borsóihoz, csupa egyforma egyeddel. Az emberiség története során az állandó vándorlások állandóan keverték a génállományt, ezért sem létezhetnek „tiszta rasszok".[21]

A könnyen felismerhető és szembetűnő bélyegek, mint a bőrszín, a szemhéj formája, kialakulásában csak néhány gén működik közre a mintegy 35 000 humán génből. Még ha ezek a sajátos jegyek lehetővé is teszik a besorolást, annak tudatában kell lennünk, hogy minden csoporton belül nagyon nagy a változatosság. *Bármelyik rasszon belül az egyes egyedek genetikai változatossága nagyobb különbségekre terjed ki, mint bármelyik két rassz átlagának különbsége.* A rasszon belüli és rasszok közötti eltéréseket a testmagasság példáján az 21.5. ábra szemlélteti.

---

[20] Matematikai eljárásokat dolgoztak ki, melyek segítségével néhány gén allélgyakoriságait egyetlen mérőszámban lehet összegezni, melynek segítségével a különbségek mértéke jellemezhető két populációt összehasonlítva. Az ilyen adatok kiegészítik és általában megerősítik a morfológiai bélyegeken alapuló besorolást.

[21] A génáramlás nem újkeletű jelenség. Egyre több olyan kövületet ismerünk, mely azt mutatja, tízezer évekkel ezelőtt a *Homo sapiens* néhány különböző változata együtt élt. Az emberi populációk váltakozva ismétlődő szétválásai és összeolvadásai azt jelentik, hogy az emberi rasszok alakulása és besorolása nem volt, ill. nem lehet statikus.



21.5. ábra. *Csoporton belüli és csoportok közötti változatosság szemléltetése.* A hisztogramok a különböző testmagasságú fiatal felnőtt férfiak gyakoriságát mutatják egy japán és egy Egyesült Államok-beli populációban. (Az egyszerűség kedvéért gyakoriság helyett egy-egy 50 fős mintában előforduló, adott magasságú egyének számát tüntetik fel a hisztogramok, de ezek arányosak egy nagyobb mintában várható relatív gyakoriságokkal.) Mindkét csoporton belül több, mint 40 cm különbség van a legmagasabbak és a legalacsonyabbak magassága között, viszont a csoportok átlagának különbsége mindössze 10 cm.

Az emberi géneknek kb. egyharmada polimorf[22]. A DNS restrikciós enzimek (RFLP) analízisével kapott újabb adatokból arra lehet következtetni, hogy véletlenszerűen kiválasztva két embert néhány száz bázispáronként találhatunk 1 bázispárnyi különbséget DNS-ükben. DNS-szinten tehát két véletlenszerűen kiválasztott ember között akár 15 millió bázispárnyi különbség is lehet (egy diploid sejt DNS állománya $3x10^9$ bázispárt tartalmaz, és feltételeztük, hogy 200-ból 1 különbözik), annak ellenére, hogy semmi fenotípusos következményét ennek nem látjuk. Ebből az következik, hogy nullával egyenlő annak valószínűsége, hogy két embernek teljesen azonos legyen a genotípusa. Genetikai szempontból minden egyed egyedülálló, különleges, egyszeri és megismételhetetlen – kivéve az egypetéjű ikreket.

[22] Az egyes polimorf gének allél-gyakoriságaiból kiindulva kiszámítható, hogy egy átlagos egyén az elektroforézisben kimutatható enzimvariánsokat kódoló alléleknek kb. 6%-ára heterozigóta. Génjeink számát 35 000-nek véve a 6% kb. 2000 lokuszt jelent.

Összefoglalás

(*1*) Az élőlények formákban gazdag, roppant nagy sorának az evolúciója mutációk, véletlen genetikai sodródások, átvándorlások és ami különösen fontos volt, a természetes szelekció közreműködésével folyt és folyik. Nagyon leegyszerűsítve azt mondhatjuk, hogy az evolúció az allél gyakoriságok fokozatos változásával valósul meg.

(*2*) A mutációk szolgáltatják az evolúcióhoz a nyersanyagot. A friss domináns mutációk arról ismerhetők fel, hogy az utódban megmutatkozó domináns jelleg egyik szülőben sem mutatható ki. A domináns mutáció tehát azonnal megmutatkozik. A recesszív mutációk nemzedékek során át rejtve maradhatnak, amíg homozigóta állapotba nem kerülnek a mutáns allélek. A friss mutációk nem fedezhetők fel a fenotípusban.

(*3*) A mutációs ráták mérése emberben pontatlan, azért is, mert ritkán következik be egy-egy meghatározott génben mutáció. Típusos esetben egy adott gén mutációja egymillió gaméta képződése során 1 gamétában következik be (ill. 1 gamétába kerül be).

(*4*) Szelekció akkor történik, ha egy populációban a különböző genotípusok adaptációs értéke (más elnevezéssel életrevalósága, azaz túlélési esélye vagy termékenysége) különböző. A környezet változásával változik, ill. változhat az egyes genotípusok adaptációs értéke.

(*5*) A ritka recesszív fenotípusok ellen ható szelekció eredményessége sokkal gyorsabban csökken, mint a létrehozó allél gyakorisága. Ha nagyon ritka az allél, gyakorisága alig csökken, mivel az allélek többsége a heterozigótákban rejtve van a szelekció elől.

(*6*) A heterozigótáknak kedvező szelekció stabilizálja az allél gyakoriságokat egy köztes szinten. A sarlósejtes allél maláriás vidékeken kialakuló egyensúlya egyik legismertebb példa erre.

(*7*) Az átvándorlások génáramlást eredményeznek, azaz a bevándorlók új alléleket visznek a populációkba, és ezzel befolyásolják azok allél arányainak alakulását. Az elkeveredés után az összetevők arányaira esetenként az allél gyakoriságok elemzésével következtethetünk.

(*8*) A drift, a genetikai sodródás véletlenszerű, szeszélyes változásokat okoz az allélek gyakoriságában. Minél kisebb a populáció, annál jelentősebb a véletlen sodródás. Jelentőségét az evolúcióban az 1930-as évektől feltételezik és vitatják.

(*9*) Az emberi faj genetikai szempontból meglehetősen változatos, mind a nagyon ritka allélek, mind a polimorf allélek tekintetében. A változatosság egy részét szelekciós nyomás tartja fenn, a többi gén alléljeinek sokfélesége közömbös hatású mutációk és a drift következtében jött létre.

(*10*) Az emberi rasszok az evolúció folyamán, annak keretében jöttek létre. Az allél gyakoriságokat jellemző összesített (halmozott) mérőszám az egyes rasszokra más-

Pureos

más értékűnek adódik, mivel az allél gyakoriságok az egyes rasszokban jellegzetesen különböznek. Mégis az egyes rasszok közötti határ elmosódott abban az értelemben, hogy az egyes rasszokon belül nagyobbak a variációk, mint a rasszok átlagai közötti különbségek.

(*11*) Az emberi populációkban az egyének genotípusa nagyon különböző. Minden egyén genotípusa egyedi és különbözik minden más egyén genotípusától.

Kérdések

(*1*) Ha a legtöbb mutáció a DNS replikációja közben következik be, a spermiumokban több kellene legyen az új mutáció, mint a petesejtekben. Miért?

(*2*) Azt találták, hogy a gyermek születésének idejére számolva az apák életkorának átlaga akondropláziás törpék esetében nagyobb (azaz az apák általában idősebbek, mint normális gyermek esetén). Próbáljuk ezt a megfigyelést megmagyarázni!

(*3*) Tételezzük fel, hogy ritka domináns allél penetranciája nem 100%-os. Így néhány érintett gyermek szüleiről nem derül ki ránézésre, hogy egyikük vagy másikuk maga is hordozza a mutáns gént. Ez esetben milyen irányban fog torzulni a közvetlenül számított mutációs ráta? Nagyobbnak kisebbnek adódik a valóságnál?

(*4*) Tegyük fel, hogy minden humán gén mutációja teljesen megszűnik. Hogyan lehetne kimutatni, hogy ez a szokatlan jelenség bekövetkezett?

(*5*) Mit értünk a természetes szelekció relaxációján? Megtörténik-e? Ha igen, mi a következménye?

(*6*) Magyarázzuk meg miért csökken egyre jelentősebben egy recesszív letális allél ellen irányuló szelekció hatékonysága az egymást követő nemzedékekben?

(*7*) A recesszív letális allél gyakoriságának csökkenését kifejező

$$q_1 = \frac{q_0}{1 + q_0}$$

képlettel még könnyebb dolgozni, ha q értékét valódi tört formájában adjuk meg. Ha például q_o=1/5 értékből indulunk a következő nemzedékre q_1 = 1/6, q_2 = 1/7, q_3 = 1/8, stb. értékekekt kapunk. Ebben a sorozatban, ha q_o=1/x gyakoriságból indulunk n nemzedék után q_n=1/(x+n) gyakoriságot kapunk. Így számolva hány generáció szükséges

ahhoz, hogy egy recesszív letális allél relatív gyakoriságát a szelekció q = 0,5-ről q = 0,05-re ill. 0,05-ről 0,005-re, ill. 0,005-ről 0,0005-re csökkentse?

(*8*) Tegyük fel, hogy a *JJ* genotípus adaptációs értéke $W_{JJ} = 1$, a heterozigótáké $W_{Jj} = 0{,}5$ és a *jj* genotípusé $W_{jj} = 0$. Tételezzük fel, hogy a Hardy-Weinberg által megkövetelt többi feltétel teljesül. Mutassuk ki, hogy *j* allél q_0 relatív gyakorisága egyetlen utód nemzedék létrejöttekor felére csökken! (A szokatlan gyors csökkenés a heterozigóták ellen irányuló szelekció következménye.)

(*9*) Egy kutató azt találta, hogy egy populációban *a* allél relatív gyakorisága 0,1 annak ellenére, hogy *aa* genotípus letális hatású. Feltételezve, hogy ez a nagy gyakoriság a heterozigóták szelekciós előnyének következménye, mutassuk ki, hogy a $\underline{AA}$ domináns homozigóták előfordulási aránya a populációban f($\underline{AA}$) = 8/9!

(*10*) A génegyensúly kialakulásának milyen típusait ismerte meg ebben a fejezetben? (Vegye számításba a mutáció, a szelekció és a kettő együttes szerepét a génösszetétel változásában!)

(*11*) Mi az a két tényező, melyekkel magyarázható az a tény, hogy az Amerikában élő feketék körében alacsonyabb a sarlósejtes allél (Hb^S) gyakorisága, mint az Afrikában élő ősökben volt, ill. az ott maradt populációban ma is kimutatható.

(*12*) Vegyünk (képzeletben) három egyedből álló véletlen mintát $Rr \times Rr$ szülő pár utódaiból.

a/ Mutassuk ki, hogy annak valószínűsége, hogy genotípusukban a r nem fordul elő, vagy kizárólag csak a r allél található meg – azaz fixálódik ill. elvész – egymással egyenlő. Annak valószínűsége, hogy vagy egyik vagy másik szélsőség bekövetkezik P = 1/32.

b/ Hogyan változik az egyik allél fixálásának ill. elvesztésének valószínűsége, ha több egyedből álló, nagyobb mintát veszünk?

(*13*) a/ Az amerikai feketékben az afrikai és európai ősöktől örökölt gének arányának számítására szolgáló képlet akkor adja a legpontosabb eredményt, amikor a két eredeti populáció allél gyakoriságai (p_1 és p_2) között a lehető legnagyobb a különbség. Magyarázzuk meg, miért!

b/ A Fy^a allél vonatkozásában (Reed közleménye szerint)

$p_1 = 0$

$p_2 = 0{,}4296$ (Oaklandban élő fehérek között)

$p = 0{,}0941$ (Oaklandban élő feketék körében).

Számoljuk ki, milyen m_1 és m_2 arányokban járultak hozzá az afrikai és európai ősök az Oaklandban élő feketék génkészletéhez!

(*14*) Kimura összehasonlította a proinzulin A, B és C szakaszaiban található aminosav eltéréseket különböző rendszertani egységbe sorolt élőlényekben. (A proinzulin középső C szakasza a polipeptid transzláció utáni módosítása során kivágódik, s csak az A és B szakasz található meg az érett inzulinban.) Azt találta, hogy a proinzulin C

szegmentumában sokkal több aminosav különbözik, mint az A és B szegmentumokban. Van-e ennek a megfigyelésnek evolúciós magyarázata? Ha van, mi az?

(*15*)

a/ Definiálja a rassz fogalmát genetikai alapon!

b/ Mi teszi alkalmassá a vércsoportok vizsgálatát a rasszok megkülönböztetésére?

Válaszok

(*1*) A zigóta létrejöttétől spermatogoniumok kialakulásáig sokkal több sejtosztódás történik, mint az oogoniumok létrejöttéig.

(*2*) Az őscsírasejtek, melyekből a spermiumok származnak évenként mintegy 23-szor osztódnak mitózissal. Idősebb apák esetén a spermiumok létrejöttét ennek megfelelően több sejtosztódás – benne több replikáció – előzte meg. Ezzel többször adódott lehetőség mutációra.

(*3*) A számított mutációs ráta felfelé torzít, azaz a mutációs ráta a valóságosnál jóval nagyobbnak látszik. Ui. azt a jelleghordozót, akiknek szülejében bár jelen volt, de nem mutatkozott meg a mutáns gén hatása, új mutációként vesszük számba, holott „régi" mutáns gént örökölt.

(*4*) Az első nyilvánvaló következménye az volna, hogy hirtelen nagy mértékben csökkenne a letális szubletális domináns allélek gyakorisága az újszülöttek körében, ill. a domináns allél jelenléte csak olyan utódokban lenne kimutatható, akiknek legalább egyik szülőjében az adott domináns allél jelen van.

(*5*) A szelekció relaxációja (engedése, gyöngülése) akkor következik be bizonyos allélek vonatkozásában, ha egy-egy genotípus (melyek ellen korábban a szelekció irányult), adaptációs értéke jelentősen megnövekszik. Ez történik pl. mikor az orvostudomány haladása következtében egy-egy korábban végzetes öröklött rendellenesség gyógyíthatóvá válik (pl. fenilketonuria). A szelekció lazulásával az allél gyakorisága lassú növekedésnek indul.

(*6*) Ahogy egy allél gyakorisága csökken úgy nő a heterozigóták aránya az allélre homozigóták arányához viszonyítva. Azaz a káros hatású recesszív géneknek egyre nagyobb hányada kerüli el a szelekciót lévén heterozigótákban elrejtve.

(*7*) 18; 180; 1800.

(*8*) Zigótává egyesülő gamétákban $f(j) = q$.

PUPress

	JJ	*Jj*	*jj*	összesen
újszülöttek	p^2	2pq	q^2	1
adaptációs érték	1	0,5	0	
szülővé váló nemzedék	p^2	pq	0	$p^2+pq=p$

A következő nemzedéket létrehozó gaméták

$$f_{(j)} = \frac{0 + pq}{2(p^2 + pq)} = \frac{pq}{2p} = \frac{q}{2}$$

(*9*)

$$\hat{q} = \frac{s_1}{s_1 + s_2}$$

A kérdésből tudjuk, hogy a

$\hat{q} = 1$ és $s_2 = 1$ -t

Behelyettesítve és megoldva s_1-re kapjuk a homozigóta dominánsok (*AA*) ellen irányuló szelekció koefficiensét: $s_1=1/9$.

(*10*) Három típus:
1/ oda-vissza mutációk közötti egyensúly,
2/ mutáció és szelekció közötti egyensúly,
3/ mindkét homozigóta ellen ható szelekció által kialakított egyensúly.

(*11*) Két tényező:
1/ A heterozigóták szelekciós előnyének megszűnése miatt csak a recesszív homozigóták ellen hat szelekció.
2/ Az európai populációból származó gének beáramlásának „hígító" hatása.
(*12*) a/ Bármely utódra P(*RR*) = P(*rr*) = 1/4,
Mindhárom utódra
P(*RR* + *RR* + *RR*) = (1\4)^3 = 1/64
P(*rr* + *rr* + *rr*) = (1\4)^3 = 1/64
Annak valószínűsége, hogy vagy egyik vagy másik bekövetkezik, a két valószínűség összegével egyenlő, azaz P= 1/32.

b/ A minta nagyságának növekedésével csökken a sodródás, azaz a véletlen fixálás vagy elvesztés valószínűsége. Nagyobb népességben ritkábban várható bármelyik szélsőséges helyzet kialakulása.

(*13*) a/ Ha p_1 és p_2 különbsége kicsi, kis mintavételbeli hibák is nagy hatással vannak a nevezőben szereplő p_1-p_2 érték alakulására, azaz a hányadost nagy hibával terhelve kapjuk. (Romlik a „jel/zaj" viszonya!)

b/ $$m_1 = \frac{p - p_2}{p_1 - p_2} = \frac{0{,}0941 - 0{,}4286}{0 - 0{,}4286} = 0{,}78\,;\ m_2 = 0{,}22$$

(*14*) Mivel az inzulin érése során a C-szegmentum kivágódik, nem vesz részt a hatás létrehozásában, így kevésbé érzékeny az élőlény a proinzulin C-szegmentumában létrejött aminosav cserékre. (Csak azok a mutációk károsak itt, amelyek a kivágást zavarják.) Ezért sokkal gyakrabban közömbös hatású a C-szakaszon bekövetkezett mutáció, mint az A vagy B szakaszon. – A neutrális mutációk ellen nem működik szelekció, az életműködéseket rontó mutációkkal szemben viszont igen.

(*15*) a/ Olyan alcsoport az emberi fajon belül, mely az evolúció folyamatában jött létre és különbözik más hasonló csoportoktól az allél gyakoriságok összesített mutatóját tekintve.

b/ Egyszerű összefüggés van a fenotípusok és genotípusok között – tehát viszonylag könnyen számíthatók az allél gyakoriságok. Az allél gyakoriságokban néha nagyok a különbségek, így könnyebb az adatok elemzése. A vércsoportok társadalmi megítélés szempontjából közömbös megítélés alá esnek, sem jobbnak, sem rosszabbnak nem tartják egyiket, mint a másikat.

DUPress

22. FEJEZET

MODERN HUMÁNGENETIKA ÉS ORVOSTUDOMÁNY

A Humán Genom Program (HGP)

Pár szó a történetről
A HGP eddigi eredményeiről
A HGP legújabb adatainak elérhetőségéről
Paradigmaváltás a humángenetikában
Néhány, már reálisnak tűnő lehetőség

Genetikai tanácsadás

Családfa analízis
Az öröklésmenet feltárása
Ismétlődési kockázat meghatározása
A lehetőségek ismerete

Prenatális genetika

Ultrahangvizsgálat
Amniocentézis
Chorionbohony-mintavétel (CVS)

Etikai megfontolások

Pozitív és negatív eugenika
Eufenika
A HGP eredményeinek jelenlegi és várható morális és jogi kérdései

DUPress

Sokan nevezték a XX. századot az elektronika évszázadának. Lehet még egyéb, pozitív és sajnos negatív tartalmú díszítő jelzőt (*epitheton ornans*t) is találni erre az időszakra (amit nyilvánvalóan indokolatlanul szakít ki az emberi tudat a történelmileg ugyan nem végtelen, ám megállíthatatlan időfolyamból), de abban meglehetősen nagy az egyetértés, hogy az elkövetkezendő éveket a biológia századának várjuk és reméljük. Ezen belül pedig a molekuláris biológiáénak és genetikáénak.[1] Ennek látható alapjai már ma is megvannak, és kibontakozóban van számos elméleti és technikai megközelítés, specializálódó tudományág, amely már napjainkban is olyan jövőkép felrajzolását engedi meg, ami egy vagy két évtizeddel ezelőtt még csak a science fiction szerzők működési területe és privilégiuma volt.

A XXI. század első éveiben egyetemi tanulmányai során általános, alapozó genetikai ismereteket szerző hallgató, aki a harmadik évezredben lép az egészségügy szolgálatába, nemcsak kíváncsi lehet, hanem joggal el is várhatja, hogy az említett jövőkép néhány medicinális érdekességű részletét elébe vetítse ez a jegyzet. Ennek számos eleme megjelent már a fenti oldalakon. Természetesen egy ilyen vállalkozás, terjedelmi és egyéb okokból is, csak töredékes lehet, inkább kell ragaszkodnia a mai lehetőségek leírásához, mintsem belebonyolódnia már létező, de még általánosan el nem terjedt technikák ismertetésébe, jóllehet minden bizonnyal ezeké a jövő. Megfelelő – itt és most: genetikai – alapismeretek birtokában a 2008-ban szerzett orvosi diploma még 2038-ben sem avul el, ha tulajdonosa vállalja az állandó, naprakész ön- és továbbképzést. Ugyanez vonatkozik természetesen – valamivel kisebb terjedelemben – az egészségügy egyéb szereplőire is. Igyekszünk ehhez néhány alapot megadni.

A Humán Genom Program (HGP)

Túlzás nélkül állíthatjuk, hogy a ***HGP*** elindítása a XX. század utolsó évtizedének legnagyobb szabású vállalkozása volt a genetikában, de talán a tudományok területén általában is. Ritka eset a kutatásokban, hogy egyértelműen kitűzhető a cél: mit kell felfedezni. Itt ez megtörtént: ki kellett deríteni annak a kb. 3 milliárd bázispárnak a sorrendjét, amely az emberi genomot alkotja az 1-es kromoszóma rövid karja telomerjének

[1] Azt mindenképpen rögzítsük le, hogy a modern genetika eredményeinek elérésében – egyéb tudományágak jelentős fejlődése mellett – az elektronikának meghatározó szerepe van.

elejétől az Y kromoszóma hosszú karja legvégéig. Természetesen a cél elérése a nukleotid-sorrend tényszerű megállapításán kívül és túl sokkal többet ígért, és e jegyzet írásának pillanatában is leszögezhetjük: még sok ismeretlen tény rejtőzik a már megfejtett szekvenciában.

PÁR SZÓ A TÖRTÉNETRŐL

Az érdeklődők számára a kezdetekről melegen ajánljuk Venetianer Pál: A DNS szép új világa c. könyvét (Kulturtrade Kiadó, Budapest, 1998.). Ebből az is kiviláglik, hogy egy nemes cél széles körű összefogással való megvalósításának lelkes közreműködői és támogatói sem mindannyian Grál-lovagok, de hát így van ez a társadalmi lét és aktivitások minden szektorában...

A program kezdeményezői előtt az első pillanattól nyilvánvaló volt, hogy igen nagy fába vágták fejszéjüket. 2005-nél előbb nem is remélték a befejezést. A 80-as évek végén és a 90-es évek elején rendelkezésre álltak már azok a DNS szekvenálási módszerek, amelyekkel ma is dolgozunk (l. 18. fejezet), de csak kézi kivitelezéssel, mondhatni „kisipari" módon. Az eredeti stratégia szerint a humán DNS jól azonosítható szakaszait kellett analízisre elegendő mennyiségben felszaporítani (pl. egy kromoszóma egy sávjából, vagy egy ismert és már térképezett maior gént is magában foglaló területet stb.), majd a nukleotid sorrendet meghatározni, s az így nyert szekvenciákat illeszteni össze egymással. Nyilvánvaló volt, hogy ez sok kutató és laboratóriumi asszisztens sok évi tevékenységét megkövetelő kihívás. Ehhez nemzetközi összefogásra és munkamegosztásra volt szükség. A feladat teljesítésének előrehaladása azonban magával hozta, helyesebben mondhatjuk talán: kikényszerítette a technikai lehetőségek rohamos fejlődését. Ma már automata szekvenátorok dolgoznak a korábbi kézi lehetőségeknél nagyságrendekkel nagyobb sebességgel. Kiemelkedően hasznosnak nevezhetjük azt az ötletet, amely szerint nem kell törődnünk azzal, hogy egy megszekvenált DNS részlet a genom melyik részéből származik, hanem csak arról kell gondoskodnunk, hogy a végükön egymással elegendő hosszúságban átfedő DNS szakaszokkal többszörösen lefedjük az egész humán genomot. Az átfedések elegendő információt adnak egy szuper-számítógépnek ahhoz, hogy megfelelő számú – ismert és már előzőleg egyértelműen lokalizált – marker, mint „mérföldkő" segítségével, helyes sorrendben rakja össze az automata szekvenátorokból befutó adatokat.

