

# POPULÁCIÓGENOMIKA

## Kapocs az evolúció és az orvosi genetika között

Raskó István

MTA SZBK Genetikai Intézet – rasko@nucleus.szbk.u-szeged.hu

2000 közepén Arany Sas törzsfőnök, az Egyesült Államok egyik mohikán indián közösségének tagja DNS tesztekkel kívánta bizonyítani indián származását és jogát Ellis sziget birtoklására (ősei jogán), ahol kaszinót kívánt építeni. Létezik-e *indiángén*, lehet-e humán populációk között genetikai szintű különbségeket találni, hozott-e a Humán Genom Program valamilyen nem várt eredményt ezen a téren, és milyen fejlemények várhatók a jövőben? Ezekkel a kérdésekkel foglalkozik ez az összeállítás.

Mielőtt a populációgenomika jelenlegi helyzetét és az itt kapott eredmények orvosi jelentőségét tárgyalnánk, fussunk át néhány érdekes tényen. Hanka és Ludwik Herschfeld 1919-ben, a Lancetben közzétették a különböző „rasszok” közötti szerológiai különbségeket leíró tanulmányukat, a macedón hadszíntéren harcoló katonák körében végzett kutatásaik eredményeként. Azt találták, hogy míg az A vércsoport inkább az Európából származó katonáknál fordult elő, addig a B vércsoport az indiai hadseregben volt igen gyakori. Munkájuk eredményeként azt a konklúziót lehetett levonni, hogy azok a népcsoportok, amelyek hasonló vércsoport-összetételűek, valószínűleg közös evolúciós történettel bírnak. Herschfeldék furcsa dolgokat is találtak, például a vércsoport-megoszlás a madagaszkári és az orosz katonák között majdnem azonos volt, s ez – ha következtetések akarunk lenni – azt suggerálja, hogy valamikor volt a történészek által egy eddig nem ismert orosz invázió

Madagaszkáron, vagy malagasy invázió Oroszországban, és innen a genetikai rokonság. Természetesen ez így nem lehet igaz. Ami történt, az a vizsgálatra használt egyetlen genetikai rendszerből következett, így némi következtetésük helyes volt, mások tévesek. Ha több gén előfordulási gyakoriságát hasonlítják össze, akkor nem történt volna meg „Oroszország madagaszkári inváziója”, de a többféle genetikai variáció összehasonlításával is csak egyetlen következtetés vonható le: azok a populációk, amelyek egymáshoz hasonló génfrekvenciákkal rendelkeznek, valószínűleg rokonságban vannak egymással. A gének szintjén kimutatható különbözőségeknek vagy polimorfizmusoknak a mértéke genetikai történetünk, rokonsági fokunk genetikai ujjlenyomataként” szolgál. Miután a populációk szétválása genetikai differenciációval kísért, a genetikai különbségek mintázatát az evolúció rekonstrukciójára használhatjuk. A genetikai távoltság és rokonság alapján származási fák rajzolhatók, ahol a populációk a fa különböző „ágára” térképezhetők. Kérdés azonban, hogy mit tekintünk populációnak. Ahogy az előzőekben láttuk, nemzeti, kulturális, nyelvi alapon azonosított populációk az ilyen evolúciós fák alkotásánál nem igazán alkalmazhatók. 1987-ben áttörést jelentett egy, Wilson, Cann és Stoneking által jegyzett *Nature*-cikk. Itt nem nemzeti alapon elkülönült populációk, hanem a világ különböző földrajzi régióiból származó egyének elhelyezése történik az evolúciós fán, mitokondriális