A nemzetközi konzorcium mellett egy – erre a célra alapított, az említett ötletet kihasználni hivatott – magánvállalkozás is „beszállt" az „üzletbe"[2], s a verseny is ser-

[2] Az üzlet az újonnan belépő részéről szó szerint volt értendő. Míg a nemzetközi konzorcium a létrejötte legelső fázisában deklarálta a profitorientáltság kizárását, az eredmények közkinccsé téte-

kentette a kutatókat. Így a munka jelentősen felgyorsult, és 2001. február közepén két vezető természettudományos folyóirat: a Nature és a Science közzétette az akkor mintegy 95%-os szinten meglevő adatokat. (A Nature a nemzetközi konzorciumét, a Science a Celera Genomics-ét. A kettő között nagy eltérés nincs, bár értelemszerű, hogy a különböző forrásból származó DNS-ek között nem tökéletes a szekvencia-azonosság.[3]) Természetesen nem a nukleotid sorrendet közölték, ami egy csak különlegesen nagy kapacitású számítógéppel kezelhető adatbázis, hanem az általánosítható következtetéseket.

A HGP EDDIGI EREDMÉNYEIBŐL

Sok genetikusnak nagy meglepetést okozott az az adat, hogy a humán genomban 40 000-nél több gén biztosan nincs, jobbadán csak 30 és valahány ezer. A korábbi becslések sohasem adták 50 000 alatt, és inkább hajlottak a 100 000, mint egy ember létrejöttéhez szükséges minimum felé. Génen itt a funkcionális és kifejeződésre képes, polipeptid szekvenciát kódoló DNS-szakaszokat értjük. Ezek a humán genom mintegy 10%-át jelentik, de a fehérjekódot ténylegesen hordozó exonok (l. 16. fejezet) csak mintegy 1,5%-át adják a teljes szekvenciának. Ugyanakkor a polipeptid kódot hordozó gének által meghatározott fehérjéknek a közlés időpontjában mindössze mintegy a felét ismerték konkrétan, a másik feléről csak az azonosított gének által volt tudomásunk.

Az, hogy a különböző ismétlődő szekvenciák (amelyek egy részéről e jegyzet megfelelő fejezeteiben is szóltunk) a genom igen nagy részét teszik ki, már régen ismert. A génjeink számára vonatkozó adat azonban további megfontolásokat igényel. Jelenleg az alternatív promoterek és az intronkivágás variációs lehetőségeit figyelembe véve (l. … fejezet) leginkább az a nézet az uralkodó, hogy egy gén átlagosan három fehérjét kódolhat, és ennyi már megfelel az említett százezres nagyságrendnek.

---

lének kötelezettségét, a Celera Genomics – annak tudatában, hogy előbb készül el a teljes genom feltárásával, mint a közpénzekből finanszírozott kutatógárda – a megfejtett szekvenciákat kommercializálni akarta. Az Egysült Államok elnökének, Bill Clintonnak magának kellett közbeavatkoznia azon egyezség megteremtése érdekében, hogy mi piacosítható az elért eredményekből, és mi nem. Maga a szekvencia semmiképpen sem, az köztulajdon, vagy, személyekre bontva, kinek-kinek a saját tulajdona.

[3] A nemzetközi konzorcium esetén a kiindulási minták tíz személytől származtak. Ezeket szigorúan titkosították, majd véletlenszerűen választottak közülük. A Celera Genomics esetén jó okunk van feltételezni, hogy a cégalapító igazgató és vezető kutató saját DNS-éről van szó.

Mindez nem jelenti azt, hogy az emberi genom 90%-a *„junk DNA"* („haszontalan" DNS) lenne. A számítógépet úgy programozták, hogy a géneket a konszenzus promoter, transzkripciós és transzlációs start- és stop-szignálok, valamint az exon-intron határok felismerésével definiálja. Számos, igen fontos funkciót betöltő szekvenciát ez a rendszer nem azonosított. Terminológiai kérdés, hogy pl. valamely szabályozó szakaszt génhez tartozónak, ill. önállónak tekintünk-e, vagy sem. Egy serkentő szekvencia mutációja ugyanúgy járhat az illető fehérje hiányával és ennek minden következményével, mint a polipeptid struktúrgénjének deléciója. Egyre nagyobb biztonsággal állíthatjuk, hogy a kromatinállomány térbeli elrendeződése a sejtmagban a lehető legkevésbé sem véletlenszerű, s maga a geometriai szerveződés is információ hordozó (l. 10 fejezet). Ennek kialakulásában ugyancsak specifikus DNS-szekvenciák játsszák a fő szerepet. Ismerünk számos RNS szekvencia féleséget (rRNS, tRNS, snRNS stb.), amelyek DNS kódja könnyen azonosítható, de a legkevésbé sem lehetünk bizonyosak abban, hogy minden ribozim vagy prosztetikus csoport funkciójú RNS-t felfedeztek már.

A gének fent említett korlátozott száma új megfontolásokra késztette a kutatókat a poligénes rendszerekre vonatkozóan is. Ha minden ilyen jelleg hátterében átlagosan csak 20-30 lokuszt tételeznénk is fel, ami annak és csakis annak a génikus determinánsa, máris feloldhatatlan ellentmondásba keverednénk. A megoldást a ***QTL (quantitative trait locus)*** fogalmának bevezetése, és a génfunkció ilyen értelmű kiterjesztése jelentette (l. 9. fejezet).

Nem csak és kizárólag a HGP eredménye, sőt túlnyomóan nem, de itt kell megemlítsük a nagyszámú DNS polimorfizmus, ezen belül nevezetesen kb. 1 500 000 SNP azonosítását (l. 18. fejezet). Ezek igen nagy mértékben járulnak hozzá a *Homo sapiens* rendkívüli formagazdagságához, értve ezen az anatómiai, fiziológiai, viselkedésbeli stb. különbségeket csakúgy, mint mindezek kóros változatait; bizonyos rendellenességekre, megbetegedésekre való hajlam génikus tényezőit, nem csak konkrétan, fenotípusosan diagnosztizálható öröklődő betegségeket, fejlődési rendellenességeket stb. A HGP eddigi adatai alapján úgy mondhatjuk, hogy ***két, tetszőlegesen választott ember genomja átlagosan 99,9%-os egyezést mutat.*** Pontosabban kifejezve: egy adott szakaszt alkotó egy millió bázispárjuk közül átlagosan csak 800 különbözik. Ez a 0,08%-nyi különbség azonban bőségesen elegendő a sokszor igen látványos eltérések magyarázatául, sőt alkalomadtán egy allélpár tagjai csak egyetlen bázispárban térnek el, az általuk kódolt fehérje funkciója mégis igen látványosan különbözik.

Nagyrasszok megkülönböztető bélyegei (gondoljunk pl. egy afro típusú göndör, és egy európai sima hajra, vagy a vastag és vékony ajak, a széles és keskeny orr különbségére a bőrszín mellett), ha nem is egy, de talán két kezünk ujjain már számolhatók. Az ezek alapját képező génikus különbségek minimálisak lehetnek. Sokan úgy tartják, hogy két, különböző nagyrasszba tartozó egyed DNS bázissorendjében felfedezhető különbségeknek

csak kb. 15%-a írható az eltérő rasszbéli eredet számlájára. Másképpen kifejezve lehet lényegesen kisebb (kevesebb) különbség a DNS szekvencia szintjén két, egy kaukázusi és egy afrikai nagyrasszba tartozó egyén között, mintha akár az egyiket, akár a másikat a saját populációjából vett társához hasonlítjuk. Sokan vélekednek úgy, hogy a HGP eredményei végleg kiirtják a talajt a rasszizmus alól.[4]

A HGP-hez társítható technikai fejlődés és a szekvencia-homológiák széles köre jelentősen felgyorsította egyéb fajok, nevezetesen egyéb emlősök genomjának térképezését is. Mára ~~nagy~~ bizonyossággal állítható például, hogy a csimpánz és az ember teljes DNS szekvenciájában nincs 1%-nál nagyobb eltérés. Más megközelítésben ez úgy interpretálható, hogy az emberi DNS-nek csak kb. 1%-a humán-specifikus. A különböző fajok genomjainak párhuzamos kutatása elősegíti a kísérletek, mindenekelőtt a transzgénikus állatokkal szerzett ismeretek megbízhatóbb emberi alkalmazását.

Ha a közreműködők vállalták a HGP eredményeinek publikálását, miért tették ezt egy kb. 95%-os készültségi szinten? Ennek nyilván sok oka volt, ami nem tartozhat tárgyalásunkba. Egyet ezek közül azonban megemlíthetünk: bizonyos, túlnyomórészt különböző, de összességükben többszörösen előforduló ismétlődő szekvenciák egyes ***contigok***[5] pontos elhelyezését rendkívül megnehezítették. Ezek azonban a genomnak kevés érdemi részére terjedtek ki, s ami nagy megbízhatósággal (a nyilvánosságra hozatal idején kb. 99,96%-os hitelességgel!) közölhető volt, arról úgy gondolták, hogy megjelentetése közérdek.

---

[4] E sorok jegyzője kissé szkeptikus e tekintetben. Általános biológiai ismereteink alapján már nagyon régen tudjuk, hogy a *Homo sapiens* egy faj (legfeljebb rasszokra és alrasszokra tagolható, helyenként igencsak mesterkélt módon). Mégis a „fajgyűlölet" kifejezést (és rokonértelmű társait) nem lehet kiszorítani a magyar nyelvből, egyik embercsoportnak egy másikkal kapcsolatos érzelmeit leírandó. Ez így önmagában is rendkívül sajnálatos (a szóban forgó ellenséges érzésekről már nem is beszélve)! Ám ha a magyar büntető törvénykönyv kodifikálja is, és büntetni rendeli pl. a „faji megkülönböztetés"-t, azzal implicite azt állítja, hogy a megkülönböztető és a megkülönböztetett valóban két különböző fajba tartozik. Ennek következményei a köznapi gondolkodásban, a sokak által képviselt közfelfogásban katasztrofálisak lehetnek.

[5] A már említett, a szomszédaikkal végszekvenciáikban átfedést mutató szakaszok elnevezése, amelyek adatait a számítógép egyesítette egy folytonos sorrenddé. Ha több helyen előforduló ismétlődő szekvenciák adták az átfedést, akkor egy-egy ilyen szakaszt a számítógép több helyre is beilleszthetett volna. Úgy történt a programozás, hogy ezekben az esetekben ne döntsön, hanem hagyja függőben az elhelyezést.

A HGP LEGÚJABB ADATAINAK ELÉRHETŐSÉGE

A fentiekből következően is nyilvánvaló: az eredmények, újabb és újabb adatok még folyamatosan születnek. Az érdeklődők az internetről tájékozódhatnak ezek felől, ill. a teljes program részleteiről.

A gének kromoszomális elhelyezkedésére vonatkozóan a 8.17. ábra szövegében megadtuk a megfelelő hivatkozást: http://www.nlm.nih.gov/ Ugyanott számos egyéb lekérdezési lehetőség is nyílik az érdeklődők számára. További web címek:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/,
http://www.genome.gov,
http://www.oml.gov/hgmis/,
http://www.nature.com/genomics/human,
http://www.genome.ucsc.edu/.

Bármelyik jól működő keresőprogramba beírhatjuk azonban a *Human Genome*-ot, mint kérdezett kifejezést, s a legfontosabb aktuális *web site*-okat minden bizonnyal könnyen megtalálhatjuk. (A jegyzet írásának pillanatában pl. igen hatásosnak tűnik a http://www.google.com/ is.)

DUPress

PARADIGMAVÁLTÁS(OK) A HUMÁNGENETIKÁBAN

Gének azonosítása térképezéssel ➢	➢ Gének azonosítása szekvenciájuk alapján
Strukturális genomika ➢	➢ Funkcionális genomika
Genomika ➢	➢ Proteomika
Monogénes (monolokuszos) rendellenességek felismerése ➢	➢ Multifaktoriális rendellenességek leírása
Egy gén analízise ➢	➢ Sok gén analízise géncsaládokban, anyagcsereutakban, komplex rendszerekben
DNS-alapú diagnózis ➢	➢ Hajlam kimutatása
Génhatások ➢	➢ Gének szabályozása
Etiológia (specifikus mutációk keresése) ➢	➢ Patogenezis (a kórállapothoz vezető mechanizmusok kutatása)
Egy faj ➢	➢ Különböző fajok bevonása

A felsoroltak alighanem önmagukért beszélnek, különösebben hosszadalmas magyarázat nélkül is. Egy-két megjegyzés azonban feltétlenül ide kívánkozik. Anélkül, hogy az individuális lokuszok kutatásának és diagnosztikájának fontosságát alá akarnánk becsülni, látnunk kell, hogy *hangsúlyeltolódás tanúi vagyunk a géntől a* ***genom****, azaz a gének együttesének tanulmányozása irányában.* Öröklődő jellegeink, itt és most: az orvostudomány szempontjából fontos kóros fenotípusok sokkal gyakrabban állnak legalább két (de inkább több) lokusz kontrollja, mintsem egyé alatt. Ezen belül pedig nem a statikus

DUPress

genomszerkezet, hanem a funkció a lényegi elem. Adandó alkalommal nem egy-két gént kell megszekvenálni a helyes diagnózis felállításához, hanem az illető lokuszokról szintetizált, érett mRNS mennyisége (funkcióképessége) a meghatározó jelentőségű.

Az ***SNP***-k felfedezése (és számos más tény) arra irányítja figyelmünket, hogy tulajdonképpen nem is a genomika, hanem a proteomika adja meg a végső választ ilyen irányú kérdéseinkre. Egy nagyon egyszerű, de talán nem túlzottan erőszakolt példával illusztrálva: Kifogástalan zenei hallású ember azonnal észreveszi, ha a nagyzenekarban a hat csellista közül egy hamisat fog, és ez számára a műélvezet végét jelenti. Egész-e és működik a zenekar? Helyén van a cselló szólam? Feltehető még néhány hasonló kérdés, amelyekre a válasz: igen. Teljesül-e a koncert programja? Természetesen ez is igen. De ha az említett zenész többször is melléfog, akkor már nem csak a közönség „vájtfülű" része fog szenvedni, hanem mondjuk a karmester és a többi zenész is, és ennek már kifejezett hatása lesz a kevésbé zeneértő közönség műélvezetére is. Sejtjeinkben a fehérjéknek nem csak jelen kell lenniük, hanem kifejezetten összehangoltan működniük is. Egyikük-másikuk kisebb hibája, nem jelentős funkcionális zavara az egész rendszer szintjén már kórállapothoz vezethet. Ezért mondják azt, hogy a jövő a fehérjerendszerek egészének a vizsgálatáé, azaz a proteomikáé. (***Proteom***: a genom által kódolt fehérjék összessége, melyeknek egy-egy szövet-, ill. sejtféleségben mindig egy jól meghatározott része fejeződik ki.) Ne felejtsük el, hogy a fehérjék együttműködése, kölcsönhatásai stb. a polipeptidláncok fizikai kapcsolódásától kezdve a fehérjetermékek keletkezési helyüktől távolabb eső funkcióival bezárólag rendkívül változatos palettán nyilvánulnak meg. Mindezek rendszer-szemléletű megközelítése része a proteomikának csakúgy, mint a külső és belső környezettel való kölcsönhatások vizsgálata. A környezettel egységbe foglalt funkcionális genomikai és proteomikai áttekintés teremti meg az alapját a XXI. századi orvoslás szemléletének és gyakorlatának: a molekuláris medicinának.

NÉHÁNY, MÁR REÁLISNAK TŰNŐ LEHETŐSÉG

Ezeket tulajdonképpen már összefoglaltuk a fentiekben, igaz különböző fejezetekben. Technikai, molekuláris genetikai diagnosztikus arzenálunk napról-napra bővül. Specifikus genomszekvenciák megismerése tette lehetővé a hibridizációs fluoreszcens kromoszóma-azonosítást (kromoszóma festést), akár teljes kariogramra, akár individuális sávokra gondoljunk is. Az *in situ* (FISH, CGH stb., l. 11. fejezet) és egyéb hibridizációs eljárások, az RFLP analízis stb. (l. 18 fejezet), kombinálva a megfelelő ismeretek alapján szintetizált próbákkal, individuális génanalízist tesz lehetővé, mutációk és SNP-k felismerésére. Ezeknek a próbáknak a segítségével végezhetők sikeres PCR vizsgálatok és alkalmazható a DNS chip technika.

PURPOSS

A farmakogenomika azt az utat nyitotta meg előttünk, amelyen a genotípus alapján választhatjuk ki az egyedileg legalkalmasabb gyógyszert egy-egy páciens számára az adott palettáról, és ugyanakkor biztonsággal elkerülhetővé válnak az esetleges, váratlan, fatális mellékhatások. A proteomika eredményei a molekuláris gyógyszertervezés alapjait fektetik le.

Egyre több monolokuszos (vagy legalábbis kevés gén által befolyásolt), ill. multifaktoriális determinációjú kórkép kapcsán tudjuk felderíteni a genetikai hajlamot. Ennek segítségével az érintetteknek megadhatók azok az életviteli tanácsok (bizonyos táplálkozási és környezeti hatások elkerülésének a javallatai stb.), amelyek révén a genetikai kockázat következményei elkerülhetők, vagy minimalizálhatók, esetleg megfelelő, időben kezdett kezeléssel többé vagy kevésbé, de ellensúlyozhatók.

A prenatalis diagnosztikában, a genetikai tanácsadásban a kockázat megítélése és a diagnózis megbízható molekuláris alapokra helyezhető.

Genetikai tanácsadás

Belátható időn belül nem következik el az az aranykor, amelyben a majdan implantálódó (beültetendő) előembrió egy sejtjéből teljes DNS-szekvenálással megállapítják, van-e akár csak egyetlen olyan mutáns allél is a leendő emberi élőlény génjei között, ami indokolttá teszi a génterápiát, s ha igen, akkor csak a megfelelő korrekció után kap szabad utat az egyedfejlődés. (Az anyaméh helyett egy alkalmas inkubátorban?) Sőt az várható – a belátható időben –, hogy az emberiség nagyobb hányada változatlanul bizonyos hagyományokhoz fog ragaszkodni, és elveti a mesterségesen szintetizált DNS molekulákból konstruált utód eszméjét, akinek „apja" immár egy műanyag pipettahegy, „anyja" pedig egy műanyag centrifugacső vagy petri csésze. Ugyanakkor – érthető módon – senki sem akar beteg, fogyatékos, fejlődési rendellenességben szenvedő gyermeket a világra hozni, s különösen indokoltan félhet ettől a lehetőségtől, ha a családjában már született ilyen. Az öröklött kórképek létre- és világrajöttének megelőzésére ma elsősorban a genetikai tanácsadás szolgál.

Ha a különböző génikus és kromoszomális defektusokat együtt számoljuk, az újszülöttekben (és az első életév betöltése előtt) felismertek gyakorisága mintegy 4%, a később észlelhetőkkel egyetemben még magasabb az érték. Ezek egy része menthetetlenül meghal, más része élethosszig szóló szenvedések áldozata. Mindez családi tragédiát is jelent, amit még fokozhat a ma széles körben tapasztalható társadalmi intolerancia, ami sem a másságot, sem pedig a fogyatékosságot nem tudja elfogadni és feldolgozni, s alkalmasint esetleg kiközösíti a defektusos gyermek szüleit, testvéreit, rokonságát is. Számos

Pharress

példa ismert arra, hogy épp ez utóbbi miatt helyezte el intézetben érintett gyermekét egy házaspár és költözött az ország másik végébe, ahol senki sem ismerte őket: ne viseljék sem ők, sem az egészséges testvér(ek) a stigmát. Ha valaki elissza az eszét és erkölcseit (alkalmasint még előbb a máját), ez bizonyos körökben virtus kérdése. Ugyanott ha valakinek rendellenességgel sújtott gyermeke születik, az kerülendő mint a leprás. (Kivételes „igazságtétel", ha alkoholizmus okozta a fogyatékosságot.) A megelőzésnek több szintje és lehetősége van.

Az első – egyénileg és társadalmilag (a kettő egymástól el nem választható) – az egészséges életmód. Genetikai szempontból itt mindenekelőtt a mutagén hatások elkerülése említendő. Nem vállalkozhat e fejezet még csak kivonatos felsorolásra sem, de idézhetjük azt a sommásnak tűnő, ám minden bizonnyal mélyen igaz állítást, amely szerint minden idegen anyag mutagén, ami a sejtmagban nagyobb koncentrációban halmozódik fel (l. 13. fejezet). Környezetünk tele van potenciálisan veszélyes kemikáliákkal, amelyek közül nem egy az ivóvízben vagy az élelmiszereinkben jelenik meg (a belégzett levegőről nem is szólva). Ezek szomatikus mutációt okozva daganatkeltők lehetnek. Ha pedig a csírasejtek (vagy ezek előalakjainak, ősejtjeinek) DNS-ében okoznak mutációt, az örökletes változást jelent. Ugyanez igaz természetesen a fizikai mutagénekre is. Mindezek egyfelől igen súlyos általános egészségügyi és orvosi problémát jelentenek, másrészt viszont foglalkozási ártalomként jelentkezhetnek mind az iparban, mind a mezőgazdaságban[6], valamint – számunkra kiemelt fontossággal – az egészségügyben. Itt kell megemlítenünk a betegeket érő iatrogén[7] ártalmakat is. Nagyon gyakori, hogy az akut vagy krónikus mérgezést okozó noxa[8] egyben genotoxikus[9] is. (Nem tartozik a genetika tárgyához, de közelről érinti azt az embrió és magzat fejlődését befolyásoló anyai hatások kérdése. Terhesség alatti erős dohányzás a magzat, ezen belül a fejlődő agy súlyos oxigénhiányát okozhatja. Ennek olyan következményei lehetnek, amelyek nehezen választhatók el pl. a génikusan determinált gyengébb értelmi képességektől. Súlyos retardációt[10] okozhat az anyai alkohol-abusus[11] is. Mindezek vonatkozásában a meg-

---

[6] A közvélekedésben egyaránt találkozhatunk a veszélyek lebecsülésével, vagy talán inkább tudatos alulértékelésével, tagadásával, más oldalról viszont az indokolatlan eltúlzásukkal. Utalhatunk itt pl. az atomerőművi áram- és hőszolgáltatás elleni – az adott rendszer fizikai paramétereitől és az illető emberi közösség reális lehetőségeitől teljesen független – általános tiltakozásokra, amelyek hajlamosak elfeledkezni az olaj- és széntüzelésű hőerőművek károsanyag kibocsátásáról (ide értve a szénből felszabaduló és a légkörbe kerülő, tehát belélegezhető radioaktív anyagokat és mutagén vegyületeket is).

[7] iatrogén = orvosi eredetű. (Általában fertőzésekkel vagy más ártalmakkal kapcsolatosan használjuk.)

[8] noxa = ártó tényező, hatás.

[9] genotoxikus = az örökítő anyagot (is) károsító.

[10] retardáció = visszamaradottság, lemaradás a fejlődésben. Lehet testi és szellemi egyaránt.

felelő fejlődéstani, szülészeti, neonatológiai és klinikai genetikai munkákra kell utalnunk.)

Bármelyik leendő szülő családjában fordult elő valamilyen öröklődő betegség, (fejlődési) rendellenesség, kromoszóma-aberráció, a házaspár bármelyik tagját érte is olyan ártalom, amely génikus vagy kromoszomális károsodást okoz(hat), célszerű még a terhesség tervezésének időszakában – sőt, ha lehet, még a házasságkötés előtt – genetikai tanácsért fordulni a megfelelő szakemberhez. Az ilyen téren felmerülő aggodalmak nagyobb hányada bizonyul szerencsére indokolatlannak, de önmagában a megnyugtatás, hogy kisebb a veszély mint gondolták, sok problémát elsimít, megold, vagy meg is előzi a komolyabban való felmerülését. Ebben a nem genetikai tanácsadásra specializálódott bármilyen képzettségű orvosnak, és – általában – az egészségügy minden szereplőjének komoly felelőssége van: fel kell ismernie, hogy ki és mikor küldendő a megfelelő szakemberhez. Az érintett egyén vagy család elvitathatatlan joga, hogy maga döntse el, kíván-e élni a genetikai tanácsadás lehetőségeivel, megfogadja-e és milyen mértékben és módon az ott kapott javaslato(ka)t, az azonban orvosi műhibának minősül, ha valaki nem kapja meg kezelőorvosától az arra vonatkozó információt, hogy rászorul és milyen okból indokolt igénybe vennie ezt a tanácsadást. Joggal várható el pl. egy családorvostól (akit alkalmasint az érintett személy kicsiny gyermekkora óta ismer, akinek a véleményére, tanácsára hallgat vagy hagyatkozik), hogy tudjon segíteni a genetikus szakember által elmondottak, javasoltak feldolgozásában, elfogadásában. Kívánatos, hogy a gyógyszerreklámokba ma kötelezően beiktatott „...kérdezze meg kezelőorvosát, gyógyszerészét..." egyre inkább hassa át a közgondolkodást nem csak a gyógyszerekkel kapcsolatban.

Maga a genetikai tanácsadás nagy tapasztalatú specialistát igényel, aki nemcsak az orvostudomány egész területén tájékozott, kiválóan ismeri a genetikát, de jó pszichológus is egyben. Sokszor fordul ugyanis elő, hogy nem az értelmi, hanem az érzelmi meggyőzés a nehezebb. Örökletesen sérült gyermek születése könnyen vezethet egy szépen és jól indult házasság felbomlásához, különösen ha kiderül, hogy az egyik fél „hibája" a defektus oka és eredete.[7]

---

[11] abusus = visszaélés valamivel (pl. túlzott [ki-] használás), túlzott fogyasztása, élvezete valaminek, ami így káros. Pl. kábítószeresek drog-abususa.

[7] Gondoljunk pl. egy kiegyensúlyozott kromoszóma transzlokáció hordozójára (l. 11. fejezet), akinek erre az örökletes hibájára egy kiegyensúlyozatlan kromoszómarendellenességes gyermek születése hívja fel a figyelmet. Előfordulhat sajnos, hogy társa egy életen át nem tudja neki megbocsátani ezt, jóllehet semmilyen jel nem utalt a családi anamnézisben az aberrációra. (Ugyanakkor ne feledjük: nem ritkán megvannak ezek a jelek, csak az érintettek sincsenek tudatában ennek, ill. nem látják meg a jelentőségüket és elfeledkeznek azokról, meg sem említik az orvosuknak. Példánkban lehet, hogy akár az adott házasságban, vagy az érintett fél szüleiében többszörös spontán vetélés volt a kromoszóma hibájának a jele, ill. lett volna, ha erre ilyen szempontból felfigyelnek.) Ma még messze nem tartunk ott, hogy minden egyes ifjú házasulandó részletes genetikai kivizsgálásban részesülhetne, ha egyébként a családi anamnézis negatív.

A tanácsadás sikerének van néhány sarkköve (az azt vezetőnek a megelőző bekezdésben említett felkészültségén túlmenően is). Az első ***a helyes és nagyon pontos diagnózis.*** Minél gazdagabbak genetikai ismereteink, annál többször jutunk arra a felismerésre, hogy látszólag – vagy mai besorolásuk szerint teljesen – azonos betegségek különböző molekuláris hátterűek, szükségképpen nem azonos génikus meghatározottságúak lehetnek. Álljon itt egyetlen példa! A DNS-t javító excíziós repair rendszer több enzimből áll (l. 13. fejezet), ezek bármelyikének a működéskiesése ugyanahhoz a fenotípushoz, a *xeroderma pigmentosum* nevű kórkép kialakulásához vezet. (Ez a pszeudoallélia jellemző megnyilvánulása.) Tételezzük fel: két házasulandó mindegyikének közeli rokonságában előfordult ez a betegség, azaz nagy az esélye, hogy mindketten heterozigóta hordozói a kórkép egy recesszív génjének. A kérdés ezek után az, hogy ugyanarra a lokuszra heterozigóták-e, ami 1/4 valószínűséggel jelentheti a betegségben szenvedő gyermek születésének esélyét házasságukból, vagy eltérő lokuszon hordoznak hibás allélt, ami az ebben a kórképben szenvedő beteg gyermek születésének a esélyét valószínűtlenné teszi.[8]

A pontos diagnózishoz természetesen nem a genetikai tanácsadást végző szakembernek kell eljutnia, hanem lehetőleg már ezzel együtt érkezzen hozzá az érdekelt pár. Ugyanakkor jellemző az olyan konziliáriusi kérelem, ami a távol élő rokonok helyi orvosát (kórházát) kéri fel részletes kivizsgálásra.

CSALÁDFA ANALÍZIS

Legyen bár birtokában az orvostudomány a legmodernebb molekuláris módszereknek egy génikus vagy kromoszomális kórkép azonosításához, az előzetes kivizsgálás során nélkülözhetetlen a nagyon részletes és pontos, a megelőzőekben jelzett igényességű diagnosztikai feltáráson alapuló családi anamnézis felvétele, ami a genetikában a családfa

---

[8] Mai ismereteink szerint a *xeroderma pigmentosum*nak az enzimdefektus mibenléte szerint nyolc különböző fajtája van. *In vitro* sejttenyészetekben kimutatott komplementációval vizsgálható, hogy két egyén ugyanabban az enzim-elégtelenségben szenved-e, vagy sem. Ha nem, abban a legrosszabb esetben is várható az *in vivo* komplementáció, ha az utód mindkét szülejétől örökli a hibás allélt: két lokuszon lesz heterozigóta, de nem *xeroderma pigmentosum*ban szenvedő beteg. A kérdés vizsgálatában azonban nem állhatunk meg ezen a ponton. Első fenntartás: Bátoríthatja-e az orvos egy kétszeresen heterozigóta gyermek világrajöttét, akkor is, ha ez nem csak elvi lehetőség, hanem az esélye nem elhanyagolhatóan csekély? Második fenntartás: szomatikus mutációval heterozigótában egy lépésben keletkezhet reparáció-deficiens sejt, ami a malignus elfajulás veszélyét hordozza magában. Ugyanabban a rendszerben két különböző lokuszon jelentkező heterozigótaság ezt az esélyt kétszeresére növeli (l. 17. fejezet). A kérdés megközelítése és megválaszolása sokkal inkább etikai, mintsem tudományos oldalról történhet (l. alább).

megrajzolásával és elemzésével jár együtt. Ennek számos buktatója van, és néha megoldhatatlan feladatot jelent, mégis minden esetben a maximumra kell törekednie az orvosnak. Legalább három, de ha lehet inkább négy generáció adatait kell összegyűjteni. Ez az esetek többségében a megbízhatatlan emlékezeten alapszik, nem pedig jól dokumentált kórtörténeteken vagy az elhaltak boncjegyzőkönyvein, mert ha ilyenek voltak is, előbb-utóbb selejtezés áldozatává váltak az illetékes gyógyintézetben csakúgy mint a családi levelesládában. A kikérdezésnek minden lehetőséget fel kell vetnie, hátha az említés fellebbenti a feledés fátyolát a halványuló emlékekről, ugyanakkor nem szabad „rábeszélő", „belemagyarázó" jellegűnek lennie, mert ez hamis adatokat eredményezhet. Különösen nehéz az időben és/vagy térben távolabbi rokonságban előfordult spontán vetélések, halvaszületések felderítése és azok okának kikutatása, de ezt is meg kell kísérelni (l. 5. fejezet).

AZ ÖRÖKLŐDÉSMENET FELTÁRÁSA

különösen akkor jelentős, ha az adott betegségnek eltérő génikus formái léteznek. Közismert, hogy a vérzékenység X-hez kötötten öröklődik, de az már az orvosi köztudatban sem vert nagyon mélyen gyökeret, hogy a hemofília A és B mellett – különösen bizonyos populációkban – pl. a VII-es véralvadási faktor autoszomális recesszív defektusával is számolnunk kell. Mindez a célzott molekuláris diagnózis alapja is.

ISMÉTLŐDÉSI KOCKÁZAT MEGHATÁROZÁSA

Ennek a nem is távoli múltban alapvető jelentősége volt. A genetikai tanácsadás akár csak két-három évtizeddel ezelőtt is elsősorban lebeszélő jellegű lehetett: egy beteg gyermek születése hívta fel a figyelmet az örökletes elváltozás jelenlétére a családban, s a mendeli törvényekre alapozottan (monolokuszos jellegek esetén), vagy statisztikai valószínűségi adatokat használva (multifaktoriális kóreredetnél) számították ki, ill. becsülték meg a leendő gyermekben való ismétlődés kockázatát. Ha ez magas és a kórkép súlyos volt, akkor eltanácsolták a házaspárt az utódvállalástól. Ma, amikor egyre több génikus determinációjú kórkép esetén nyílik mód objektív prenatális diagnózisra, az ismétlődési kockázat meghatározása egyre inkább annak nyomatékosítását szolgálja csak, hogy az embrionális vagy magzati korban elvégezhető vizsgálatokat valóban célszerű megcsináltatni.

Különösen a tapasztalati értékek alapján történő becslésnél fontos, hogy ismert legyen az adott népességben a kérdéses jelleg gyakoriságának adata, de nem elhanyagolható ez mendeli jellegek esetén sem. Egyes populációkban bizonyos öröklődő rendellenességek szinte hiányoznak, másokban viszont jellemzően felhalmozódtak. Pl. Finnországban a PKU-szűrést (l. 6. fejezet) megszüntették, mert nagyon alacsony a mutáns gén aránya. Gyakori a sarlósejtes vérszegénység az afroamerikaiak között: egy testvér beteg gyermeke komoly figyelmeztetés akkor is, ha a másik házas(ulandó) fél családjában nincs adat ennek a betegségnek az előfordulására. (Szerencsére a heterozigótaság kimutatása nagyon egyszerű.) Magyarországon nem ismert olyan mutáns gén, amelynek gyakorisága jelentősen meghaladná az egyéb populációkban tapasztalhatót. Inkább a fordítottja igaz: nagy földrajzi térségekben gondot okozó kóros allélek nem vagy csak alig-alig jelennek meg hazánkban (hemoglobinopátiák, G6PD defektus, és számos egyéb). Multifaktoriális determináltságú rendellenességek körében viszont ismert a csípőizület elégtelen fejlődésének relatíve magas magyarországi előfordulása.[9]

A LEHETŐSÉGEK ISMERETE

Ebben nemcsak a genetikai tanácsadást vezető szakembernek kell igen alapos tudással rendelkeznie, hanem minden gyakorló orvosnak illik tájékozottnak lennie, hiszen az érintettekkel általában a mindennapi orvosi praxisban lehet először találkozni. Ugyanakkor nem hangsúlyozhatjuk eléggé, hogy minden egészségügyben dolgozó, magasan kvalifikált szakembernek (védőnő, gyógyszerész, a népegészségügyi szolgálatban tevékenykedők stb.) ismernie kell a felmerülő gondokat és kérdéseket, és nem szabad előzetes jelleggel sem a laikust esetleg félrevezető tájékoztatást adnia, akkor sem, ha – természetesen – a megfelelő szakintézetbe irányítja a kérdésfeltevőt. Döntő momentum a későbbi tanács elfogadásában vagy elutasításában a bizalom, és ennek megteremtése függ az előzetes információk helyességétől is. (Nem kicsiny e téren a laikus sajtóban, rádióban, televízióban megszólaló ismeretterjesztők felelőssége sem.)

Régebben, amint ez a fentiekből már világossá vált, a genetikai tanácsot kérőknek általában két lehetőségük volt: nem vállalni a gyermekáldást, vagy vállalni a károsodott gyermek születésének – kisebb vagy nagyobb – veszélyét. Mára a helyzet drasztikusan megváltozott, legalábbis azokban az országokban (így Magyarországon is), amelyekben

---

[9] Szerencsére a hajlam nem jelent automatikusan manifeszt csípőficamot (l. 9. fejezet). Megfelelő ortopédiai szűrővizsgálatokkal azonosíthatók azok, akik veszélyeztetettek, de konzervatív kezeléssel is megelőzhető a tényleges ficam (*luxatio coxae)* létrejötte, másoknál pedig – a súlyosabb izületi deformitásban szenvedőknél – korrekciós műtéttel lehet elejét venni a nagyobb fokú laesio kialakulásának.

engedélyezett a terhesség művi megszakítása orvosi indok alapján (általában a 20. terhességi hétig). Erről az alábbiakban a prenatális genetika kapcsán szólunk. Ahol és amennyiben ez elfogadhatatlan, lehetőség van az örökbefogadásra. Megnyílt azonban a mesterséges ondóbevitellel, valamint az *in vitro* fertilizációval (***IVF***) egy olyan út is, ami a nagy kockázatú saját gyermek vállalása helyett az igen csekély veszélyeztetettségű[10] „félig saját" világrahozatalát teszi lehetővé. Mondjuk az egyik házasfél dominánsan öröklődő rendellenessége, pl. vaksága indokolja a genetikai tanácsadást. Az ismétlődési kockázat 0,5, ami igen nagy. Attól függően, hogy az asszony avagy a férj szenved a rendellenességben, lehet a beteg férj helyett mesterséges megtermékenyítéssel donor-spermával teherbe ejteni az asszonyt, avagy fordított esetben idegen nőből származó, a férj ondójával megtermékenyített petesejtet ültetni be az anyaméhbe. Szemben az örökbefogadással, itt mindkét esetben megadatik a terhesség és anyaság élménye a családnak, s legalább az egyik szülő génjeit hordozza az utód (míg a másik – a biológiai apa vagy anya – személye szigorúan titok marad), így az érzelmi elfogadás zavartalan lehet. Ez utóbbit valósíthatja meg az is, ha mindkét házasfél olyan rendellenességben szenved, ami ellenjavalja a génikusan saját gyermek világrahozatalát, de az asszony alkalmas a terhesség kiviselésére, és ezért idegen szülők IVF eljárással létrejött embriókezdeményét ültetik be a méhébe.[11]

A lehetőségek ismerete és az érintettek kellő – igen alapos, érthető, mindenre kiterjedő – tájékoztatása természetesen nem maradhat meg a leírtak szintjén. A genetikai tanácsadáson hallottak elfogadása vagy elutasítása nemcsak szubjektív, hanem függ az érintettek korábbi tapasztalataitól, morális álláspontjától, valamint magának a szóban forgó rendellenességnek a milyenségétől is. Más lehet a hozzáállás egy súlyos, alkalmasint előbb vagy utóbb halálhoz vezető rendellenesség esetén, mint egy olyannál, ahol

---

10 Sohasem szabad megfeledkeznünk arról, hogy minden mesterséges beavatkozásnak kockázata van, másrészt a leggondosabb ellenőrzés mellett is maradhatnak homályban fontos adatok. A sperma- és petesejt donorokat nagyon gondos genetikai anamnézis birtokában igen alapos kivizsgálásnak vetik alá, s csak a minden szempontból megfelelők vállalhatják ivarsejt adományozását, de ez sem zárja ki 100%-os biztonsággal egy esetlegesen génikusan sérült gyermek fogantatását (új mutációk mindig felléphetnek, ritka recesszív gének kerülhetnek homozigóta állapotba, meiotikus vagy mitotikus nondiszjunkció okozhat kromoszómarendellenességet, és így tovább). Ezekről a lehetőségekről az érintetteket mindig tájékoztatni kell, még akkor is, ha összesített előfordulási valószínűségük is messze az 1% alatt marad. (Laikusok általában jobban megértik az 1%-ot mint a 0,01 valószínűséget, ami a matematikailag korrekt forma.)

11 Ebbe a körbe tartozhat a súlyos recesszív ártalomra heterozigótaság bizonyítottsága a pár mindkét tagjánál. Ez 1/4 valószínűséggel ígéri homozigóta recesszív gyermek születését. Lehet, hogy nem mennek bele az asszony más férfi spermájával való megtermékenyítésébe, de elfogadják a génikusan mindkettőjüktől idegen magzat kihordását. (Egyébként az IVF eljárásban mindig több petesejtet termékenyítenek meg, s ezek közül a természetes szülők alkalomadtán nem mindre tartanak igényt, felajánlják különböző okból gyermektelen, vagy génikusan saját utódokat nem vállalható házaspároknak.)

pl. orvosi beavatkozással az egészségesekét elérő vagy azt legalábbis megközelítő életminőség és életvitel érhető el, és a leendő szülő nem ítéli magát egy magatehetetlen egyén örökös ápolására, gondozására, ill. a megszülés után intézetbe adással való elvesztésére. Ebből a szempontból is alapvető jelentőségű a fentiekben már részletezett diagnosztikus pontossági követelmény, és ebből levezetve a várható kórállapot és kórlefolyás minél objektívebb felvázolása.

Prenatális genetika

ULTRAHANGVIZSGÁLAT

Ez a nem invazív eljárás rendkívül sok információval szolgálhat az embrió, ill. magzat fejlődési állapotáról avagy annak rendellenességeiről. Anélkül, hogy jelentőségét a legcsekélyebb mértékben is alábecsülnénk, sőt inkább éppen ezért, ennek részleteivel nem kívánunk ebben a jegyzetben foglalkozni, hanem a megfelelő szakkönyvekre (klinikai genetika, szülészet stb.) utalunk.

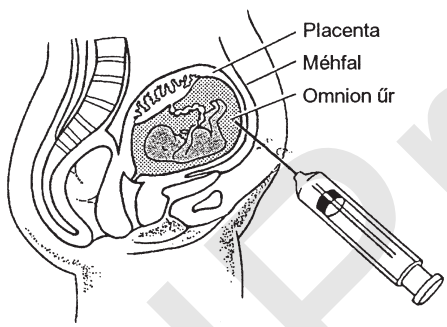
Az utóbbi két évtized leglátványosabb genetikai fejlődését az emberiség számára a molekuláris genetika eddigi felívelése és – ettől nem függetlenül – az embrionális és magzati korban elvégezhető genetikai vizsgálatok módszertanának megteremtése és kiszélesedése jelentheti. A részleteket illetően utalunk e jegyzet egyéb fejezeteire, és kiemelten a HGP eredményeire. Alapvetően két eljárás kidolgozása és elterjedése hozott gyökeres minőségi változást a genetikai tanácsadás számára immár konkrétan megadható magzati diagnosztikában: az amniocentézis (az 1960-as évektől) és a chorionboholymintavétel (az 1980-as évektől). Nagy ígéret a preimplantációs genetikai vizsgálat (amelyről a fentiekben már szóltunk), de hogy beválik-e, vagy egyéb megoldások kerülnek az előtérbe, ma még nehezen jósolható meg.

AMNIOCENTÉZIS

(Szakszerűen: *genetikai amniocentézis*) során egy hosszú és vékony tűvel behatolnak a has- és méhfalon keresztül az amnionűrbe, ahonnan magzatvíz minta nyerhető,

DUPress

amelyben élő sejtek is vannak[12] (22.1. ábra). Ezek a sejtek magzatiak; a bőrfelszínről lesodródott, valamint a légző és vizeletkiválasztó apparátus, ill. az amnionhártya levált hámsejtjeiről van szó. Tenyészthetők *in vitro* és megfelelő eljárással alkalmasaknak bizonyultak kromoszómavizsgálatokra. Az amnionfolyadékból néhány biokémiai meghatározást már a kezdet kezdetén is el tudtak végezni. A sávtechnikák és főleg a FISH kimunkálásával a kromoszómavizsgálatok egyre megbízhatóbbak lettek. Mikrokémiai módszerekkel lehetővé vált, hogy ne csak a magzatvízből, hanem a benne szuszpendált sejtekből is végezhessenek biokémiai meghatározásokat, pl. bizonyos enzimaktivitások mérését. (A hexózaminidáz A detektálásával vagy hiányának kimutatásával felállítható a Tay-Sachs betegség *in utero* diagnózisa, nemcsak a homozigóta recesszív beteg, de a heterozigóta is azonosítható.) Ma mindazon molekuláris genetikai vizsgálatok elvégezhetők az e technikával nyert sejteken, amelyek a fentiekben szóba kerültek.



22.1. ábra. *Amniocentézis vázlata.* Ultrahangos vizsgálat után és kontroll mellett hatolnak be egy hosszú tűvel a méhfalon át az amnionűrbe, ahonnan a tű végére erősített steril fecskendőbe amnionfolyadék mintát szívnak.

Hátránya a genetikai amniocentézisnek, hogy elvégzésével várni kell a 16. terhességi hétig, ugyanis elegendő folyadéknak kell lennie az amnionűrben ahhoz, hogy egyrészt a szükséges mennyiség leszívása ne veszélyeztesse a magzatot, másrészt a tű hegye

[12] E fejezet első mondataként azt írtuk, hogy sokan nevezik a XX.-at az elektronika évszázadának. Az, hogy az elkövetkezendő időszakban a genetika azzá válhat, aminek ma reméljük, nem kis mértékben köszönhető az elektronika fejlődésének. Itt említendő jelentősége: Elvégezhető az amniocentézis vakon is, a magzat és/vagy a méhlepény sérülésének komoly veszélyével. Az ultrahangos képalkotás megszületése azonban lehetővé tette a magzat és a placenta méhen belüli elhelyezkedésének pontos megállapítását, a tű követését és így a szinte kockázatmentes bevezetését. Ma már magzati vérminta vételére is alkalmas ez a punkciós eljárás. Mindez természetesen nem azt jelenti, hogy teljesen kockázatmentessé is vált: nincs invazív beavatkozás, aminek bizonyos veszélyei ne lennének. Ha azonban megvizsgáljuk a várható előnyöket és lehetséges káros következményeket, feltétlenül az előbbiek javára billen a mérleg nyelve.

biztonságos távolságban maradjon a magzattól és függelékeitől.[13] Mivel az amnionfolyadékban található sejtek nem osztódnak, ha kromoszómavizsgálat volt a cél, először mindenképpen *in vitro* tenyészetbe kellett vinni őket, hogy elegendő metafázishoz jussanak. Ehhez két hét elegendő lehet, de nem-ritkán hosszabb időre van szükség. Mindez azt jelenti, hogy kromoszomális rendellenesség gyanúja vagy lehetősége esetén végzett pozitív eredményű vizsgálat lelete esetleg csak addigra készül el, amikor a terhesség megszakíthatóságának már elérkezett a végső határideje.[14] Mára ezt a gondot megoldotta a FISH alapú interfázisos citogenetika. Ugyanakkor maradt az a hátrány, hogy ha az amniocentézisből nyert anyag feldolgozása sikertelen, aligha marad idő az ismétlésre. Érthető, hogy az 1980-as évektől a szakma érdeklődésének homlokterébe egy sokkal hamarabb elvégezhető új módszer került.

CHORIONBOHOLY-MINTAVÉTEL (CVS)

(***chorionic villus sampling, CVS***) optimálisan a 9. terhességi héten végezhető (esetleg egy kicsit előbb), mindenképpen jóval korábban a genetikai amniocentézisnél. A chorionbolyhokat alkotó trofoblasztok embrionális eredetűek, osztódnak, tehát a mintavétel után hamarabb szolgáltathatnak kromoszóma vizsgálatra alkalmas preparátumot, valamint ezekre is igaz az interfázisos citogenetikai vizsgálat alkalmazhatósága. Ha ez a vizsgálat sikertelen, alkalmasint maga a CVS ismételhető, vagy még mindig megmarad az amniocentézis lehetősége a későbbiekben, azaz ez a módszer nagyobb biztonságot ad[15].

---

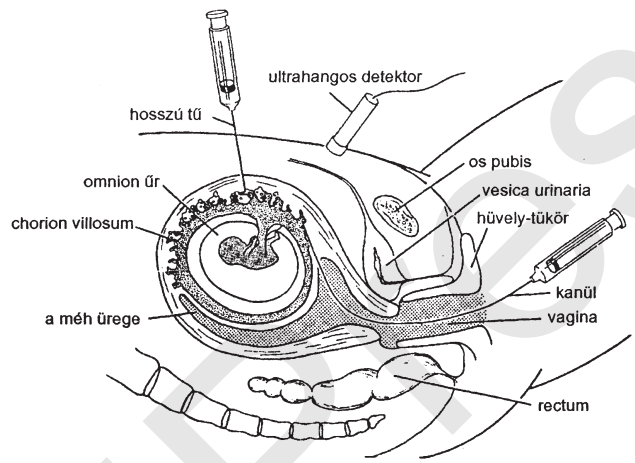
[13] Szerencsés esetben (és nagyon jó felbontású ultrahang készülék birtokában) esetleg egy-két héttel előbb is elvégezhető a beavatkozás.