DNS-ük polimorfikus szerkezete alapján. Az evolúciós fa nagy ágain található egyének általában azonos földrészről származnak, de vannak kivételek, amikor afrikai vagy ázsiai európaiakkal áll közelebbi rokonságban, és fordítva. Ez alátámasztja azt a tényt, hogy a biológiai evolúció nem populációk szintjén, kultúrális, nyelvi alapokon, hanem individuálisan következett be. A mitokondriális származási fa azt is mutatja, hogy valamennyi, a föld felszínén jelenleg élő emberfajta egyetlen afrikai őshöz vezethető vissza, aki mintegy 150 000 évvel ezelőtt élt. Ezt a számot úgy kapjuk meg, hogy ha a mitokondriális genom mutációs rátáját „evolúciós molekuláris óráként” használjuk. Az emberiség eredetének „out of Africa” hipotézise mellett egyesek azt feltételezik, hogy a modern emberfajta a világ különböző részein egymással párhuzamosan alakultak ki, ez a multi-regionális fejlődési hipotézis. A modern emberek afrikai származását támasztja alá az a tény, hogy a teljes mitokondriális DNS-szekvencia adatai alapján végzett vizsgálatok szerint egyes afrikaiak közelebb állnak az európaiakhoz és az ázsiaiakhoz, mint egyéb afrikaiakhoz. Ezt támasztják alá egyéb genetikai bélyegek vizsgálatai is. Ezek szerint az afrikaiak és nem afrikaiak szétválása 50-80 000 évvel ezelőtt következett be, más adatok szerint ez 100 000 évvel ezelőttre tehető. Genetikai adatok szerint a modern, nem afrikai népcsoportok mintegy 10 000 afrikai származású egyéntől eredeztethetők.

Honnan származnak az európai populációk génjei? A *Homo sapiens sapiens* 40 000 évvel ezelőtti, európai jelenléte már paleontológiai adatokkal bizonyított. De az európai népesség génkészletének milyen frakciója származhat ezektől a korai telepelektől és mennyi a későbbi bevándorlóktól? A régi populációk folyamatainak megértéséhez a jelen genetikai variációk mintázatának analízisével, értelmezésével is eljuthatunk. Európa genetikai diverzitása valószí-

nűleg tükrözi az archeológiai adatokkal is alátámasztott, első benépesedést a paleolitikumban, kb. 40 000 évvel ezelőtt, a jégkorszak utáni populáció-robbanást és a neolitikumban bekövetkezett, Közel-Keletről történő populáció-áramlást a földművelés elterjedésével egy időben, K.e. 10 000-ben (ez azt is jelenti, hogy a földművelés a Közel-Keletről Európa többi részébe populációk mozgásával és nem a kultúrális érintkezéssel terjedt el).

A régi és mai populációk rokonsági viszonyai megértésének, a régi populációk mozgása meghatározásának módszere lehet a régi és a mai populációk genetikai jellegzetességeinek összevetése. Erre a kutatóknak csak az utóbbi időben nyílt lehetőségük. Szerencsére őseink nemcsak építészeti, művészeti emlékeket és egyéb tárgyakat hagytak ránk, hanem génjeiket is, mégpedig nem csak örökített formában, hanem ténylegesen, az ásatásokkal feltárt csontokból kinyerhető DNS formájában. Ezt a dezoxiribonukleinsavat archaikus DNS-nek (*aDNA*) nevezzük. Azt a tényt, hogy a DNS megőrzi szerkezetét a régi biológiai leletekben is az a kísérlet bizonyította, amelyben az argentinai Santa Rosa de Tastil mellett végzett ásatási területen talált, mintegy 550 éves *Canna compacta* magot sikeresen kikeltették. Az intakt DNS létét emlísmaradványokban Higuchi és Wilson közleménye bizonyította 1984-ben, amikor egy 140 éves, múzeumban őrzött, kipusztult lófajta, a quagga bőréből rövid mitokondriális DNS szakaszt izoláltak, és ennek segítségével ezt az állatot a lovak és zebrák filogenetikai fáján elhelyezték. Nemsokkal ezután az uppsalai egyetemről Pääbo egy egyiptomi fiatalember 2400 éves múmiájából izolált DNS-t. Bár mindkét közlemény jelentős érdeklődést keltett, azokat inkább kuriózumként kezelték, mindaddig, míg 1985-ben Kary Mullis nem közölte zseniális találmányát, a polimeráz láncreakció technikáját. Az eljárás segítségével ugyanis