[14] Ne felejtsük el: igaz, az anya (és az apa) abban a tudatban vállalja az amniocentézist, hogy annak komoly indoka van, tehát ha az eredmény igazolja a rendellenességet, ez nem érheti váratlanul. Mégis, az emberi psiche olyan, hogy az utolsó (vagy akár az utolsó utáni) pillanatig reménykedik. Közben a terhesség előrehalad (érezhetők a magzatmozgások), és ekkor kell dönteni arról, hogy megszakítsák-e, vagy a kimutatott rendellenesség ellenére mégsem. Ez néha egy perc kérdése, máskor napok komoly és kínos vívódása. Ilyenkor nemcsak a legális határok esetleges túllépésére kell gondolni, hanem arra is: a terhesség előrehaladtával a vetélés indikációja egyre nehézkesebbé válik, mind nagyobb terhet ró és több veszélyt jelent az anyai szervezetre. További lelki teher: ilyenkorra a környezet általában már tud az anya terhességéről.

[15] Nem elhanyagolható az az előny sem – bár ez nem kifejezetten genetikai jelentőségű, de aligha nevezhető kevésbé fontosnak –, hogy ha a CVS-ből származó anyag rendellenességet bizonyít és emiatt terhesség megszakításra kerül sor, a beavatkozás a terhesség első harmadában végezhető el, amikor ez technikailag egyszerűbb, kevésbé viseli meg az anyai szervezetet, és amikor az anya még nem is éli meg annyira áldott állapotát, mint amennyire a magzatmozgások észlelése után, valamint környezete sem igen szerezhetett még tudomást arról, hogy másállapotban van. Mindezzel szemben az amniocentézis eredményeképpen kapott diagnózis csakis a második harmadban lehetséges, a már említett hátrányokkal.

Hátránya az eljárásnak, hogy megfigyelések szerint a trophoblast sejtekben léphet fel olyan kromoszóma mozaicizmus (l. 11. fejezet), ami az embrióban nincs meg, így téves eredményre vezethet, ha nem kellő gondossággal és nem elegendő sejtet vetnek vizsgálat alá.

Ma kétféle megközelítésben végzik a CVS-t: méhnyakon, (22.2. ábra) és hasfalon keresztül történő behatolással (ez utóbbi az amniocentézishez hasonlítható), természetesen megfelelő előzetes vizsgálat és ultrahangos kontroll mellett. A kapott anyagot sztereomikroszkóppal ellenőrzik, hogy valóban az-e, amit nyerni kívántak.



22.2. ábra. *Chorionboholy mintavétel (CVS) vázlata.* Az ábra mind a két manapság használatos módszert bemutatja: a hasfalon és a méhnyakon keresztül végzett mintavételt egyaránt. (Természetesen ezeket vagylagosan, az adott terhesség anatómiai viszonyainak, a lehetőségeknek, gyakorlatnak megfelelően választják.) A hasfali behatolás esetén érdemben ugyanúgy járnak el, mint az amniocentézisnél (l. 22.1. ábra), de az ultrahangos vizsgálattal előzőleg pontosan azonosított chorion-területbe vezetik a tűt, amely hegyének mozgását az ultrahangos vizsgálóberendezés képernyőjén követik. Vagy a hüvelyen és méhnyakon keresztül vezetnek be a méhűrbe egy erre a célra kifejlesztett műanyag kanült. (Ez utóbbi módszer alkalmazásánál is ultrahangos képalkotási kontroll mellett végzik a beavatkozást.)

Mind az amniocentézis, mind a CVS invazív beavatkozás, tehát kockázatokkal jár. Ezek közül az első a „spontán" vetélés. Azért van a szó idézőjelben, mert ha a beavatkozás idézte elő a terhesség megszakadását, akkor az nem spontán, viszont mégis ragaszkodni kell ehhez a kifejezéshez, mert nem bizonyítható, hogy valóban az amniocentézis

vagy a CVS volt a kiváltó ok. Az adott terhességi időszakokban nem számít ritkaságnak a nem külső (és azonosítható) hatásra bekövetkező vetélés, így csak statisztikai adatok alapján mondható, hogy az amniocentézis kevesebb mint 1%-ban, míg a CVS mintegy 1-3%-ban lehet abortusz kiváltó oka. (Ne feledjük, a beavatkozást eleve valamilyen rendellenesség gyanúja indokolja, ami – ha igaz – önmagában is lehet kockázati tényező ebből a szempontból.) Az egyéb veszélyek közül meg kell említenünk az Rh^- nők izoimmunizációjának problémáját Rh^+ magzat esetén (l. 7. fejezet).

Említettük az amniocentézisből nyert sejtek *in vitro* tenyésztésének szükségességét kromoszómapreparátum készítéséhez. Jelentkezhet ez az igény trophoblast sejtek esetén, valamint más indikációjú vizsgálatoknál is. Tudnunk kell: minél hosszabb időt töltenek a sejtek mesterséges körülmények között, annál inkább megnő a veszélye a tenyésztés alatt fellépő – azaz az embrióban vagy a magzatban tulajdonképpen hiányzó – rendellenességek kialakulásának. Ez az állítás természetszerűleg nem a módszer használhatóságának megkérdőjelezése, hanem az igen alapos és kritikus értékelés igényének indoklása.

Melyek a prenatális diganosztika indikációs területei? A fentiek már sugallták, hogy a bevezetés idején mindenekelőtt a kromoszómaaberrációk időben való felderítése volt a cél. Ide értendő az előrehaladottabb anyai életkor (>35 év) miatt növekvő aneuploidiagyakoriság, valamint a kiegyensúlyozott strukturális rendellenességek kiegyensúlyozatlan formában való továbbadásának veszélye (l. 11. fejezet). Mára bármilyen genetikai diagnosztika elvégezhető segítségükkel.

Meg kell itt említenünk a magzatvíz alfa-foetoprotein (AFP) vizsgálatának jelentőségét. Ennek kórosan magas szintje mindenekelőtt a velőcsőzáródási rendellenességekre (*anencephalia*, *spina bifida aperta*) jellemző. Ez az esetek többségében együtt jár az anyai vérszérumból kimutatható megemelkedett szinttel, azaz első lépésben nem feltétlenül a valamelyes kockázattal mindenképpen járó amniocentézis, hanem az ennél kisebb beavatkozást jelentő vérvétel végzendő el, és ultrahang vizsgálati eredményekkel összevetve válhat csak szükségessé a magzatvíz analízise is. Más rendellenességek is járnak megemelkedett AFP-szinttel a magzatvízben, és lehet ennek oka egyéb tényező (pl. ikerterhesség) is, tehát önmagában a kóros lelet nem lehet indikációja egy esetleges terhességmegszakításnak, hanem csak a további vizsgálatoknak.

Az amnialis vagy a chorionboholy sejtek vizsgálata éppen napjainkban válik igazán jelentőssé a DNS-alapú diagnosztika megszületésével. Ezek a módszerek részletesen szerepelnek máshol (l. 18. fejezet), itt csak arra hívjuk fel a figyelmet, hogy *(1)* elsősorban a CVS (de bizonyos célokra az amniocentézis is) képes olyan sejtmennyiséget szolgáltatni, ami DNS-diagnosztikához (alkalmasint PCR-felszaporítás után) elégséges, *(2)* a modern kromoszóma és/vagy génlokalizációs módszerek (FISH, *in situ* PCR) alkalmazhatók a CVS-ből vagy amniocentézisből származó kromoszóma készítményekre, és *(3)* ez utóbbi módszerekkel interfázisos sejtmagok is vizsgálhatók. Ez már a génszintű diagnosztika, s

erre gondoltunk akkor, amikor a fentiekben az ismétlődési kockázat megadásának rohamosan csökkenő jelentőségét említettük. Ma már nem a kockázat megadása a cél, hanem annak egyértelmű meghatározása, hogy egy embrió vagy magzat szenved-e vagy sem, ill. a belőle származható újszülött vagy felnőtt fog-e szenvedni – esetleg valamely kedvezőtlen, provokáló tényezők hatására – bizonyos génikus rendellenességben. A fejlődés – amint a fentiekben láttuk – szédületes és lélegzetelállító.

Lehetséges a nem meghatározása is prenatálisan, ultrahangos vizsgálattal, vagy – időben hamarabb – a fent leírt mintákból, nemcsak kromoszóma analízissel, hanem – egyszerűsítve – a női ill. férfi nemi kromatin azonosítása révén is. Az X, ill. Y kromoszómák megfelelő DNS-próbák alkalmazásával interfázisban is kimutathatók. Abban minden komoly szaktekintély egyetért, hogy nem végezhető prenatális vizsgálat a nem kívánt nemű magzatot hordó terhesség megszakíttatása érdekében.

Sohase felejtsük el: minden vizsgálat csak arra a kérdésre adhat választ, aminek az érdekében és ahogyan célzottan elvégezték. Egy X kromoszóma kimutatása nem mond semmit a rajta levő gének esetleges mutációiról (hemofília, Duchenne szindróma, *testicularis feminisatio* stb. lehetősége). Ha nem sikerült harmadik 21-es kromoszómát találni, ez nem bizonyítéka általában a kromoszóma rendellenesség hiányának. Nagyon messze van még az a korszak, amelyben majd „általános prenatális genetikai kivizsgálás"-t lehet kérni.

Etikai megfontolások

A genetikai tanácsadás és ezen belül kiemelten a prenatális genetikai diagnosztika talán több és súlyosabb etikai, mintsem szakmai-technikai kérdést vet fel, amelyek semmiképpen sem maradhatnak az egészségügy és az abban dolgozók belső problémái, még csak nem is a tanácsadást igénybe vevőké, hanem össztársadalmi figyelmet érdemelnek.

Tekintsük át először a genetika egy régen megfogalmazott kérdését, ami az emberiség régi gondja (vagy álma): az emberiség „nemesítésé"nek a problematikáját.

Állítólag már Nagy Frigyes porosz uralkodó célul tűzte ki, hogy testőrsége legalább két méter magas katonákból álljon, s ezek megteremtéséhez magas férfiaknak magas nőkkel való összeházasítása révén kívánt eljutni. Hasonló szelekciós elveket Napoleon és Hitler is próbált bevezetni. Azonban nemcsak uralkodóknak és népvezéreknek voltak efféle ambícióik, hanem Francis Galton, a neves tudós is érdeklődött a téma iránt, akiben egyébként a biometriai genetika megteremtőjét tisztelhetjük. Tőle származik az eugenika

kifejezés is. Ezen a jövendő generációk génösszetétele javításának tanulmányozását értette.

POZITÍV ÉS NEGATÍV EUGENIKA

Az ***eugenika*** két irányzatra osztható: pozitív és negatív eugenikára. Mindkettő az emberi faj biológiai tulajdonságait kívánja megjavítani. Az első a pozitív tulajdonságok elterjesztésével, a második a negatívak eliminálásával. Mindkettővel kapcsolatban fel kell tennünk a kérdést: tudományosan lehetséges-e ez és emberileg elfogadható-e, ha egyáltalán lehetséges.

Bizonyos örökletes jellegeinkről egyértelműen eldönthető, hogy azok kívánatosak-e, pozitívnak minősülők-e vagy sem. Kérdés ezek után, hogy arra a sok ezer emberi fenotípusos jegyre nézve, amelyek mindegyikének csak a számunkra kívánatosnak vélelmezett változatát szeretnénk megtartani a népességben, akár az ilyeneket hordozók irányított párválasztásával és általuk sok gyermek vállalásával (= pozitív eugenika), akár a hátrányos bélyegeket mutatók házasodásának vagy gyermeknemzésének megtiltásával (= negatív eugenika) van-e lehetőség. A válasz első megközelítésben egy-egy monolokuszos tulajdonságra vonatkozóan is legfeljebb a „talán" lehet, a poligénes rendszereket illetően „reménytelen", az emberi genom összességére vonatkozóan pedig egyértelműen „lehetetlen".

Végső soron itt ugyanazt a problémát kellene megoldani, mint ami az állattenyésztőknek és a növénynemesítőknek eddig már részben sikerült. Részben, mert ugyan beltenyésztéssel fixálhatók bizonyos kedvező jellegek, ennek az ára azonban nem egyszer a beltenyésztéses leromlás, vagy más, nem a mesterséges szelekció célját képező tulajdonságok kevésbé kívánatos formában való elszaporítása. Gondoljunk itt arra, hogy a tejéért tartott szarvasmarha nem igazán jó húsforrás és megfordítva; a nagy tojáshozamú baromfifélék teljesítménye csak meglehetősen afiziológiás tartási körülmények között jelentkezik (amelyek alkalmazása ellen az állatvédők folyamatosan tiltakoznak); nagy terméshozamú kukoricáink pedig minden évben újra és újra előállítandó F_1 hibridek. A sok lokuszon való heterozigótaság, a heterózis, a *hibrid vigor* haszna és jelentősége régen fel- és elismert a növény- és állatgenetikában. Az elsorolt példákban a tenyésztés vagy termesztés optimális eredményét adó fenotípus mint cél sorra-rendre poligénes meghatározottságú, s mint ilyen, a valódi eredményhez igen szűk környezeti feltétel-változásokat enged meg. A túlspecializálódott fajták esendőségére már régen rájöttek a megfelelő szakemberek, s nem véletlenül hoznak létre „génbank"-okat, olyan állományokat, amelyek a faj eredeti allélváltozatait lehetőleg mind őrzik.

Ember esetén fel sem merülhetne, hogy egyetlen megadott cél érdekében szelektáljanak. A káros recesszív allélek arányának a csökkenése a populációban igen hosszú időt venne igénybe (l. 21. fejezet), teljes eltűnésük pedig az új mutációk miatt nem is remélhető. Méginkább így van ez valamely poligénes rendszer – egyelőre (bár igaz, várhatóan már nem sokáig) számunkra teljességgel rejtve maradó – génjeivel. Ugyanakkor a pozitívnak minősíthető humán bélyegek száma olyan nagy, hogy nemcsak gyakorlatilag, de elméletileg is teljességgel tudománytalan vállalkozásnak minősíthető ma bármilyen eugenikai program. A kapcsoltsági viszonyok függvényében a „jó" génekkel együtt a szelekció mindig favorizálna néhány „rossz" gént is. Mindehhez hozzájárul még az ember hosszú generációs ideje és alacsony utódszáma.

Hogy a génterápia (alkalmas vektorokkal vagy mesterséges kromoszómákkal) mivel kecsegtet majd a jövőben, azt pillanatnyilag még jobb a science fiction írókra bízni, nem e jegyzet keretei között taglalni. Ami ma mondható: a reális lehetőségek enyhén szólva is kifejezetten korlátozottak.

Az emberiség értékeit leginkább egyedei sokszínűsége adja. Bármilyen irányított szelekció ezek elvesztésével járna. Ugyanakkor ki mondhatja meg, hogy mely emberi tulajdonság az abszolút kívánatos, és melyik éppen ellenkezőleg. (Ez utóbbi az örökletes kórképekre, különösen a súlyosabbakra vonatkozóan még kimondható, de számos olyan bélyegünk van, ami önmagában szinte neutrális, azonban így természetesen sohasem fordulhat elő, és többi jellegünk közé ágyazva válik pozitívvá vagy negatívvá. Sőt! Emlékeztetünk itt arra a nagyon primitív példára, amire az 9. fejezet végén hivatkoztunk: a 160-as IQ pontszámmal kifejezhető értelmi adottság elvileg nagyon is kívánatos. De egy bűnözőben...?)

Végezetül, de legkevésbé sem utolsósorban az ember emberi mivoltának és jogainak tisztelete kizárja a bármiféle vele való kísérletezést, egyéni életébe való beavatkozást, akár csak egy szelíden irányított párválasztást és javasolt gyermekszámot feltételezve is. Az emberiség históriájának egyik legsötétebb szégyenfoltját képviselő nácizmus történetéhez sajnálatos módon kötődik, hogy Hitler börtönbüntetése alatt eugenikai munkákat is olvasott, s azok maximális félre- vagy meg nem értéséből származó nézetei belekerültek a Mein Kampf-ba. Mindebből először a „germán faj" elszaporításának igénye (pozitív eugenika) származott, majd megszületett a „nem árja fajok" szaporodása meggátlásának cselekvési programja (negatív eugenika), ami végülis a holocaust gyilkos őrületében csúcsosodott ki. Szigorúan szellemtörténeti szempontból nézve ehhez nagy sajnálattal azt kell hozzátennünk, hogy Hitler még a tudomány világából is tudott zavaros nézeteihez támogatókat toborozni. Ha ezeket valódi tudósoknak nem is tekinthetjük, de nem egy közülük olyan szakember volt, aki – ha csak politikai vagy karrierista indíttatásból is – sokakkal elhitette a „magasabbrendű és alsóbbrendű emberi fajok" létének ideológiáját.

Mindez, mivel sokan egyfelől az eugenikát a genetikával, másfelől az eugenikát a hitleri cselekvési programmal azonosították, hihetetlen károkat okozott a genetika tudományának is. Ehhez járul az az úgyszintén sajnálatos tény, hogy ha nem is a hitleri téboly szintjén, de voltak államok, ahol törvényerőre emeltek negatív eugenikai programokat.[16] Bármilyen hasonló cselekvési programmal kapcsolatban fel kell vetnünk annak a kérdését, hogy van-e objektív alapja az elbírálásnak, és ha igen, ki(k) lehet(nek) az(ok), aki(k) megfelelő judiciummal és erkölcsi érzékkel rendelkezve a döntéseket meghozhatná(k). Mivel az első kérdésre a válasz nemleges, így a másodikat már csak teoretikusan megközelítve, arra is azt mondhatjuk, hogy nincs ma a Földön az a demokratikus társadalom, ami ilyen döntések meghozatalára képes lenne bizottságokat vagy egyéb grémiumokat létrehozni az alapvető emberi jogok súlyos sérelme nélkül.

EUFENIKA

Amit minden demokratikus társadalom megtehet, és tulajdonképpen meg is kell(ene) tennie, az az ***eufenikai program*** megvalósítása. Ez semmi mást nem jelent, mint a genotípus adottnak vételét, és ehhez olyan környezeti feltételek rendelését, amelyek a meglevő genotípus alapján elérhető legkívánatosabb fenotípus kifejlődését segítik. Olyan „egyszerű dolgok" tartoznak ebbe a körbe, mint a szellemi és anyagi jólét alapjainak a megteremtése. (Kielégítő minőségű és mennyiségű táplálék, jó lakásviszonyok, a környezeti ártalmak leküzdése, mindenki számára elérhető kiváló iskolarendszer, egészségügyi ellátás stb.) Sajnos aligha állítható az, hogy ez ma már nem utópia.

A történelmi visszatekintés után vessünk egy pillantást a ma aktuális etikai kérdésekre. Tulajdonképpen azt kell megállapítanunk, hogy a genetikai tanácsadás a ma hozzárendelt lehetőségekkel – a maga módján – egy negatív eugenikai program. Kiszűri a génikus defektusban szenvedő embriókat és magzatokat, lehetővé teszi, hogy a várhatóan súlyos fenotípusos elváltozásban szenvedők egyáltalán meg se szülessenek. Ahol nem kro-

---

[16] Az USA 27 államában született törvény a gyengeelméjűek és őrültek kötelező sterilizálására. Szerencsére ezt csak egyben (Kalifornia) hajtották végre. Nyilván felesleges leírnunk, hogy ez tudománytalan koncepció. Ténykérdés, hogy a gyengeelméjűségnek van poligénesen meghatározott formája (l. 9. fejezet), és két génikusan gyengeelméjű házasságából valóban nagyobb valószínűséggel születhet mentálisan szubnormális egyén, aki mindkét szülőjétől többségükben a defektes géneket örökölte. Ma azonban nincsenek meg azok a megbízható módszerek, amelyek biztosan azonosíthatnák az értelmi fogyatékosság konkrét okait, ill. ahol megvannak, ott éppen az egyéb eredetű defekteket (kromoszóma rendellenességen, anyagcsere zavaron, agyi károsodáson, stb. alapuló formák) tudjuk kimutatni, amelyek megközelítési módja egészen más kell legyen. Nem rendelkezünk elegendő ismerettel az elmebetegségekre vonatkozóan sem. Eltekintve azonban az eljárás tudományos megalapozottságának hiányától, mindenképpen hozzá kell tennünk, hogy embertelen is.

moszóma rendellenesség, hanem monolokuszos ártalom miatt javasol szelektív terhesség megszakítást, ott érdemben géngyakoriságot csökkentő hatása van.[17] Ez az „eugenika" azonban nem az az „eugenika"! Nem csak azért, mert nem önkényesen nemkívánatossá nyilvánított poligénes jelleg kiszorítására vállalkozik (a hatalom eszközeivel!). A genetikai tanácsadáson objektív diagnózis születik, aminek alapján ha nem is pontosan, de igen nagy valószínűséggel előre megállapítható a megszületendő egyén majdani fenotípusa, annak rendellenessége. A tanácsot kérő tudományos igényű felvilágosítást kap ennek a fenotípusnak az esetleg lehetséges orvosi korrekciójáról, ill. az örökletes kórkép minden vonatkozásáról. Ezek után a szülők döntenek az utód vállalásáról. Szerencsés, ha ez negatív esetben még a teherbe esés előtt történik, de a mai eljárások tulajdonképpen a prenatális diagnosztikát favorizálják. (Említettük fentebb a preimplantációs genetika várható térnyerését!) Az orvosnak azonban szigorúan tilos a szülői döntésbe való legenyhébb formájú beavatkozás is: csak felvilágosíthat, de rá, ill. le nem beszélhet senkit sem a terhesség vállalására, sem pedig annak megszakíttatására. Társadalmi elvárások vagy nyomás itt nem érvényesülhetnek.

A társadalomnak abban van szerepe, hogy erkölcsileg elfogadhatónak tartja-e orvosi indokból a művi terhességmegszakítást vagy sem, és álláspontjának kialakítása után jogilag milyen keretek között szabályozza azt. A legliberálisabb felfogás esetén sem engedhető meg azonban a mégoly súlyos, akár az élettel összeegyeztethetetlen rendellenesség esetén sem, hogy a törvény bármilyen formában is előnyben részesítse az abortuszt.

Társadalmi konszenzus szükséges ahhoz is, és elsősorban erkölcsi, másodsorban praktikus népesedési okokból, hogy ne engedélyezzék a kívánt nemű gyermek születésének elősegítését prenatális vizsgálattal. Statisztikai tény, hogy az ilyenirányú engedékenység igen jelentős férfi túlsúlyt eredményezne néhány generáción belül, ennek minden hátrányos következményével.[18]

---

[17] Zárójelbe kívánkozó megjegyzés: ma a PKU szűrésének géngyakoriságot fokozó hatása van. Az időben diagnosztizált és megfelelően kezelt esetekben az egyén életkilátásai és reprodukciós képessége az átlagnak megfelelőek, azaz ma azok a homozigóta recesszívek is továbbadják génjeiket, akik egy korábbi időszakban súlyos értelmi fogyatékosságuk miatt erre képtelenek lettek volna. A génegyensúlynak az az állapota, amit a szelekció és a mutációs ráta együtt alakítottak ki sok-sok generáció során, most – a sikeres orvosi tevékenység következtében – a mutáció javára felborul. Helyreállítaná az egyensúlyt a homozigóta PKU-sok prenatális kiszűrése és az ilyen magzatot hordozó terhességek megszakítása, sőt, a heterozigóta magzatok elpusztítása a szelekciós hatás fokozása révén csökkentené a kóros allél gyakoriságát. Ezt azonban nem nevezhetjük követhető útnak. Ugyanakkor eredményre vezetőnek sem. Az evolúcióról írottakban láthattuk, hogy a recesszív allél felszaporodásának üteme csak elhanyagolhatóan csekély mértékben befolyásolná a homozigóta PKU-sok születési gyakoriságát.

[18] Közismert, hogy az ifjú házasok jelentős többsége szeretne elsőre fiúgyermeket. Igaz, ez a kívánság a második gyermekkel kapcsolatban az ellenkezőjére szokott fordulni, de egyrészt arányaiban nem annyira kifejezetten, másrészt jónéhányan csak egy utódot terveznek, s nem kicsiny azok száma sem, akik hiába vágynak második gyermekáldásra. Mindehhez járul sok országban, így Magyarországon is, az a praktikus megfontolás, hogy kis lakásban jobb, ha a gyermekek

Komoly etikai gondot jelenthet az orvos számára, hogy beavatkozása milyen hosszú távú következményekkel járhat. Utaltunk már a *xeroderma pigmentosum* esete kapcsán arra a gondra, hogy vállalható-e kétszeres heterozigóták világrajövetelének elősegítése. A PKU-val kapcsolatban felmerül: lehet-e jogunk a biztosan homozigóta magzat elvételét javasolni, amikor közismerten jók a kezelés lehetőségei. Ugyanakkor a sikeres diéta a géngyakoriságot emeli a populációban. Nem kívánunk belebonyolódni azoknak a problémáknak a taglalásába, amelyek azt mutatnák be, hogy miképpen ütközhet a szülő, a magzat (= a leendő emberi egyed) és a társadalom érdeke. Azé a magzaté, aki még nem is jogképes, de ha megszületik, visszamenőlegesen is azzá válik, és pl. minden bizonnyal megilleti (megilletné!) az egészségesen való megszületés joga. Hogyan foglaljon állást ezekben a kérdésekben az orvos, akinek döntési felhatalmazása ugyan nincs, de a véleménye talán a legnagyobb súllyal esik a latba. Mennyire illetheti meg a szülőt a biztosan súlyosan fogyatékos gyermek világrahozatalának joga, akiről előre tudja és eldöntötte, hogy ha valóban olyan lesz, mint amilyennek a genetikai tanácsadáson leírták, intézeti gondozásba adja, azaz rábízza a társadalomra, hogy azt csináljon vele, amit akar vagy tud.

Az orvos keze e tekintetben is meg van kötve. Ha a tanácsért hozzá forduló döntése nyilvánvalóan ellenkezik akár a szóban forgó magzat, akár a társadalom érdekeivel (vagy mindkettővel egyszerre), mindig ezt a szülői akaratot kell respektálnia. Ez aláhúzza az egészségügy minden szereplője szakszerű felvilágosító funkciójának jelentőségét. Más területen is, de a genetikában különösen igaz, hogy a modern, tudományosan megalapozott ismereteknek folyamatosan el kell jutniuk közérthető formában a laikusok széles köreihez. Enélkül nem várható, hogy egy megfelelő genetikai tanács értő fülekre találjon. Végülis a jó döntés kulturáltság kérdésre. A kultúra viszont hosszú távon továbbadott kollektív bölcsesség. Most tehát az emberi közösségnek valami olyat kell megtanulnia, amit ma még a szakemberek sem tudnak.

Etikai és nem tudományos szakmai kérdés az is, hogy milyen körben és hogyan lehet felhasználni a genetikai tanácsadás kapcsán feltárt adatokat. Az orvosi titok kategóriájába tartozik pl. valakinek a kiegyensúlyozott kromoszómaaberrációt hordozó volta. Ugyanakkor a hordozó közeli rokonainak elsőrendű érdeke annak vizsgálata és kiderítése, hogy bennük nem fordul-e elő ugyanaz a rendellenesség. Behívhatja-e az orvos a

---

azonos neműek. Tehát aki érzelmileg másodjára kislányt szeretne, értelmi alapon esetleg mégis fiú mellett döntene, ha szabadon választhatna. Hazai viszonyaink között nagyon is akadémikus marad a kérdés: hogyan alakulna mindez három- vagy négygyermekes családmodellek esetén. Felmérések szerint akkor is maradna az említett férfi túlsúly. (Sok nő érzi úgy – és sajnos nem minden ok és alap nélkül –, hogy a társadalomban a férfiak sikeresebbek, jobb az anyagi megbecsülésük, kevesebb gonddal küszködnek, stb., és emiatt „nem hátrányos helyzetű" gyermeket, azaz fiút szeretne szívesebben a világra hozni. Nem változtat ezen az érzésen az a közismert statisztikai adat sem, miszerint a férfiak születéskor várható élettartama ma Magyarországon kb. 10 évvel kevesebb a nőkénél, és ennek hátterében – egyebek között – még az is kimutatható, hogy jobban pusztítják őket olyan krónikus betegségek, amelyek igen sok panasszal és szenvedéssel járnak.)

testvért kromoszómavizsgálatra? Természetesen nem. De kinek és hogyan szolgálja az érdekét, ill. válik hátrányára, ha az érintett maga nem hajlandó erről a testvérével konzultálni? Kit terhel a felelősség, ha a testvérnek nem jut tudomására hordozó mivolta, csak egy kiegyensúlyozatlan kromoszómaállományú gyermek születése nyomán? Feltárható-e valamilyen rendellenesség, amit genetikai vizsgálat derített ki, az érintett biztosítótársasága előtt? (Nyilván nem, de a következményekre vonatkozóan viszont a biztosító megtagadhatja az anyagi felelősség vállalást, mondván: őt félrevezették.) A kérdések hosszan sorolhatók, talán ennyi is elég ahhoz, hogy megértsük az etikai problémák sokasodását a genetikai tanácsadás kapcsán.

Tulajdonképpen etikai kérdést jelent az anyagiak megfontolása is, kezdve azon, hogy milyen mértékben uralkodhatnak ezek a lehetőségek kiterjesztése fölött. Ma ugyanis számos vizsgálat el nem végzése nem a megindokoltság hiányán alapszik, hanem költségtényezők függvénye.

Konszenzus alakult ki pl. atekintetben, hogy az anya 35, vagy ennél magasabb életkora esetén indokolt a prenatális kromoszómavizsgálat. Ebben az esetben szakmai szempontból a mérleg két serpenyőjében a kromoszómarendellenesség, ill. a beavatkozás által esetleg kiváltott vetélés kockázata volt. Úgy ítélték meg, hogy az említett határ fölött már az előbbi esélye a nagyobb. Itt sem hagyhatók azonban figyelmen kívül az „egyéb" megfontolások. A vizsgálat költségeit valakinek vagy valamilyen szervezetnek vállalnia kell, és nem csak az érintett szülőpár, hanem mondjuk a biztosítási szervezet is részt kér a döntésből. Az utóbbi olyan formában, hogy finanszírozza-e a vizsgálatot vagy sem. Vállalja-e a pozitív leletből következő terhességmegszakítás költségeit és az esetleges szövődményekből származó egészségkárosodás anyagi terheit? A megfontolások ilyen esetben nem a humanitás és emberbarátság vonala mentén történnek, hanem szigorúan a „költség-haszon elv" szellemében. Egy súlyosan fogyatékos, de hosszú ideig életképes egyén eltartása (akár a családban, akár specializált intézményben) rendkívül drága. Alkalmasint sokkal többe kerül, mint a nyilvánvalóan jóval nagyobb számban kapott negatív leleteket adó vizsgálatok költségei. Tehát az említett korhatár fölött már a gazdaságossági megfontolások is a prenatális diagnosztika mellett szólhatnak. És ha az anya mondjuk 30 éves, teljesen negatív anamnézissel? Ragaszkodhat-e a CVS vizsgálathoz, mondván, hogy ebben a korban is megvan a 21-es triszómia (vagy más kromoszóma rendellenesség) kockázata? Ragaszkodhat-e annak ellenére, hogy az eljárásnak nemcsak az ára, de a munka- és anyagigénye, a rendelkezésre álló laboratóriumi kapacitás is korlátokat szab az elvégezhető vizsgálatok számának?

A HGP EREDMÉNYEINEK JELENLEGI ÉS VÁRHATÓ MORÁLIS ÉS JOGI KÉRDÉSEI

Hogy ilyen kérdések fel fognak merülni, az nem csak nyilvánvaló volt a program kezdeményezői előtt, hanem korábban, mintsem az első részeredmények megszülethettek volna, már indokoltnak tűnt egy külön bizottság felállítása a HGP-ért felelősök köréből

és kívülállókból, amely etikai grémium időben igyekezett előre jelezni az ilyen irányú kétségeket, kérdéseket, felmerülő problémákat és azokra idejében keresni a választ.

Mindezek nem csak a genetikusok morális állásfoglalását igénylik, hanem általában a társadalomét is. Azét a társadalomét, amely tagjainak túlnyomó többsége olyan laikus, aki a tudományos háttér megértésére képtelen, ám – joggal(!) – igényt tart arra, hogy a közmegegyezés keresésében az ő véleménye, állásfoglalása is meghallgattassék, figyelembe vétessék. Ugyanez a laikus ráadásul temérdek különféle előítélet és elfogultság rabja is (lehet), a (vallási, ideológiai) fundamentalizmustól a parttalan liberalizmussal bezárólag.

Ugyanakkor a társadalom szervezett és mindenki számára élhető működése általában nem helyezhető morális közmegegyezésekre, legyenek ezek bármilyen fontosak és nélkülözhetetlenek is, hanem bizonyos szinten feltétlenül, jogi formulákat, törvényekben megfogalmazott követelményeket, rendszabályokat igényel, melyek megszegése szankciókat von maga után. Említettük már, hogy pl. a reprodukciós célú emberi klónozást minden fejlett demokrácia jogrendje tiltja. A HGP azonban ezen túlmenően is igen sok kérdést érint (sőt a klónozást csak meglehetősen közvetve).

Felsorolunk ebből a körből itt néhány gondolatot, messze a teljesség igénye nélkül.

(1) Kinek a genomja?
(2) Stigmatizáció.
(3) Munkaalkalmasság.
(4) Biztosítás.
(5) Szabadalom.
(6) Génterápia.

Egy-két keresetlen megjegyzés ezekhez:

Ad 1/ Az-e a tulajdonos, aki a teljes szekvenciát meghatározta, vagy az, akinek a DNS-éből az analízis megtörtént? Nyilvánvaló, hogy a kettő egymás nélkül nem létezik. De ha pl. egy bázissorrend valamilyen okból szabadalmi oltalom alá kerülhet (l. alább), kié lehet ez az oltalom? Ha a bázissorrendet (tudományos folyóiratban) leközlik, ki a szerző és kinek az engedélye kell, ill. kell-e egyáltalán engedély a publikáláshoz? Vonatkoznak-e a személyiségi jogok az adott DNS-szekvenciára is? Ha egy bázissorrendet egy adatbázisban megőrzésre elhelyeznek, annak akármilyen, vagy egy jól meghatározott célú felhasználásáról ki dönthet? És így tovább...

Ad 2/ Egy bizonyos, kevésbé vagy kifejezetten súlyos betegségre, rendellenességre való génikus hajlam kiderítése és közlése pre- vagy posztnatálisan a szülővel, felnőttkorban az érintettel magával, nem ragaszt-e valamilyen (általában negatív) bélyeget az illetőre, nem befolyásolja-e annak életszemléletét, életvitelét károsan? Az „öt éven belül úgyis meghalok...", „tíz év múlva emberi roncs leszek..." felismerés vajon milyen ön- vagy közveszélyes reakciókat válthat ki valakiből? Mennyire teszi esetleg manipulálhatóvá? Milyen lehet a szülő hozzáállása annak a gyermekének a gondozásához, nevelésé-

hez, akiről eleve tudja, hogy „most ugyan látszólag tökéletesen egészséges, de tíz év múlva már csak egy élőhalott kolonc lesz a nyakamon''?

Ad 3/ Lehet-e joga egy munkáltatónak (leendő) foglalkoztatottjától genetikai bizonyítványt kérni alkalmasságáról? Meddig és mire terjedhet ki ez? (Ismeretes módon ma is van számos olyan szakma, ahol az egészségügyi alkalmasság előzetes felmérése szigorú követelmény, nem csak és kizárólag a munkaadó, hanem sokkal inkább a munkavállaló saját, valamint környezetének érdekeként. Vörös-zöld színtévesztő mozdonyvezető például iszonyatos vasúti katasztrófát okozhat, és a sort igencsak hosszan folytathatnánk, ide értve mondjuk az egészségügyi pályára való alkalmasság kérdését is.) Állítható-e olyan választás elé egy munkára jelentkező, hogy a genetikai tesztet ugyan kötelezővé nem tehetjük, de aki megtagadja, azt eleve nem is alkalmazzuk, szóba sem állunk vele?

Ad 4/ Védekezhet-e egy biztosító az ellen, hogy olyannal kössön élet- és egészségbiztosítást, akiről génjei alapján vélhető, nem fog hosszú időn át díjat fizetni, helyette – alkalmasint sokáig – tetemes pénzébe kerül majd a biztosítónak? Megszerezheti-e, mondjuk, az illető egy hajszálát abból a célból, hogy genom-analízisnek vétesse azt alá a kockázat felbecsülésére vonatkozóan?

Ad 5/ Valakinek egy, meghatározott szempont(ok)ból optimálisnak bizonyuló génje valamely géntechnikai eljárás alapjául szolgál. Kinek a javára jegyezzék be e szekvencia oltalmát? Aki meghatározta? Aki rájött, hogy ez a szakasz milyen kedvező biológiai és/vagy ipari sajátságok hordozója? Aki nem az eredeti gént használja, hanem annak bázissorrendje ismeretében egy mesterségesen szintetizált polinukleotidot? Vagy akiben ez a DNS-szakasz biológiailag előfordul? Esetleg nem is szabadalmaztatható, mert természeti adottság, hasonlóan ahhoz, ahogyan magát az embert sem lehet valaki javára szabadalmi oltalom alá helyezni?

Ad 6/ Minden génterápiai eljárás közös jellemzője, ha emberen alkalmazzák, hogy ez valakin előzetes kipróbálás nélkül, először történik. Ezt magyarul kísérletnek nevezik. Szabad-e emberen kísérletezni? Meddig és hogyan ad felmentést az, ha egy szakértő orvosi bizottság eldönti: a kezelendő személy élete a beavatkozás nélkül biztosan menthetetlen? Van-e olyan bizottság, amelyik teljes meggyőződéssel nyilatkozhat egy beteg várható élettartamáról, életminőségéről, mint a kezelés abszolút indokáról, vagy arról, hogy egy új terápia, itt és most: génterápia teljes bizonyossággal pozitív, többé-kevésbé hatásos lesz majd a páciensnél? Tudásunk jelen szintje nem elegendő az igenlő válasz megadására, de a tagadás a haladás, fejlődés tagadása lenne. Így ez a probléma is abba a körbe kerül, hogy inkább morális, mintsem genetikai szakmai állásfoglalást igényel. Társadalmi szinten pedig jogalkotást. De ki(k)től származó és milyen információk alapján dönt okosan a törvényalkotó, hogy az alul- és túlszabályozottságot egyaránt elkerülje, az emberi méltóságot és önrendelkezést mindenek felett tiszteletben tartsa és tartassa?

Nem kell pesszimista rémlátónak lennünk ahhoz, hogy úgy véljük, a genetika – nem csak a humán-, hanem általában a genetika – XXI. századi története az intellektuális kihívások mellett és azok felett mindenekelőtt az érzelmi, indulati konfliktusok tárgya is lesz.

Mit is mond Lucifer, a tagadás szelleme az Úrnak?

Az ember ezt, ha egykor ellesi,
Vegykonyhájában szintén megteszi. –
Te nagy konyhádba helyezéd embered
S elnézed neki, hogy kontárkodik,
Kotyvaszt s magát istennek képzeli.
De hogyha elfecsérli s rontja majd
A főztet, akkor gyúlsz késő haragra.
Pedig mit vársz mást egy műkedvelőtől? –

(Madách Imre: Az ember tragédiája. Első szín.)

Nos, a vegykonyha elkészült, és mi itt állunk nyitott ajtajában a küszöbön. Ahhoz, hogy ne kontár műkedvelőként lépjünk be, nem csak okosnak, jól felkészültnek, megbízható tudásúnak kell lennünk, hanem mindenekelőtt bölcsnek és megfontoltnak is, nehogy istennek képzeljük magunkat.

Összefoglalás

(*1*) A Humán Genom Program (HGP) az ember mintegy 3 milliárd bázispárnyi hosszúságú genomja szekvenciájának meghatározását tűzte ki célul. Első eredményeit (mintegy 95%-os készültségi szinten) 2001. februárjában hozták nyilvánosságra. Megállapították, hogy 40 000-nél több génnel biztosan nem rendelkezünk, inkább csak 30 és valahány ezerrel. Ebből sokan azt a következtetést vonják le, hogy a fehérjekódot tartalmazó gének átlagosan mintegy három különböző (de egymással természetesen nagyfokú homológiát mutató) polipeptidet határoznak meg. Erre az alternatív promoterek léte, és az alternatív „splicing" adnak lehetőséget. A teljes genomnak mintegy 10%-át találták kódoló funkciójúnak, és 1,5%-át valamilyen specifikus aminosav sorrendért felelősnek.

(*2*) A HGP és az ahhoz csatlakozó eredmények szerint az emberiség két tetszőlegesen választott tagja a nukleotid-szekvenciák szintjén 99,9%-os azonosságot mutat.

(*3*) A *Homo sapiens* genomjában mintegy 1%-ra tehető a humán-specifikus szekvenciák aránya.

ELTE Press

(*4*) Különféle DNS polimorfizmusok jellemzik az emberi genomot, amelyek egyrészt lehetővé teszik a tökéletes individuális azonosítást, másrészt magyarázatául szolgálnak az emberiségen belül megfigyelhető rendkívüli változatosságnak (ez utóbbi vonatkozásában az SNP-k [*single nucleotide polymorphism*] jelentőségére hívjuk fel a figyelmet).

(*5*) A HGP új megviágításba helyzete a poligénes rendszereket alkotó gének definícióját is. Ma úgy gondoljuk, hogy ebben az esetben QTL (*quantitative trait locus*) maior génjeinek pleiotróp hatásaival állunk szemben.

(*6*) Jelentős paradigmaváltásokat kényszerítenek ki a HGP eredményei. Pl. a hangsúlyoknak a genomika, azon belül is a funkcionális genomika irányában való eltolása, a tényleges megbetegedést okozó gének és genotípusok mellett a figyelemnek a génikus hajlam kutatására koncentrálása, a genomika mellett a proteomikai kutatások felfuttatása stb. kell a jövő útja legyen.

(*7*) Az újszülöttekben, ill. az első életév betöltése előtti (csecsemő-) korban diagnosztizálható génikus és kromoszomális hibák együttes gyakorisága mintegy 4%, a később észlelhetőkké válókkal ez az érték még magasabb. Ez indokolja a megelőzés igényét, a genetikai prevenciót.

(*8*) Legfontosabb a mutagén hatások elkerülése, az ilyenek lehetséges kizárása környezetünkből.

(*9*) A genetikai tanácsadás hivatott a hozzá fordulók családjában meglevő génikus terheltséget vagy kromoszomális aberráció lehetőségét és veszélyét kideríteni. Indokolatlan aggodalom esetén meg kell nyugtatni a leendő szülőt a gyermekvállalás genetikai kockázatának alacsony voltáról, ellenkező esetben segítséget kell adni a kockázat csökkentéséhez vagy eliminálásához.

(*10*) Az eredményes és sikeres genetikai tanácsadás előfeltétele a helyes és nagyon pontos (lehetőleg molekuláris szintű) diagnózis, a családi anamnézis és az öröklésmenet pontos feltárása, az ismétlődési kockázat meghatározása. Követhető, megfogadható tanácsot csak a lehetőségek pontos ismeretében és laikusok számára is érthető módon való kifejtésével lehet adni.

(*11*) Ha egy adott házaspárról az derül ki, hogy semmiképpen sem lehet egészséges közös gyermekük, felvethető az örökbefogadás, vagy az egyik házasfél gamétáival végzett *in vitro fertilisatio* (IVF) idegen donortól származó spermiummal ill. petesejttel. Elképzelhető az embrióátültetés is: idegen házaspár IVF-ből származó embriókezdeményének beültetése az anyaméhbe. A szokásos örökbefogadási eljárással szemben az utóbbi, modern lehetőségek megadhatják a nőnek az anyaság, a házaspárnak a terhesség saját voltának érzését, ami az utód édesgyermekként való elfogadását segítheti.

(*12*) Ha egy házaspár születendő gyermekének génikus vagy kromoszomális kockázatának ténye ismert, az esetek egyre nagyobb számában van lehetőség prenatális gene-

tikai diagnosztikára, ami már az embrionális, vagy a korai magzati korban megállapíthatja, hogy a félt rendellenesség (a mutáns gén vagy rendellenes genotípus, számfeletti vagy szerkezeti rendellenességet hordozó kromoszóma) megvan-e a vizsgáltban. Ehhez megfelelő sejteket, ill. ezekben alkalmas mennyiségű DNS-t chorionboholy mintavételből (CVS) vagy genetikai amniocentézisből nyerhetünk.

(*13*) Génikus ill. kromoszomális rendellenesség prenatális kimutatása orvosi indoka lehet a terhesség művi megszakításának. Erről sohasem az orvos dönt, szakvéleményében csak tájékoztathatja az érintett házaspárt. Az alkalmasint felajánlott indukált abortusz elfogadása vagy elvetése kizárólagosan az érintett szülők joga. A jövőben megnyílik a zigóta beágyazódása előtti, az ún. preimplantációs genetikai diagnosztika lehetősége is.

(*14*) Az embernek a saját genetikájába való mind intenzívebb beavatkozása elsősorban nem orvosi, nem technikai, hanem mindenekelőtt etikai kérdéseket vet fel. Sajnálatos módon nem hallgatható el az sem, hogy sokszor a pénzügyi (és egyéb anyagi, szellemi kapacitási) feltételek hiánya vagy elégtelen volta gátolja a megfelelő módszerek szélesebb körű alkalmazását. Mindezek megoldása, a nyitott kérdésekre adandó válaszok megfogalmazása nem csak orvosi, hanem össztársadalmi feladat.

(*15*) Régi törekvés az emberi faj, a *Homo sapiens* génállományának javítása. Az ezt célzó törekvéseket eugenika néven ismerjük. Ennek két irányzata van: a mutáns, hibás allélek számának csökkentése az azokat hordozóknak a népesség szaporodásából való kizárásával (negatív eugenika), ill. a kívánatos allélek elterjesztése (pozitív eugenika). Nem ismerünk semilyen olyan tudományos érvet, ami támogatná az eugenikai törekvéseket. Az áltudományos (tudatlanságból vagy a naprakész ismereteink elégtelen voltából fakadó) megfontolások társadalmi veszélyessége óriási.

(*16*) Az eufenika a meglevő „jó" gének kifejeződésének megfelelő környezeti hatásokkal való előmozdítását célozza meg. Ebben a vonatkozásban minden bizonnyal még valóban sok tennivalója van az emberiségnek.

(*17*) A HGP csakúgy, mint a modern genetika általában, vadonatúj morális és jogi problémákat vet fel, amely kihívásokra az emberiségnek meg kell felelnie.

Kérdések

E fejezettel kapcsolatosan számos olyan kérdés vethető fel, amire egyértelmű, tudományosan megalapozott válasz nem adható. Morális megfontolások pedig nem taníthatók, legfeljebb a pró- és kontra érvek sorakoztathatók fel, valamint a többségi álláspont mutatható be. (Semmilyen garancia nincs azonban arra, hogy a többség által követett elvek vagy hozott döntések a helyesek, avagy legalábbis a kevésbé vitathatók.) Pl. egy há-

zaspár első gyermeke Edwards szindrómával születik. Légzési nehézségei csak úgy oldhatók meg, ha respirátorra kapcsolják. Felmerülő kérdések ill. problémák: Alkalmazzanak-e egyáltalán gépi lélegeztetést, hiszen a csecsemő mindenképpen meg fog halni, a 18-as kromoszóma triszómiája gyógyíthatatlan állapot. Ha respirátorra kapcsolják, levegyék-e onnan azonnal, mihelyst olyan gyermek kerül az osztályra, aki *talán* megmenthető a gépi lélegeztetéssel? Megmutassák-e a szülőknek a többszörös fejlődési rendellenességgel sújtott újszülöttet, vagy éppenhogy beszéljék le őket a megnézésről? Milyen módon segíthető a súlyos lelki trauma feldolgozása a szülőkben, mindenekelőtt az anyában? A kérdések természetesen folytathatók. Megválaszolásukhoz az orvosi etika szilárd alapjai mellett nem kevés empátiás készség, és klinikai gyakorlatból, tapasztalatokból származó bölcsesség is szükséges.

E megfontolások nyomán az alábbi problémafelvetések csak a szűkebben vett prakticista megközelítéseket képviselhetik.

(*1*) 23 éves anya és 27 éves apa házasságából származó újszülött, a család első gyermeke, olyan klinikai tüneteket mutat, amelyek a szülést levezető orvosban a Down szindróma gyanúját keltik. Mi a teendő?

(*2*) Terhessége korai szakaszában jelentkezik egy asszony: nagybátyja hemofíliás, fél, hogy neki is hasonló bajban szenvedő gyermeke születhet. Mi a követendő eljárás?

(*3*) 40 éves nő kozmetikai problémával fordul bőrgyógyász szakorvoshoz. Közben, mintegy viccesen megemlíti, hogy szép és fiatalos mamája akar lenni születendő gyermekének, akivel két hónapja várandós. Mi lehet az orvos reakciója erre a kijelentésre? Csak annyi, hogy ő a maga részéről mindent megtesz ezért a szépségért, vagy más is?

Válaszok

(*1*) Mindenekelőtt kromoszómavizsgálatot kell végztetni, mert csak ez igazolhatja a feltételezett diagnózist. (Ha még rendelkezésre áll, a méhlepényből is nyerhető ehhez magzati vér.) Negatív lelet, azaz normális kariotípus esetén, ha a klinikai gyanújelek változatlanul Down szindrómára utalnak, gondolni kell a mozaicizmus lehetőségére, és a vérben levő limfocitákon kívül más szövetek sejtjeit (mindenekelőtt bőr fibroblasztokat) is be kell vonni a kariotípus meghatározásába. Ha a kromoszómavizsgálat lelete pozitív, csak akkor kell az anyát (ill. a két szülőt) tájékoztatni, őszintén elmondva a vizsgálati eredményből fakadó következtetéseket és következményeket. Nagyon fontos a jövőre vonatkozó felvilágosítás. Ha tiszta (nondiszjunkciós) 21-es triszómiát mutat a kariotípus, egy esetleges újabb gyermek kockázata a rendellenesség ismétlődésére az anya akkori ko-

rának függvényében adható meg. Ha transzlokációs Down-kór igazolódik, feltétlenül szükséges meggyőződni arról, hogy új (*de novo*) elváltozásról van-e szó, vagy a házaspár valamelyik tagja kiegyensúlyozott hordozó, és tőle örökölte kiegyensúlyozatlan formában a rendellenességet a csecsemő. Ez utóbbi esetben az ismétlődés elméleti kockázata 1/3, a gyakorlati (tapasztalati) szerencsére ennél jóval kisebb: ha az anya a hordozó, akkor mintegy 1/10, ha az apa, 1/20. Az újabb terhesség vállalásának ellenjavallata nincs, de a prenatális kromoszómavizsgálatot feltétlenül elő kell írni a házaspárnak. Kiegyensúlyozott hordozó esetén kötelessége az orvosnak a családi vizsgálat javaslata: testvér(ek), szülő, szülő testvére(i), unokatestvér(ek) stb. lehet(nek) úgyszintén a rendellenesség egészséges hordozói, akiknek utódaiban újra megjelenhet a kiegyensúlyozatlan forma.

(*2*) Mindenekelőtt arról kell meggyőződnünk, hogy az édesanyja férfitestvéréről van-e szó, hiszen a másik oldalról – ha apja egészséges –, ő nem örökölhette a VIII. vagy IX. véralvadási faktor hiányáért felelős allélt. Amennyiben valóban lehet konduktor, a heterozigóta állapot egyes esetekben (ismert mutációkra vonatkozóan, ill. különösen: megfelelő családi molekuláris genetikai vizsgálatok eredményének birtokában, pl. RFLP analízis, azonosító génpróbák stb.) igazolható vagy kizárható. Ha a heterozigótaság vélelmezhető, vagy az adott lehetőségek nem elegendőek a kizárására, CVS ill. genetikai amniocentézis segíthet első lépésben a magzat nemének meghatározásában: ha egészséges apától fogant leány, maximálisan ő maga is csak konduktor lehet, hemofíliás megbetegedése kizárható. Ha fiú, az említett molekuláris genetikai vizsgálatok dönthetik el egyértelműen, hogy a hibás vagy a normális (vad típusú) allélt örökölte-e. Az előbbi esetben a terhesség orvosi indok alapján történő megszakítása felajánlható a házaspárnak. Nagyon fontos szempont: az orvos csak javaslatot tehet, a döntés a szülők joga és kötelessége. A felvilágosítás kapcsán olyan kérdésekre is ki kell térnie a genetikai tanácsadást végzőnek, hogy mi az adott hemofília típus várható kórlefolyása az éppen elfogadott kezelési lehetőségek mellett. Amennyiben a molekuláris gén-diagnosztika elvégzésének valamilyen akadálya van, a „hagyományos" megközelítés szerint: amennyiben a tanácsot kérő anyai nagybátyja hemofíliás, annak valószínűsége, hogy az ő anyja konduktor 1/2. Ha az anya konduktor, lánya 1/2 eséllyel örökölte tőle a hibás allélt, és úgyszintén 1/2 valószínűséggel adja tovább azt fiúgyermekének. Azaz a hemizigótaság esélye a szóban forgó embrióban vagy magzatban $1/2^3 = 1/8$. (A magzat [embrió] neme mindenképpen eldönthető, tehát a fiú igazolását biztosnak fogadhatjuk el.) Ez a kockázat önmagában, ha a házaspár a terhesség megszakíttatása mellett döntene, elegendő alap az orvosi indokú abortusz elvégzéséhez. (Ugyanakkor emlékeztetnünk kell arra, hogy a VIII. véralvadási faktor rekombináns DNS technika alkalmazásával a közeli jövőben sokkal nagyobb mennyiségben áll majd rendelkezésre a hemofília A-ban szenvedők kezelésére, mint a ma általánosan hozzáférhető, donor-vérből előállított készítmények.) Ne feledkezzünk meg arról az alapszabályról sem, hogy ha az elvégzett vizsgálatok egyértelműen kizárják a hemofília

lehetőségét az adott terhességben, az orvosnak nem szabad azt közölnie a szülőkkel, hogy biztosan egészséges gyermekük születik majd, ha a terhesség gond nélkül eljut a terminusig, mert semmiféle garancia nincs arra nézvést, hogy a nem vizsgált jellegekben nem lehet valamilyen kóros eltérés. (Pl. ha a nem meghatározása nem kromoszóma vizsgálattal, hanem X- és Y-specifikus DNS-próbákkal történt, legfeljebb a Klinefelter szindróma vagy a 47,XYY kariotípus zárható ki, valamilyen számbeli vagy strukturális autoszomális rendellenesség már nem, a monolokuszosan vagy poligénesen öröklődő rendellenességekről nem is beszélve.)

(*3*) Orvosi műhibát követ el, ha nem kérdezi meg az asszonytól, hogy járt-e már genetikai tanácsadáson, és amennyiben a válasz nemleges, elmulasztja az azonnali oda utalását. Feltétlenül fel kell világosítania betegét a Down szindróma fokozott kockázatáról az adott anyai életkorban (valamint az egyéb kromoszóma számbeli anomáliáknak a születéskori anyai életkorral növekvő esélyéről). Az ilyen felvilágosítás nem csak orvostól (pl. a páciens fogszakorvosától), hanem az egyéb szakképzett egészségügyi személyzettől (pl. védőnőtől) is elvárt kötelesség.

DUPress

TÁRGYMUTATÓ

5' sapka (*cap*) 571
α-talasszémiá 451
β-talasszémiák 449
13-triszómia, 342
18-triszómia 343
46,XX kariotípusú férfiak. 346
47,XXX kariotípus 347
47,XYY kariotípus 346
χ^2 (khi-négyzet) próba 83

—A—
abortív transzdukció 535
adaptációs érték 770, 785
adatfelvételi torzítás 83
adenin 388
A-DNS 392
AFLP 676
akrocentrikus kromoszómák 289
akrocentrikus kromoszómák 314
aktív radikálok 459
Alapító elv 755
alapító hatás 136, 798
allél 14, 39
allélek relatív gyakorisága 711
allélek relatív gyakoriságának becsült értéke 726
allélikus asszociáció 119
allelomorf jelleg 37
allelomorf 35
alternatív RNS átszabás 565, 578
Ames teszt 454
aminosav-tRNS szintetáz 414
anabolikus enzimek 541
anabolikus operon 541, 542
aneuploidiák 334
aneuszómia 334
Angelman szindróma (AS) 597
annotáció 651
anticipáció 669
antikodon 412
antiparallel 391
antiszensz technika 691
anyai (maternális) öröklődés 101
anyai génhatás 78
apoptózis 625
autoradiogram 649
apoptózis 233
aporepresszor 542
apród DNS 562
att szekvencia 481
attenuátor 548
autoszómák 40, 314
azonos irányú ismétlődés 490

—Á—
állandósult hiperfenilalaninémia 156
általános transzkripciós faktorok 568
átírás (transzkripció) 407
átírási egység 565
átkereszteződés 476
átszabott pszeudogének 566

PUPress

—B—
bakteriofág 655
bakteriofágok 522
baktérium kromoszómá 522
balmenetes 393
Barr-test 317
bázis kivágódása 440
báziscsere 440
bázishármasai 411
B-DNS 392
Becker-féle izomdisztrófia (BMD) 142
beékelôdés 440
Behtyerev-kór 191
belső szabályozó régiók 569
beltenyészettségi együttható 743
betegségek modellezése 695
biometria 17
bivalens 25
Bombay vércsoport 76, 181
brachydactylia 132

—C—
CDK 624
cDNS klóntár 658
celluláris onkogének 609
célszekvencia 490
centimorgan (cM) 1110
centromer 289, 309
CFTR 140
CGH 306, 308
CGH 353
chorionic villus sampling, CVS 837
Christmas-betegség 81
ciklinek 624
cink-ujj (*zinc-finger*) fehérjék 581
cisztikus fibrózis 135
cisztron 386
cisztron 538
citozin 388
compound heterozigóta 441
contigok 824
copia-szerű elemek 497
core enzim 409
CpG szigetek 591
Creutzfeldt-Jakob kór 85
crossing over 108, 476
C-sávok 302
CVS (chorionic villus sampling) 837
csíravonal 693

—D—
daganatok 805
DEAE-dextrán 687
deléció 498
derepresszió 541
deuteranomalia (zöld színtévesztés) 46
deuteranop 46
deviáció 83
dezoxiribonukleinsav 13
didezoxi szekvenálás 647
dihibrid keresztezés 61
dihidrobiopterin reduktáz deficiencia 157
dihidrobiopterin szintetáz deficiencia 157
diploid kromoszóma-garnitúra 334
diszkordáns 263
disztrofin 146
dizigóta (DZ) 263
DnaA fehérje 401
DNS átírás 567
DNS denaturáció 394
DNS hibridizáció 395
DNS javító rendszerek 772
DNS kijavítása 463
DNS kötő fehérjék 568
DNS ligáz 402
DNS markerek 114
DNS másodlagos szerkezete 391
DNS metiláció 589

DUPLICATE

DNS polimeráz III 401, 402
DNS polimeráz α 404
DNS polimeráz β 404
DNS polimeráz δ 404
DNS polimeráz ε 404
DNS polimeráz γ 404
DNS polimeráz 399
DNS polimorfizmus 664
DNS-expanzió 669
DNS-ligáz 400
DNS-markerek 664
DNS-ujjlenyomat 672
dominancia 55
domináns episztázis 76
domináns gén 39
domináns negatív karakter 617
Down szindróma 122, 334, 338
Duchenne-féle izomsorvadás (DMD) 141
dupla-parány-kromoszómák(DM) 614

—E—
Edwards szindróma 343
egy gén – egy enzim 152
egy gén – egy enzim 384
Egy gén – egy funkcióképes makromolekula. 385
Egy gén – egy polipeptid 385
egy gén egy polipeptid lánc 13
egy mutáns gén – egy anyag-cserehiba 383
egyenlőtlen (inekvális) crossing over 451
egyszülős diszómia (UPD) 596
elcsúszó egyensúly elmélete 801
elektroporáció 687
elongáció 402, 409, 416, 421
elsődleges befűződés 315
enzimindukció 541
episztázis 76
etnikai csoport 808
eufenikai program 843
eugenika 17
eugenika 789
eugenika 841
eukromatin 303
eufenikai program 843
eugenika 841
euploidia 334
exon keveredés 511
exon keveredés 771, 805
exon 422
exon 565, 568, 662
exonok horizontális átvitele 514
expressziós vektor 691
extrakromoszomális 101
extranukleáris öröklődés 101

—É—
életrevalóság 770
értelmetlen kodonok 439

—F—
F'-plazmid 531
F_1 hibrid 36
F_2 nemzedék 36
faj és fajta 806
fakultatív heterokromatin 588
familiáris hiperkoleszterinémia (FH) 163
FB-elemek 497
fehérje izoformák 580
felkészülési szakasz (G_1) 19
fenilketonúria 156
fenilketonúria, II-es típusú 157
fenntartó metiláz 590
fenokópia 778
fenokópiák 81
fenotípus 40
fenotípusok relatív gyakorisága 711
férfi nemi kromatin 319
fiber FISH 308
FISH 305

DUPress

FISH 353
fitness 771
fizikai térkép 114
fizikai térkép 646
fiziológiai terápia 696
fordított genetika 131
forward genetics 131
fő hisztokompatibilitási komplex 187
F-plazmid 526

—G—
galaktozémia 167
gaméta × gaméta módszer 65
gaméta × gaméta módszer 66
gangliozidózis, (I-es típusú, G_{M2}) 162
gátló- (silencer) szekvenciák 565
gátló (silencer) szekvenciák 568
gélelektroforézis 645
gén 13, 408, 538
gén × gén módszer módszer 65
gén-aktiváló fehérjék 580
génáramlás 795
gén-augmentációs terápia 697
génbankok készítése 653
gén-dózis kompenzáció 319
generalizált transzdukció 532, 533
genetikai egyensúly 773
Genetikai heterogenitás 81
genetikai kód degenerált 437
genetikai komplementáció 386
Genetikai marker 113, 664
genetikai sodródás (drift) 757
genetikai terheltség 749
genetikai transzformáció 380
génhatás 76
génexpresszió célzott gátlása 700
génkonverzió 480
génkölcsönhatás 76
genom 23, 826
genomiális klóntár 657
genomi rögzítés 593
genomikus imprinting (rögzítés) 351
genomikus instabilitás 369
genotípus 40
genotípusok relatív gyakorisága 711
génösszetétel egyensúlya 715
génsebészet 14
génterápia 696
germinális mutáció 441
giráz 401
glikogén tárolási betegség 169
glikogenózis 167
GOF 215
gördülő kerék modell 403
G-sávok 302
guanin 388

—Gy—
gyógyszer-érzékenység fokozó gének bevitele 699
gyűrűkromoszóma 354

—H—
H1 hisztonok 290
H2A, H2B, H3 és H4 290
halhatatlan sejtvonalak 687
haploid szortimentum 334
haplotípus 110, 188
HAT médium 679
háztartási gének 540
H_b érték 261, 264
helikáz 401, 478
helix-loop-helix fehérjék 583
helix-turn-helix fehérjék 580
hemizigóta 44
hemofília A (VIII. faktor) 48
hemofília B (IX. faktor) 48
heteroduplex 478, 479
heteroplazmia 100
heteroplazmia 98
heterozigóta 40
heterozigóták előnye 790
hexaploid 334

Budapest

Hfr törzsek 527
HGP 820
HGPRT 168
hibrid 35
hígító 72
hiper- és hipodiploidiák 334
hiperfenilalaninémia 154
hírvivô v. messenger RNS 411
hiszton oktamer 291
hisztonok 290
HLA 187
hnRNS 565, 571
Holliday-intermedier 479
holoenzim 409
homeobox fehérjék 580
homeobox 15, 224, 226
homeodomén 224, 226
homeotikus szelektor gének 221
homeózis 223
homogénen festődő régiók
homológ kromoszómák 40
homoplazmia 98
homoszexualitás 245
Homozigóta 40
Hox/HOX gének 227
HSR 614
Humán Genom Projek (HGP) 113, 820
Huntington chorea 667
Huntington-chorea 74
hurkos domének 296

—I—
ICR régió 569
ideális populáció 715
idiogram 122
idiogram 301
immunglobulin 486
imprinting centrum (IC) 594, 597
imprinting 593
In situ hibridizáció 683
in situ PCR 683
in vitro fertilizáció (IVF) 206
in vitro pakolás 657
indukált mutáció 444
induktív enzimek 540
induktív enzimek 540
induktor 541
induktor 541
iniciáció 415, 420
inkomplett dominancia 55
inkomplett penetrancia 75
Inszerció 356
inszerciós szekvenciák 483, 492
integráz 482
interfázisos citogenetika 306
interferencia 111
intermedier heterozigóta 55
intron 422
intron 565
inverzió 498
IS elem 483
ismétlődő szekvenciák 561
IVF 834
izodiszómia 596

—J—
jelző szekvenciák 486
juvenilis diabetes 79

—K—
kalciumfoszfát koprecipitáció 687
kapcsolódási csoport 108
kapcsoltság 106
kapcsoltsági egyensúly 119
kapcsoltsági kiegyensúlyozatlanság 119
kariogram 301
kariotípus 289, 304
katabolikus operonok 541, 542
katabolit represszió 545
kereteltolódásos mutáció 440
kergemarha-kór (BSE, 85
kettős hélix, jobbmenetes 392
kettős heterozigóta egyén 62

DUPress

kiazma 26, 108
kiegyensúlyozatlan transzlokáció 356
Kiegyensúlyozott transzlokáció 356
kijelölô metiláz 590
kiméra 693
Klinefelter szindróma 345
klón 677
klonális evolúció 369, 608
klónozás 203
knockout egér 692
knockout egér 695
kódoló v. értelmes szál 409
kodominanciá 56
kodomináns 666
kodon 411
kolineáris 121
kombinatórikus szabályozás 213
kompetencia-állapot 523
komplementáció 76
komplementációs teszt 385
komplementaritás 393
komplementer 391
komplementer 76
konduktor 47
konjugáció 522
konkordáns 84, 263
konstitutív enzimszintézis 540
konstitutív heterokromatin 302, 303
konstitutív heterokromatin 588
konszenzus szekvencia 408
konzervált régiók 564
korepresszor 542
kotranszdukció 535
kotranszfekció 690
kotranszformáció 690
kotranszformáns 525
kromatid 288
kromatin 288, 290
kromatin-negativitás 318
kromatin-pozitivitás 318
kromoszóma késés 337
kromoszóma karok 289
kromoszóma mozaik 338
kromoszóma szortimentum 23
kromoszómák 12, 40
kromoszómák 288
kromoszómális instabilitás 369
kromoszómális nem-hiszton fehérjék 290
kromoszómális imprinting 351
kromoszómaspecifikus klóntár 657
kuru 85
küszöb modell 266
küszöbérték 266

—L—

L1-elem 510
laktóz intolerancia 167
lánctermináto r 439
LCR régió 588
LDL (low density lipoprotein) 163
leolvasási keret eltolódás 435
Lesch-Nyhan szindróma 169
letális mutációk 51
leucin cipzár fehérjék 583
linkage disequilibrium 191
liposzómák 688
litikus ciklus 533
lizogén baktérium 533
lizogén ciklus 533
lizoszómális tárolási betegségek 170
LOD érték 115
LOF 215
LOH 617
lokusz szabályozó régió 588
lokusz 40
lötyögés 438
LTR (Long Terminal Repeat) 688
LTR 505
lyonizáció 144

—M—

maior gén 252

PUPress

manifesztációs időpont 73
marker kromoszómá 369
másodlagos befűződés 315
meiotikus átkereszteződés 772
meiózis 18
Mendel elsô törvénye 61
mennyiségi jellegek 16, 252
mesterséges szelekció 783
metacentrikus 289, 314
metafázis 289
MHC 187
mikroinjekció 687
mikroszatellita 114
mikroszatellita 671
miniszatellitá 671
minor gén 252
minőségi (kvalitatív) jelleg 256
mismatch 466
missense mutáció 442
mitózis 18
módosítók 72
modul 511
moduláris fehérjék 805
molekuláris betegség 445
molekuláris klónozás 640
molekuláris technológiák 14
molekuláris 306
monohibrid keresztezés 36
monolokuszos meghatározottság 252
Monoszómia 334
monozigóta (MZ) 263
morfogén 208
mozaicizmus 338
mozaik 140
mozaik 693
mozgékony elemek 15
mozgékony elemek 771
mozgékony vagy mobilis genetikai elemek 434
mRNS 411
mukolipidózis 170
mukopoliszacharidózis 170
multifaktorális meghatározottság 253
multiplex allélia 229
mutációk 15
mutagén tényező 444

—N—

nagy gyakorisággal ismétlődő szekvenciák 562
negatív szabályozás 542
negatív szuperhelikális feszülés 396
negatív szuperhelikális szerkezet 396
nem által befolyásolt öröklődés 70
nemi (szex-) kromoszómák 40
nem-konzervált régiók 564
nemre korlátozott jellegek 70
nem-virális szupercsalád 507
neokombináció 64
neurofibromatózis 72
neutrális, közel neutrális mutációk 780
neutralista álláspont 803
niche 794
nondiszjunkciós Down-kór 339
non-random komponens 760
nonsense mutáció 442
női nemi kromatin 319
nukleáris matrix 296
nukleáris matrix 589
nukleolusz organizátor régió (NOR) 315, 413, 577
nukleoszóma 291
nukleoszomális hisztonok 290
nukleotid 388, 389
nukleotidok 14
nukleozid 389

—Ny—

nyitott leolvasási keret 418

—O—

oct fehérjék 229
okulokután albinizmus 160

DUPress

oligonukleotid próba 658, 660
onkogén 15
onkogén 608, 610
Operon, operon modell 541
opszin 46
ORF 418
origó 401

—Ö—

öröklődési törvény 11
összekötő DNS 291

—P—

palacknyak hatás 757
paracentrikus inverzió 361
pararetrovírusok 506
Patau szindróma 342
PCR 230, 305, 353
P-elemek 497
pentaszómia 334
peptidiltranszferáz 416
Pericentrikus inverzió 361
plazmid 522
plazmid, plazmid vektor 637
pleiotrópia 79, 230
poli-A farok 571
policisztronális mRNS 411
policisztronális mRNS 541
policisztronális 419
polietilénglikol 687
poligénes öröklődés 253
poligénes rendszer 252
polilokuszos hatás 253
polimeráz láncreakció 673
polimerázok korrekciós funkciója 401
polimorfizmus 666
polinukleotid lánc 389
poliploidia 334
poliriboszóma v. poliszóma 419
pontmutáció 440
pontmutáció 771
pozitív szabályozás 542
pozitív szuperhelikális szerkezet 396
Prader-Willi szindróma 597
preadaptáció 769
preimplantációs genetikai diagnosztika 202
primáz 400, 401
primer 400
primer-pár 230
priming 402
PRINS 306
prion 85
promoter 408
Protanomal 46
protanop 46
protein terápia 696
Proteom 827
protoonkogén 609
pszeudoallélek 76
pszeudoautoszomális régió 236
pszeudogének 566
pszichoszomatikus nem 241
Punnett tábla 53
PWS régió 594, 597

—Q—

Q-sávok 302
QTL (quantitative trait locus) 823
quinacrin 302

—R—

Rad fehérje 480
radioaktív próbák 658
ragadós vagy kohéziós vég 636
random komponens 760
RAPD 675
R-determináns 531
RecA fehérje 477
recesszív allél 40
recesszív episztázis 76
recesszivitás 55
reciprok transzlokációk 356, 359
regulon 549

EDPress

rekombináció 476
rekombinációs endonukleáz 477
rekombinációs forró pontok 480
rekombináns (neokombináns) gaméták 61, 108
rekombináns DNS 635
rekombináns 109
rekombináz 483
relatív kockázat 192
relaxált 396
renaturáció 394
rendezett kariogram 301
replikon 399
represszálható enzimek 540
represszor 542
restrikciós endonukleázok 14
restrikciós endonukleázok 636
restrikciós enzimek 636
restrikciós fragment-hossz polimorfizmus (RFLP) 665
restrikciós térkép 646
reszolváz 484
retroelemek 492
retronok 505
retropozonok 505
retropszeudogének 506
retropszeudogének 566
retroszekvenciák 506
retrotranszpozíció 490
retrotranszpozonok 505
retrovirális vektorok 688
retrovírusok 504
reverz 302
rezisztencia-faktorok 531
R-faktor 498
RFLP módszer 114, 230
riboszomális RNS (rRNS) 411
riboszomális RNS 412
ribóz 388
ribozim 422
ribozimok 700
riporter gén 690
rizikó gén 266
RNS átszabás 422
RNS átszabás 565, 573
RNS polimeráz I 568
RNS polimeráz II 568
RNS polimeráz III 568
RNS polimeráz 407
Robertson-féle transzlokáció 359
R-plazmidok 498, 531
R-sávozás 302
RTF 498
RTF-szakasz 531

—S—

same sense mutáció 441
sarlósejtes anémia 670
sáv-idiogram, 302
scaffold 295, 297, 298, 589
SCE 365, 456
sejtfúziós technika 676
serkentő (enhancer) szekven-ciák 565,568
sétálás a kromoszómán 669
silencer szekvenciák 568
silent 441
SNP 827
snRNP 573
sodródás 754, 798
Southern-hibridizáció 665
specializált transzdukció 532, 535
spontán mutációk 443
SSB 401
stabil polimorfizmus 792
statisztikai próba 83
stop kodon 439
stringens kontroll 552

—Sz—

szabályozó (regulátor) szakaszok 14
szegregáció 63
szegregáció) törvénye 37

DUPLESS

szekunder kromoszómaeltérések 369
szelekcionista álláspont 803
szelekciós koefficiens 790, 794
szelekciós nyomás 785, 790
szemikonzervatív replikáció 398
szemlencsehomály 167
szét-nem-válás 337
szétszórt ismétlődő szekvenciák 562
szétválogató párválasztás 749
szexkromatin 317
szex-kromoszóma 314
szexpilus 526
szfingolipidózis 162, 170
szintenikus 109
szolenoid 293
szomatikus mutáció 441
szomatikus rekombináció 566
szubmetacentrikus kromoszómák 314
szuperdominancia 56
szuppresszor mutáció 443
szuppresszor mutációk 71
szülői izonímia 759
szülői nemzedék 36

—T—
talasszémiák 449
tandem ismétlődő szekven-ciák 562
TATA szekvencia 568
telocentrikus 289
telomer 309
telomeráz 309
temperált fág 533
templát v. antiszensz szál 409
templát 397
teratoma 593
természetes szelekció 782
terminációs 409, 417, 421
terminációs faktorok 417
terminációs szignál 409
terminális és intersticiális deléció 354
testvérkromatid kicserélődés 365
testvér-kromatid 288
testvérkromatid–kicserélôdés 456
teszt-keresztezés 42
tetrád 25, 108, 110
tetraploid 334
tetraszómia 334
timidin kináz 690
timin 388
tiszta vonalak 35
T_m pont 394
topoizomerázok 397
transzdukció 522
transzfekció 687
transzfer RNS (tRNS) 411
transzformáció 522
transzformoszómák 524
transzgén 693
transzgénikus állatok 693
transzkripció terminációja 409
transzkripciós startpont 408
transzláció 407
transzlokációs Down szindróma 359
transzpozáz 483
transzpozíció 490
transzpozíció 522
transzpozíciós forró pontok 491
transzpozíciós robbanás 772
transzpozonok 492
transzszexualizmus 245
transzverzió 440
transzvesztitizmus 245
tranzíció 440
tranziens (átmeneti) expressziós rendszerek 690
tripla-hélix képző oligonukleotidok 700
triplet expanziós mutáció 669
triplo X állapot 347
triploid 334
triszómia 334
T-sáv 303
T-sejt receptor 486

DUPress

tumor szuppresszor gének 612
tumorspecifikus kromoszóma-eltérések 369
Turner szindróma 347

—U—
uniparentális heterodiszómia 350
Uniparentális izodiszómia 350
uniparentális öröklődés 101
uracil 388
uszály 419
utódvizsgálat 41
uvrABC endonukleáz 465
vektorok 655

—V—
változó expresszivitás 71
várakozási szakasz (G_2) 19
V_{DZ} 263
végálló fordított ismétlődések 492
véletlen párválasztás 713
vezető RNS 426
vezető szál 405
Vezúv-evolúció 772
virális onkogének 609
virális szupercsalád 506
virulens fág 533
V_{MZ} 263
VNTR 671
vörös színtévesztő 46
vörös-érzékeny 46

—X—
X kromatin 319
X kromoszóma pentaszómiája 347
X kromoszóma tetraszómiája 347
X-hez kötött gének 45

—Z—
Z-DNS 392
zöld-érzékeny pigment 46

DUPress

HIBAJEGYZÉK A GENETIKA JEGYZET 2003-AS KIADÁSÁHOZ

I. kötet

I/1. „1. Genetika: visszatekintés. Schlammadinger J., Vitális S" ⇒
1. Genetika: visszatekintés. Schlammadinger J., Vitális S., Szabó Gábor †

II/31. „3. Extrakromoszómális ö röklődés Birkó Zsuzsa" ⇒ 3. Extrakromoszómális öröklődés Birkó Zsuzsa 97

1. FEJEZET

27/1.14/17. „(ahogy a kromatidák távolodnak egymásból)" ⇒ (ahogy a kromatidák távolodnak egymástól)
28/1.15/7-8. „(4. és 5. ábra)" ⇒ (1.17. ábra)

2. FEJEZET

44/1/3. „a századfordulóig" ⇒ a XX. század kezdetéig
50/8.lábj. „(HIV)" ⇒ (röv. *Human Immunodeficiency Virus*)
56/1/4. „ABO" = AB0
67/4/1. „a két gén" ⇒ a két lokusz.
70/4/10. „a nőstény rokonaik" ⇒ a nőstény leszármazottaik
81/4/3. „hemofilia A VIII-as véralvadási faktor" ⇒ hemofília A a VIII-as véralvadási faktor
85/1/4. „asszociálható egyedi, ún. *markerekre* sem tértünk ki" ⇒ asszociálható egyedi *marker*ekre sem tértünk itt ki

3 . FEJEZET

101/1/6. „...betegségek az életkor előrehaladtával fokozatosan nyilvánulnak meg és lesznek egyre súlyosabbak." ⇒ **Utána betoldás:** Újabban ismerték fel az A 1555 G-nek nevezett elváltozást, melynél a 12 S mt rRNS génben az 1555.

DUPress

nukleotidban történt A→G mutáció. Ez aminoglikozid érzékenységet okoz, mely halláskárosodás illetve süketség kialakulásához vezet. A mutáció a 12 S rRNS utolsó előtti hélixében egy új bázispár kialakulását eredményezi, mely megnöveli az aminoglikozid kötőhely méretét és fokozza a kötődés erősségét.

102/3.1. ábra. „*MERRF szindróma öröklődése*…" ⇒ **Az ábraszöveg cseréje.** Felül: A mitokondriumban számos parakristályzárvány található, melyek abnormális fehérje termékek felhalmozódásával alakultak ki. Alul: A MERRF szindróma öröklődése egy családban, a normál és mutáns mitokondriumok százalékos megoszlásával minden, az ábrán feltüntetett személy esetében.

103/6/1. „…random módon történik…" ⇒ véletlenszerűen történik

4. FEJEZET

109/1/1. „ab/ab" ⇒ *ab/ab*

11363/5. „1343 gén helye ismert" ⇒ 1438 gén helye ismert

120/5/3. „vettek mintákat" ⇒ vettek vérmintákat

124/1/2. „…de az átlagosan 1 cM genetikai távolság 0,7-1 MBp hosszúságú…" ⇒ az 1 cM genetikai távolság átlagosan 0,7-1 Mbp hosszúságú

125/1/5.

(c)	46	46	4	4	8

⇒ **Utána betoldás:**

(d)	25	25	25	25	50

126/1/4. „(b) P(H/H) = 0,06; P(H/h) = 0,94" ⇒ P(H/H) = 0,03; P(H/h) = 0,97

5. FEJEZET

139/2/9. „Mivel az albínó fenotípust …" ⇒ **A mondat kimarad.**

140/1/5. „…az exokrin mirigyeket bélelő speciális hámsejtek…" ⇒ az exokrin mirigysejtek

145/lábj. „A disztrofin az eddig ismert…" ⇒ A disztrofin génje az ismert leg-nagyobb emberi gén, kb. 2,4 Mbp hosszúságú, 79 exont tartalmaz. Erről egy kb. 14 000 bázisnyi mRNS keletkezik, ami a 3 685 aminosavból álló fehérjét kódolja. (A gén nem csak izomsejtekben fejeződik ki, több promotere és hnRNS-ének többféle átszabása révén különféle szövetekben más-más fehérjét ad.)

DUPress

147/2/ „*(1)* Az adatgyűjtés nem könnyű…" ⇒ *(1)* Különösen ritka jellegek esetén lehet nehéz mind az adatgyűjtés, mind pedig a nyert információk elemzése. Ezt a nehézséget a humángenetikában azonban mindenképpen le kel győznünk.

148/3/4-5. „A DMD-nek látszó esetek mintegy öt százalékáért…" ⇒ **A mondat kimarad.**

6. FEJEZET

158/6.2. „A dihidrofolát reduktáz" ⇒ dihidropteridin reduktáz

163/2/ „…enzim aktivitása kiesik." ⇒ **Utána betoldás:** A „testvér" enzim, a hexózaminidáz B két béta láncból áll. Ebből megérthető, hogy ha ennek génje mutál, mindkét enzim aktivitása kiesik. Az igen ritka Fabry betegség (*angiokeratoma corporis diffusum*) oka az α-galaktozidáz A hiánya. Ennek az enzimnek a génje az X kromo-szómán található.

175/4/5. „*(9)* a) Ha a gazdaszervezet képtelen…" ⇒ **A bekezdés cseréje:** a) Ha a gazdaszervezet képtelen a laktóz hasznosítására (a diszaharidok nem szívódnak fel a vékonybélből!), mértéktelenül elszaporodnak a bélbaktériumok, mindenekelőtt a tejcukrot jól fermentáló *E. coli.* Ha nem is egyedül, de elsősorban ez vezet a kellemetlen tünetek kialakulásához. A hasmenés megakadályozza az egyébként hasznosítható tápanyagok megfelelő felszívódását is. b) Az éhezők általában nem a pásztorkodással tejet (is) termelő népek közül kerülnek ki. Tejpor fogyasztása a laktóz-intoleranciát mutatókban tovább ronthatja az állapotukat, valamint véglegesen megingathatja bizalmukat az élelmiszersegélyek fogyaszthatóságában.

175/5/5. „Részletesebben l. a Sejtbiológia…" ⇒ **A mondat kimarad!**

176/1/1-2. „(Ez utóbbi az egyetlen X-hez kötötten öröklődő tárolási betegség – mai tudásunk szerint.)" ⇒ (Ez utóbbi az egyetlen X-hez kötötten öröklődő muko-poliszaharidózis.)

8. FEJEZET

210/1/6 (és máshol is). „…dorso-laterális…" ⇒ dorso-lateralis

209/3/10 (és máshol is). „…dorso-ventrális…" ⇒ dorso-ventralis

209/2/15. „…cista…" ⇒ cysta

215/2/7 (és máshol is). „…coordinate gének…" ⇒ coordinate gének, vagy koordinátor gének

DUPLASS

216/1/4. „...rések vannak a testén..." ⇒ nem valódi rések vannak a testen, hanem nagyobb testtájak hiányzanak az állat testéből, azokat anterior jellegű struktúrák helyettesítik

220/4/7. „(ide tartozik az *fst*)" ⇒ (ide tartozik a fushi tarazu [*ftz*] gén)

220/8.9/1. „az eve gén 2. sávja" ⇒ a második páros számú paraszegmentumot, azaz a negyedik paraszegmentumot jelenti

224/1/11. „...a kaszkád csúcsán találhatóak" ⇒ a kaszkád elején helyezkednek el

227/3/1. „a kromoszóma 3′ végén" ⇒ a kromoszómában található DNS molekula 3′ vége felé eső

229/3/1. „...hand-foot-genital (HFG) szindróma" ⇒ **Utána betoldás:** (más leírások hand-foot-uterus [HFU] szindróma névvel is illetik).

229/3/5 (és máshol is). „Hox A 13-as" ⇒ Hoxa 13-as

229/3/10. „...TGA triplet keletkezett, mely stop kodont juttat az mRNS láncába." ⇒ TGA triplet keletkezett, mely stop kodonként íródik át az mRNS-be (l. 13. fejezet).

230/1/5. „...amplifikálnak ***PCR***-rel" ⇒ **Utána betoldás:** (ezeket a molekuláris genetikai módszereket a 18. fejezetben tárgyaljuk részletesen).

231/8.14./3. „A szimbólumoktól balra álló számok..." ⇒ A szimbólumok melletti számok

234/3/6. „l. az 5. lábjegyzet" ⇒ l. a 6. lábjegyzet

240/8.17. „...címre kattintással lehetséges." ⇒ **Utána betoldás:** (A molekuláris genetika rohamos fejlődésére jellemző, hogy az internetről 2000-ben letöltött ábra mostanra túlhaladottá vált, újabb adatok szerint az Y kromoszómán nem 330 gén van, hanem csak 251!)

240/8.17./3. „Balrat:" ⇒ Balra:.

248/2/4. „phallusuk" ⇒ phallosuk.

249/2/2. „...szomszéd homeotikus gének transzformációját" ⇒ szomszéd homeotikus gének expresszióját

9. FEJEZET

260/9.3./13. „száítással" ⇒ számítással.

277/1/9. „...kvóciense 100." ⇒ **Utána betoldás:** Felnőtteknél értelemszerűen nem alkalmazható az itt leírt megközelítés és definíció, ami kb. 16 éves életkorig ad értékelhető eredményt. Idősebb korra más eljárásokat dolgoztak ki, nem lehet azonban itt feladatunk a használatos IQ tesztek mindegyikének bemutatása.

DUPress

280/2/8. „Q<25:" ⇒ IQ<25:

II. kötet

TARTALOMJEGYZÉK

V/1. „16. Gének működésének szabályozása…" ⇒ 16. Gének működésének szabályozása a magasabbrendűekben. Szeszák F., Vitális S.

10. FEJEZET

287/1/2. „vagysis" ⇒ vagyis.

288/1/2. „Később ezeket a fonalakat…" ⇒ Később, festődési tulajdonságuk alapján ezeket a fonalakat

288/3/1. „…mint az sejtek…" ⇒ mint a sejtek

291/1/1. „bapakolva" ⇒ bepakolva

291/lábj. „bp = bázispár, kbp = kilobázis pár…" ⇒ bp = bázispár, kbp = kilobázis pár a DNS láncok hosszát jelentik. Tudományosan tulajdonképen „nukleotid pár" ill. „kilonukleotid pár" korrektebb lenne, de a szakirodalomban a bp, ill. kbp honosodott meg általánosan.

291/3/5. „DNS dupla helix2" ⇒ DNS dupla helix

307/4/5. „…diagnosztikus problémát jelent és további vizsgá-" ⇒ **Utána betoldás:** …latokat igényel, de ha a várt négy fluoreszkáló pont látható a mikroszkópban, az a nondisz-junkciós 21-es triszómia ellen szól. NB! Nem bizonyíték az esetleges Down-kór… (folyt. a 308. oldalon)

308/1/3. „oligonukleptid" ⇒ oligonukleotid.

308/5/10. „fluoreszcenzia" ⇒ fluoreszcencia.

313/1/5. „…születés után korán ez is korán fog replikálódni." ⇒ születés után ez is korán fog replikálódni.

313/3/7. „inaktíválódása" ⇒ inaktiválódása.

313/14lábj./2. „…(mintegy 3 hemoglobin génre) való" ⇒ (mintegy 3 globin génre) való

313/14lábj./3-4. „Nyílvánvaló…" ⇒ Nyilvánvaló

315/17lábj. „NOR: *Nuclear Organizing Region.*" ⇒ NOR: *Nucleolus Organizing Region.*

324/7/4. „a né" ⇒ a nő

11. FEJEZET

334/2.lábj. „Gerincesekben (mint legmagasabb rendszertani egységben)…" ⇒ Gerincesekben (mint legmagasabb rendszertani egységben) kifejlett állatban a szala-mandrák között említ poliploidiát a szakirodalom, ennél magasabbrendűekben nem. Ugyanakkor normál diploid egyénekben egyes – nem daganatosan elfajult, hanem speciálisan differenciálódott – sejtek poliploidok lehetnek az ember estén is: a mega-kariociták (amelyekből a sejtmagot nem tartalmazó vérlemezkék származnak) kromo-szómaszáma akár 64n is lehet. Szívizomban és májban is írtak le 4n vagy 8n poli-ploidiát.

339/2/8. „…hanem a debilitás szintjén…" ⇒ hanem az imbecillitás szintjén…

344/2/9. „Másrészt a két X □ hasonló megfontolásokkal – " ⇒ Másrészt a két X – hasonló megfontolásokkal –

352/4/13. „…mindenféle *dysmorphia* esetén…" ⇒ mindenféle *dysmorphia* (rendellenes alak) esetén…

372/15/1. „(esetleg 13/21-es vagy 15/21-es)" ⇒ (esetleg 13/21-es vagy 15/21-es, ill. még ritkábban 22/21-es vagy 21/21-es)

374/10/1. „A *calico* (cirmos: sárgás és sötét sávok váltakozása a szőrzetben) macskák tipikusan nőstények." ⇒ A *calico* (tarka; sárgás és sötét foltok váltakozása a szőrzetben) macskák tipikusan nőstények.

12. FEJEZET

386/3/3. „genetikai komplementációja" ⇒ komplementációja

38712.4 ábra címében: „komplemetációs teszt" ⇒ komplementációs teszt

393/1/7. „létrjöhet" ⇒ létrejöhet

398/12.15/1, 3. „15N" ⇒ ^{15}N

398/12.15/2. „14N" ⇒ ^{14}N

404/18 lábj. „…sejtekre jellemző magi antigén" ⇒ **Utána betoldás:** Az antigén elnevezésnek az az oka, hogy már régebben kimutatták a fehérje (antigén) jelenlétét a proliferáló sejtek magjában, s csak később derült ki hogy az a replikációban játszik fontos szerepet. Az „antigén" elnevezés tulajdonképpen technikai jellegű, a fehérjét először immunológiai módszerekkel mutatták ki, mint egy antigént.

405 lábj. „…fehérje és helikáz.” ⇒ **Utána betoldás:** Az antigén elnevezés – hasonlóan a PCNA-hoz – módszertani okokra vezethető vissza.

407/1/2. „…azaz polipeptidet, fehérjét szintetizálnak.” ⇒ **Utána betoldás:** (Fontos figyelembe venni, hogy a genetikai információ kifejeződése nem automatikus, hanem mindig a szabályozási folyamatok függvénye, l. 15. és 16. fejezet.)

408/5/6. „felbomlását” ⇒ felnyílását

414/2/5. „limfociták antitesteket” ⇒ B limfociták antitesteket

415/2/10. „ezt Shine-Dalgarno szekvencia” ⇒ ezt Shine-Dalgarno szekvenciának nevezik

422/4/2. „több kémiailag reaktív” ⇒ több, kémiailag reaktív

424/12.31. „Self-splicing reakció” ⇒ Önkivágási reakció

425/1/8. „integrüáns” ⇒ integráns

426/2/1. „RNS editálás” ⇒ RNS szerkesztés

426/2/4. „editálásra kerül” ⇒ szerkesztésen megy át

426/1/4. „…***vezető RNS*** (*guide RNA*)” ⇒ ***vezető RNS*** (*guide RNA,* a szó értelmezése itt más, mint a vezető szál, vagy a vezető szekvencia esetén, gondoljunk pl. a sorvezetőre)

428/1/1. „A két láncot…” ⇒ A két, antiparallel lefutású láncot…

428/2/5. „…a hibridizáció” ⇒ **Utána betoldás:** melynek során különböző eredetű polinukleotid láncok (szekvenciák) ismerik fel egymást és kapcsolódnak össze.

428/3/2. „… szintéziséhez” ⇒ **Utána betoldás:** ami dezoxiribonukleozid trifoszfátokból (dNTP) történik.

428/5/5 „A tRNS 3′ vége képes megkötni egyfajta aminosavat,…” ⇒ A tRNS 3′ végéhez kapcsolja az aminosav-tRNS szintetáz enzim a megfelelő aminosavat,…

429/1/2 „…és a C-terminális felé halad.” ⇒ **Utána betoldás:** Egy mRNS molekulát – egymást megfelelő távolságban követve – több riboszóma is leolvashat egyidejűleg. Ezt a komplexet szokás poliszómának nevezni.

429/5/1 „A szerves anyagokat felépítő elemek…” ⇒ A szerves anyagokat felépítő alapvető (bio-)elemek…

430/12. „Mivel a két DNS szál ellentétes orien-” ⇒ Mivel a két DNS szál ellentétes orientációjú, s az újonnan szintetizálódó szál mindig a 3′ végén növekszik, az egyik szál átírása ellentétes irányú lesz a másik száléval.

ELTE Press

13. FEJEZET

438/13.1 táblázat/8. „AUA" ⇒ CUA

441/4/4. „Pl. az AAA triplet megváltozása AAG-re ilyen," ⇒ Pl. az UUU triplet megváltozása UUC-re ilyen, hiszen mindkettő a fenilalanint kódolja (a kódok itt a mRNS szintjén vannak megadva).

442/13.2. ábra/5. „…beépülését eredményezik…" ⇒ **Utána betoldás:** Figyeljük meg: a glutaminsav oldallánca – (az aminosav poláris), ezzel szemben a valin töltést nem hordoz (apoláris), míg a lizin oldallánca + töltésű (poláris) A sarlósejtes mutáció következtében jelentkező töltésváltozásnak jelentős szerepe van a konformáció módo-sulásában.

445/2/6. „…nem javítódik ki." ⇒ **Utána betoldás:** Az így létrejött heteroduplex a DNS molekula replikációja során az egyik utódmolekulában G–C → A–T tranzícióhoz vezet.

450/13.6./3. „…gyakran a gének előtti, vagy mögötti DNS szakaszon" ⇒ gyakran a gén előtti, vagy mögötti DNS szakaszon

450/13.6./26. „…⑥ és ⑧ mutáció kereteltolásos mutáció…" ⇒ ⑥ és ⑧ eset kereteltolásos mutáció

451/2/3. „…arányos a delécios allélek…" ⇒ … arányos a delécios gének

460/13.3. táblázat. „ᵈMagában foglalja a színes TV, a világító számlapok,…" ⇒ ᵈMagában foglalja a színes TV, a számítógép monitor, a világító számlapok,

462/4/6. „…egy 250 000 000 főből álló populációban (amennyi az USA lakossága), 25 000-rel több érintett egyeddel kell számolni" ⇒ egy 250 000 000 főből álló populációban 25 000-rel több érintett egyeddel kell számolni

466/lábj. „közimsert" ⇒ közismert.

470/9/5. „4. új komplementer szál szintézise." ⇒ **Utána betoldás:** 5. kovalens kötés kialakítása.

471/(2). „(Használja a kódszótárt!)" ⇒ (Használja a kódszótárt és vegye figyelembe a 18.3. ábrát)

472/3/1. „Hemoglobin6 95" ⇒ Hemoglobin 6 95

473.6. kérdés. „ACC Trp CAC Val CCA Gly" ⇒

ACC Trp CAC Val CCA Gly

14. FEJEZET

477/lábj. **A lábjegyzet cseréje:** Az SSB (*Single Strand Binding*-) fehérje több olyan folyamatban is részt vesz, melyek során a DNS egyszálas állapotban való stabilizálása szükséges (pl. replikáció).

DUPress

479/3/4. „véletlenlenen" ⇒ véletlenen.

483/2/1. „14.1. táblázat" ⇒ 14.2. táblázat

486/3/7. „…immunglobulinok génje modulokból szerelődik össze" ⇒ immunglobulinok génjei modulokból szerelődnek össze

487/4/2. „…Jλ génszakaszok mellett …" ⇒ Jλ génszakasz mellett

493/14.2. „Target kiválasztása" ⇒ Célszekvencia kiválasztása

494/1/9. „Mindkét transzpozonra jellemző, hogy transzponálódhat egészben is,…" ⇒ Mindkét transzpozonra jellemző, hogy áthelyeződhet egészben is,…

498/3/8. „Így keletkezhet pl. deléció egy kromoszómán (15.10. ábra)" ⇒ Így keletkezhet pl. deléció egy kromoszómán (14.7. ábra)

509/1/3. „hyperkoleszterinémia" ⇒ hiperkoleszterinémia

509/3/4. „…hemofilia B" ⇒ hemofília B

509/3/5. „… csonka IX. faktor" ⇒ … csonka IX-es véralvadási faktor

510/1/3 „… a génnek egy 5,5 kb-ra terjedő …" ⇒ a génnek egy 5,5 kbp-ra kiterjedő

510/1/5. „…valószínúség" ⇒ valószínűség

510/2/2. „hemofilia" ⇒ hemofília

510/2/2. „…VIII. faktort kódoló gén…" ⇒ VIII-as véralvadási faktort kódoló gén

512/2/4. „….kapcsolódhatnak másik fehérjéhez, nukleinsavhoz, vagy egyéb sejtalkotóhoz)" ⇒ **Utána betoldás:** ill. antigének epitópjai lehetnek.

513/14.29. „(l. a 16.30 ábra szövegét)" ⇒ (l. a 14.30 ábra szövegét)

514/14.30. „…fehérjékbne" ⇒ fehérjékben

515/3/7. „…véletlen." ⇒ véletlenül

515/5/.7 „ … reverz transzkrició" ⇒ …reverz transzkripció

519/(13)/5. „ékelőső" ⇒ ékelődő

15. FEJEZET

524/2/.1 „transz-formáció" ⇒ transzformáció

525/4/5. „…de kloramfenikollal gátolva a kromoszomális DNS replikációját a plazmidok felszaporíthatók, példányszámuk elérheti az ezret sejtenként." ⇒ **Utána betoldás:** (A kloramfenikol ugyanis gátolja a kromoszomális DNS replikációjához [ezen belül annak iniciációjához] szükséges fehérjék szintézisét. A plazmid-replikáció iniciációjához nem szükségesek *de novo* szintetizált fehérjék, ezért azt nem gátolja a kloramfenikol.)

526/3/7. „$F^- \times F^{c}$" ⇒ $F^- \times F^-$

532/1/6. „tífusz" ⇒ hastífusz

554/4/2. „lítikus" ⇒ litikus

555/2/5. „…katabolit represszió alatt…" ⇒ katabolit represszió hatása alatt

555/5/1-2. *Hfr leu*$^+$, *str*^{r} × F$^-$ *leu*$^-$, *str*^{r}. ⇒ *Hfr leu*$^+$, *str*^{s} × F$^-$ *leu*$^-$, *str*^{r}.

556/(5) kérdés. ⇒ **Kimarad!**

556/(10) kérdés. „Egy mutáció eredményeként a szekvenciában…" ⇒ Egy mutá-ció eredményeként a normál vezető régió szekvenciába a kövér betűvel nyomtatott **A** ékelődött be.

557/5 válasz. ⇒ **Kimarad!**

557/(8) válasz. „a./ represszor, cAMP+CAP, RNS polimeráz." ⇒ a./ represszor, CAP(+cAMP).

16. FEJEZET

560/lábj. „(*C-value paradox* = C-érték paradoxon)" ⇒ (*C-value paradox* = C-érték paradoxon, ahol a C a genom méretét jelenti)

565/1/10. „…and *splicing*)." ⇒ **Utána betoldás:** Az exonok egy-egy génnek gyakran csak szerény hányadát képezik, néhány jól kontrollált esetben nem több, mint 10%-át.

566/3/1. „***Az immunglobulinok génjei***nek kialakulásakor az egyed limfoid őssejteiben a DNS szekvenciák irányított, fajlagos rekombinációja megy végbe." ⇒ „***Az immunglobulinok génjei***nek kialakulásakor az egyed a B-, ill. T-limfocitáinak érése során a DNS szekvenciák irányított, fajlagos rekombinációja megy végbe.

571/1/5. „…végen ***5' sapka*** (*cap*)" ⇒ végen egy 7-metil guanozin csoport hozzákapcsolódása és további kémiai módosulások révén ***5' sapka*** képződik (*cap*)

572/1/1-3. „…a citoplazmában funkcionáló mRNS." ⇒ **Utána betoldás:** A magi RNS legnagyobb része pont a hnRNS molekulák átszabása során vágódiki ki és bomlik le.

574/1/2. „…*ribozyme*-nak nevezik…" ⇒ ribozimnak nevezik (*ribozyme*)

575/16.12. ábraszöveg. „nyeles perec" ⇒ lasszó

587/1/7. „szorítkozódhatk" ⇒ szorítkozódhatunk

588/1/2. „A 16.26. ábrán…" ⇒ A 16.25. ábrán

589/2/1-2. „Ismeretes, hogy az eukarióta kromoszómákban a DNS hurkokba rendeződve a ***scaffold***hoz, ill. a ***nukleáris matrix***hoz kapcsolódva található…" ⇒ Ismeretes, hogy az eukarióta DNS hurkokba rendeződve található, a

DUPLA

mitotikus kromo-szómákban a kromoszóma vázhoz (***scaffold***), ill. az interfázisban a ***nukleáris matrix***-hoz kapcsolódva

560/3/1. (és máshol is). „genomi rögzítés" ⇒ genomi bevéső dés

598/27 lábj./2. „…inakitáló…" ⇒ inaktiváló.

592/1/1. „Imprinting – genomi rögzítés" ⇒ Genomi bevéső dés – genomiális imprinting

601/4/3. „Prder" ⇒ Prader.

602/12/1. „…Milyen jelentőségük?" ⇒ Mi a jelentőségük?

604/1/1. „…a benne lévő exonoknak gyakorlatilag minden kombinációja szerint átszabásra kerülhet" ⇒ a benne lévő 4.–8. exonoknak gyakorlatilag minden kombi-nációja szerint átszabásra kerülhet

17. FEJEZET

609/2.lábj./1. „…az egyes protoonkogének jelölésére …" ⇒ az egyes celluláris onkogének jelölésére

611/1/5. „…tényezők jellege látszólag nagyon eltérő…" ⇒ tényezők jellege a régebbi tudományos szemléleti mód szerint látszólag nagyon eltérő

612/6/7. „Obligát *praecancerosis*ként…" ⇒ **Utána betoldás:** (olyan állapot, amelyben a daganat a szervezetben még nem mutatható ki, de annak megjelenése bizonyosra vehető)

613/4/4. „…immunglobulin gének kialakulásához…" ⇒ immunglobulin gének működő formáinak kialakulásához

613/4/9. „…mert az az antitest serkentő szekvenciáinak…" ⇒ mert az az immunglobulin gén serkentő szekvenciáinak

614/17.4./4. „…megy végbe reciprok transzlokáció" ⇒ **Utána betoldás:** [t(9;22)(q34;q11)].

621/4/1. „…mutált *erb* gén…" ⇒ mutált *erbB* gén

630/(6). „…a sejt rosszindulatú elfajulását." ⇒ **Utána betoldás:** Másrészt, a vírus valamelyik fehérjéje tumorszuppresszor hatású fehérjéhez kapcsolódhat és azt hatástalanítja.

18. FEJEZET

647/2/3. „…négy normál 2'-dezoxi-nukleotidot…" ⇒ „…négy normál 2' dezoxiribonukleozid-trifoszfátot

DUPress

647/2/4. „…normál dezoxi-nukleotid…" ⇒ normál dezoxiribonukleozid-trifoszfát

652/6/5. „…RNS-t hibridizálunk." ⇒ cDNS-t hibridizálunk.

662/18.13./16. „…példányban meglévő zöldre szenzitív …" ⇒ példányban meglévő, zöldre szenzitív

664/1/6. „…fenotípusos eltérést, v. tünetet,…" ⇒ fenotípusos eltérést v. tünetet,

665/1/4. „A SNP-ket…" ⇒ Az SNP-ket

665/4/3. „Amit ma polimorfizmusnak (SNP-nek)…" ⇒ Amit ma egyes nukleotidpárokra vonatkozó polimorfizmusnak (SNP-nek)

666/2/15. „…fragmentum hossz-polimorfizmus…" ⇒ fragmentumhossz polimorfizmus

667/1/2. „… a Huntington chorea (HC) autoszomális domináns génje egy RFLP-vel kapcsoltan helyezkedik el a 4. kromoszóma hosszú karjának vége közelében." ⇒ „… a Huntington chorea (HC) autoszomális domináns génje egy RFLP-vel kapcsoltan helyezkedik el a 4-es kromoszóma rövid karján (4p16).

668/2/5. „Előszöris…" ⇒ először is

668/2/6. „…ilyenkor a HC gént nem lehet kötni egyik kromoszómához sem." ⇒ **Utána betoldás:** (Ha a HC génnel rendelkező szülő homozigóta a polimorf markerre, akkor annak a kimutatása az utódban nem informál arról, hogy a leszármazott melyik allélt örökölte.)

669/3/1. „…révén sikerült klónozni…" ⇒ **Utána betoldás:** (kapcsolt DNS polimorfizmusok azonosítása révén)

669/3/3. „…a 4. kromoszóma rövid karján helyezkedik el,…" ⇒ a 4-es kromoszóma rövid karján (4p16) helyezkedik el

669/4/2. „triplet expanziós mutáció)" ⇒ triplet expanziós vagy dinamikus mutáció)

676/4/4. „…betegséget okozó génnel,…" ⇒ betegséget okozó vagy arra hajlamosító génnel,…

677/2/9. „…nélkülözhetetlen a sejtek szaporodásához." ⇒ nélkülözhetetlen a sejtek *in vitro* szaporodásához.

679/lábj. „Lesch-Hyhan" ⇒ Lesch-Nyhan

681/2/4. „…18.2. táblázatban láthatók." ⇒ **Utána betoldás:** (Vegyük észre, hogy mind a három $G8^+$ sejtvonalban benne van az emberi 4-es mellett a 17-es, 18-as és 21-es is, de ezek – egyesével – megvannak $G8^-$ vonalakban is.)

682/18.23. A (hosszú karon a) centromerhez az 1 van közelebb, nem a 2!

683/5/9. „…DNS digoxigeninnel és különböző fluoreszkáló kromoforokkal való jelölése is." ⇒ **Utána betoldás:** (A digoxigenin egy digitalis glikozid, amit

PUBLIC

úgy tudnak nukleotidokhoz kapcsolni, hogy nem zavarja a bázispárosodást. A jelölt DNS-t digoxigenin-elleni antitesttel lehet lokalizálni.)

686/4/5. „…tumor eredetű ún. …" ⇒ tumor eredetű, ill. *in vitro* transzformált, ún.

687/6/5. „memránján" ⇒ membránján

690/2/12. „…beépültek a kromoszómába." ⇒ beépültek egy kromoszómába.

693/42.lábj. „Gazdasádi" ⇒ Gazdasági

696/1/1. „A több mint 3000 örökletes emberi betegség közül …" ⇒ **Utána betoldás:** Az OMIM adatbázisban jelenleg már több mint 10 000 mendeli jelleget találunk felsorolva, de ezek nem mind kórosak. A hajlamosító génikus tényezők is ebbe a körbe tartoznak, nem csak a manifeszt monolokuszos betegségek, ill. rendellenességek. Közülük… (folyt.: csak…)

696/1/3. „pathofiziológiájának" ⇒ patofiziológiájának

697/3/1. „…***gén-augmentációs terápia*** (GAT)." ⇒ ***gén-augmentációs terápia*** (GAT; augmentáció: nagyobbítás, növelés).

698/2/2. „…Az emésztőmirigyek valamint a légutak hámja abnormálisan sűrű váladékot termel,…" ⇒ Az emésztőrendszer és a légutak exokrin mirigyei abnormálisan sűrű váladékot termelnek (l. 5. fejezet),

699/4/1. „glioblasoma" ⇒ glioblastoma

700/8/3. „terminálására" ⇒ félbeszakítására

701/5/2. „inszertmérettel" ⇒ beépített DNS mérettel

701/7/1. „…Southern blot során…" ⇒ Southern blotting során

701/7/5. „…ami valószínűleg közel azonos gének közötti egyenlőtlen crossing over következménye" ⇒ ami valószínűleg a közel azonos zöld- és vörösérzékeny pigmentet kódoló gének közötti egyenlőtlen crossing over következménye.

701/8/2. „Azt az SNP-t amely megszüntet egy restrikciós hasítóhelyet, restrikciós fragmentum-hossz polimorfizmusnak (RFLP) nevezzük." ⇒ Azt az SNP-t amely megszüntet vagy létrehoz egy restrikciós hasítóhelyet, restrikciós fragmentum-hossz polimorfizmusnak (RFLP) nevezzük.

702/7/1. „A sejtbe történő…" ⇒ Az eukarióta sejtbe történő

703/4/1. „…kezelési stratégiákat foglalja magában, melyek során géneket…" ⇒ kezelési stratégiákat foglalja magában, melyek alapján géneket

703/4/6. „…bejuttatása a sejtbe" ⇒ bejuttatása a sejtekbe

706/(2). $4^6 = 4096$ bp. ⇒ **Utána betoldás:** (A DNS szálban ugyanis minden nukleotid ¼ valószínűséggel fordul elő egy adott helyen. Egy dinukleotid 1/16

($1/4^2$), egy tetranukleotid $1/4^4$, egy hexanukleotid $1/4^6$ valószínűséggel., tehát 16, 256, ill. 4096 bázisonként egyszer.)

706/(3). 4^4 = 256 bp, ill. 4^8 = 65536 bp. ⇒ **Utána betoldás:** (A megoldás logikája azonos az előzővel.)

19. FEJEZET FIGYELEM:

710/3/6. (és máshol is). „(l. Biometria jegyzet)" ⇒ (l. 2. fejezet)

712/3/6. „...arányát.½" ⇒ arányát.

712/4/8. „$f(Hb^A)=f(Hb^A Hb^A) + "(Hb^A Hb^S) + "f(Hb^A Hb^C) \Rightarrow$
$f(Hb^A)=f(Hb^A Hb^A)+½(Hb^A Hb^S)+½f(Hb^A Hb^C)$

714/4/4. „Az arányoknak ezt az időbeli állandóságát nevezzük a ***génösszetétel egyensúlyá***nak." ⇒ Az arányoknak ezt az időbeli állandósága jelenti a ***génösszetétel egyensúlyát***. Az allélgyakoriságok változatlansága a Hardy-Weinberg egyenletekből következik, és ezt nevezzük Hardy-Weinberg törvénynek"

718/1/1. „...néhány emberi populációkban is..." ⇒ néhány, emberi populációkban is

718/2/2. „$1:10^6$" ⇒ $1/10^6$

730/(9). „Humán populációkban a férfiaknak..." ⇒ **A kérdés kimarad.**

733/(8). „...1,98%." ⇒ **Utána betoldás:** Csak a Hardy-Weinberg egyenletek segítségével számolható ki az így kapott eredmény.

733/(9). ⇒ **Kimarad.**

731/6/2. „(R.)" ⇒ (R-)

732(3). „...c/ 18/99 ≈ 18%" ⇒ **Utána betoldás:** (Az eredmények kiszámolásához a következő gondolatmenetet használtuk: $F(Rh^+) = p^2+2pq = 0,99$; $F(Rh^-) = q^2 = 0,01$. A házasságok: $Rh^+ \times Rh^+ + 2\ Rh^+ \times Rh^- \times Rh^-$ stb.

733/(10) „...$1-q^2 = 0,84 = 84\%$." ⇒ **Utána betoldás:** Férfiak esetén: p+q = 1,. azaz az allélgyakorisággal egyezik a betegek gyakorisága. Nők esetében, mivel két X kromoszómájuk van, a másodfokú egyenlet írja le a genotípusok gyakoriságát, azaz a $p^2 + 2pq + q^2 = 1$ formulát kell alkalmazni!

20. FEJEZET

736/3/9. „...multban szüleinknek több őse is közös kellett legyen." ⇒ múltban több ősünk is közös kellett legyen, apánk és anyánk is rokonok.

742/1/4. „...hatások jeletkeznek. (Ne feledkezzünk meg..." ⇒ hatások jelentkeznek. Ne feledkezzünk meg

DuPress

745/6/5. „...adja a koefficienst:..." ⇒ adják a beltenyészettségi koefficienst:

746/1/1.

$f = \sum_{i} (1/2)^n \quad \Rightarrow \quad f = \sum_{i} (½)_i^n$

747/2/5. „q=(1/500)^2" ⇒ ...q^2 = (1/500)^2

753/2/3. „...egyike) célzottan..." ⇒ egyike), célzottan

759/2/2. „parenteral isonymy" ⇒ parental isonymy

761/1/3. „f=Σi(1/2)ni" ⇒ lásd 746/1/1.

765/(5)/4. „...= (1/2)4..." ⇒ 1/2 x 1/2 x 1/4

765/(6)/2. „allapot" ⇒ állapot.

766/1/ „...halmozódnak a homozigóták." ⇒ **Utána betoldás:** Ámisoknál f(c)=5,37•10^{-3}, első unokatestvéreknél f(c)=9,62•10^{-3}, növekedés csak kb. 1,8x-os!

21. FEJEZET

769/(6). „...mennyire közeli. ⇒ **Utána betoldás:** Nagy mértékben egyeznek a biokémiai folyamatok is.

769/4/. „...útján megy végbe." ⇒ **Utána betoldás:** (1948 után a Szovjetúnióban hivatalosan az egyedül helyes tudományos álláspont rangjára emelték Liszenkó tanait, aki tagadta a gének létezését és ezzel a darwinizmus lényegét. Liszenkó neo-lamarckista módon az élet során szerzett tulajdonságok öröklődésével próbálta magyarázni az evolúciót.)

770/1/9. „...egyik fehérjét a másikról sem lehet másolni." ⇒ **Utána betoldás:** (Az információ átadás szempontjából érdekes paradoxont képviselnek a prionok, ill. az általuk okozott Creutzfeldt-Jakob kór, l. 2. fejezet).

772/1/1. „...***DNS javító rendszerek*** által létrehozott szekvencia változások stb." ⇒ ***DNS javító rendszerek*** által létrehozott szekvencia változások stb., l. 13. és 14. fejezet).

773/3/3-5. „... $(A_1 \rightarrow A_2)$" ⇒ $(A_2 \rightarrow A_1)$.

775/4/2. „...az eredeti (normális) allél..." ⇒ az eredeti (normális, vad típusú) allél

777/1/3. „...gyermek korában belehal." ⇒ gyermek korában belehal a génhiba következményeibe.

DUPress

779/3/8. „...örökletes elváltozások, betegségek (l. McKusick 1988-ban megjelent katalógusát)..." ⇒ örökletes elváltozások, betegségek (l. McKusick katalógusát, vagy a www.ncbi.nlm.nih.gov/omim internetes címet)

782/2/7-8. „Figyelembe véve génjeink nagy számát (25 000–125 000 körülire szokták becsülni, a ma leginkább elfogadott szám kb. 100 000)," ⇒ Génjeink számát figyelembe véve (kb. 25 000),

782/2/10. „...az ún. dinamikus mutációk..." ⇒ az ún. dinamikus [triplet expanziós] mutációk

783/1/11. „...koromtól fekete kérgű nyírfáinak hatása a lepkék evolúciójára:..." ⇒ koromtól fekete kérgű nyírfáinak hatása a lepkék populációjára:

784/3/7. „...a terhesség létrejötte is észrevétlen marad." ⇒ a megtermékenyülés is észrevétlen marad.

789/4/3. „...biokémiai módszerrel végezhető szűrés segítheti)." ⇒ molekuláris genetikai módszerrel végezhető szűrés segítheti, amilyen pl. a DNS chip technika, l. 18. fejezet).

791/3/8-11. „(Ezek az adatok a heterozigótákhoz viszonyítva értendők.) ⇒ **A mondat kimarad!**

792/2/4. „Haldene" ⇒ Haldane!

794/3/5. „...vidékeiről az Egyesült Államokba vitt feketék..." ⇒ vidékeiről rab-szolgaként Észak-Amerikába hurcolt feketék

795/6/2. „Fülöp-szigetiek" ⇒ Fülöp-szigetekiek.

796/3/4. „az Egyesült Államokba" ⇒ Észak-Amerikába.

796/21.3./1. „A HbS allélt hordozó három különböző kromoszóma eredete..." ⇒ A HbS allélt eredményező három független mutáció eredete

797/6/7. „...mutáns allél Ázsiában valahol a Szaud-Arábia és India közötti területen történt." ⇒ mutáns allél Ázsiában valahol a Szaud-Arábia és India közötti jött létre.

798/lábj. „elkülönülésé" ⇒ elkülönülését.

800/2/7. „...szelekciós előnyt ad hordozójának. Ez esetben..." ⇒ szelekciós előnyt ad hordozójának, ez esetben

802/1/3. „...ha két vagy több olyan allél" ⇒ ha kettőnél több olyan allél

805/4/. „...ez mintegy intézményesíti a különböző DNS szekvencia változásokat. " ⇒ amikor szükségképpen bekövetkezik a DNS szekvenciák változása.

805/8/2. „Tanúságos" ⇒ tanulságos.

809/21.6. „Spanyol baszkok" ⇒ Spanyolországi baszkok

812/1/1. „Az emberi géneknek kb. egyharmada polimorf" ⇒ Az emberi genetikai lokuszoknak kb. egyharmada polimorf

Dunres

812/1/6. „...néhány száz bázispáronként találhatunk 1 bázispárnyi különbséget" ⇒ kb. 1000 bázispáronként találhatunk 1 bázispárnyi különbséget

813/2/2. „...egyik szülőben sem mutatható ki." ⇒ egyik szülőben (és annak felmenőiben) sem mutatható ki.

813/8/3. „Jelentőségét az evolúcióban az 1930-as évektől feltételezik és vitatják. " ⇒ **Kiamarad.**

814/4/3. „...mint normális gyermek esetén" ⇒ mint nem-törpe gyermek esetén

814/5/4. „Nagyobbnak kisebbnek adódik a valóságnál?" ⇒ Nagyobbnak vagy kisebbnek adódik a valóságosnál?

815/3/1. „...egy populációban a allél relatív gyakorisága 0,1 annak ellenére, hogy aa genotípus letális hatású..." ⇒ egy populációban az *a* allél relatív gyakorisága 0,1 annak ellenére, hogy az *aa* genotípus letális hatású.

22. FEJEZET

822/3/4. „...véve (l. ....fejezet)...." ⇒ ...véve (l. 16. fejezet)...

823/2/1. „A gének fent említett korlátozott száma..." ⇒ **A bekezdés cseréje:** A gének fent említett korlátozott száma új megfontolásokra késztette a kutatókat a poligénes rendszerekre vonatkozóan is. Ha minden ilyen jelleg hátterében átlagosan csak 20-30 lokuszt tételeznénk is fel, ami annak és csak annak a génikus determinánsa, máris feloldhatatlan ellentmondásba keverednénk. A megoldást a QTL (quantitative trait locus) fogalmának bevezetése, és a géntunkció ilyen értelmű kiterjesztése jelentette (l. 9. és 18. fejezet). A genom modern (a proteomikára is tekintő) szemlélete azt sugallja, hogy nem sok olyan génünk lehet, ami ne lenne pleiotróp hatású.

825/2/2. „...http://www.nlm.nih.gov/..." ⇒
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/

836/21.1. „Omnion űr, ⇒ Amnion űr!

838/22.2. „omnion űr, ⇒ amnion űr!

DUPress