mód nyílik eredetileg kis mennyiségű DNS szakaszok felszaporítására és a keletkezett termék közvetlen szekvenálására, az összetételét meghatározó DNS bázisok sorrendjének megállapítására. Ennek a technikának az alkalmazásával ezután három közlemény is megjelent sikeres *aDNS* preparálásról; egy 7000 éves, tözegen megőrzött emberi agyból, egy 4000 éves múmia májából és a már kipusztult erszéyes farkas bőréből. A közlemények igazán a 90-es évek elejétől szaporodtak meg, amikor is nyilvánvalóvá vált, hogy a DNS nemcsak extrém körülmények között (múzeumban tárolt múmiákban, állatbőrökben vagy tözegen talált emberi maradványokban) maradhat meg, hanem gyakorlatilag minden biológiai maradványban. A genetika egy új ága született meg: a régészeti genetika.

Populációk rokonsági viszonyainak meghatározásánál *aDNS* esetében vagy az anyai öröklődést mutató mitokondriális DNS markereket, vagy az apai öröklődésű Y kromoszómális szakaszokat alkalmazzák.

A mitokondrium az eukarióták sejtjeibe valamikor az ősidőkben bekerült baktérium „kövülete”. Sejtenként átlagosan néhány ezer példányban fordul el. Önálló genommal rendelkezik, mérete az ember esetén 16 569 bázispár, amely egy átlagos humán kromoszómának csak mintegy 1/8000 része. A sejtenkénti nagy mitokondriumszám miatt mégis a sejt összes DNS mennyiségének mintegy 0,5-1,0 %-át jelenti. A genomja kettszálú, kör alakú molekula, amelynek két láncát (H és L) a guanin ill. a citozin tartalmuk alapján választják el. A mitokondrium genomjának 93 %-a kódoló szekvencia, kevés ismétlődést tartalmaz, csak nagyon rövid intronokat találunk benne. 37 gént hordoz, kb. 450 bázispár jut egy génre.

A két lánc átíródása és transzkripciója mind térben, mind időben elkülönülő folyamat. A leghosszabb, mintegy 1200 bázispáros, nem kódoló szakasz – az ún. D-loop régió

– a H lánc átíródási kezdőpontjának közelében található. Ezen a területen a H lánc replikációja során átmeneti hármas szálú struktúra jön létre, és az így egyszálúvá vált régi H lánc ki van téve a mitokondrium oxidoredukciós tevékenysége eredményeképpen nagy mennyiségben jelenlévő oxigén szabadgyökök – elsősorban pontmutációt okozó – hatásának.

A mitokondriális genomhoz nem kapcsolódnak sem hisztonok, sem más fehérjék, amelyek védelmet nyújtanának a DNS-t érő mutagén hatások ellen. Nincs jelen a mitokondriumban excíziós reparációs rendszer sem, amely lehetővé tenné a bekövetkezett pontmutációk kijavítását. A mitokondrium anyai ágon öröklődik, az anyai öröklődési menetet mutató mitokondriális DNS-t tekintve a legközelebbi rokonságban a testvérek állnak egymással, míg az anya és az ő mitokondriális DNS-ük között csupán egy nemzedéknyi mutációs különbség van.

A mitokondriumok öröklődése során nem játszódik le rekombináció (vagy csak igen-igen ritkán). Ez különösen alkalmassá teszi az anyai öröklődési vonalak nyomon követésére. Ha a mitokondriális mutáció kódoló régiót érint, súlyos, nemegyszer halálos betegségek fejlődhetnek ki az érintettekben, és ezáltal az ilyen mutációk a populációkból elvesznek. Ha a mutáció nem kódoló, genetikailag közönbös szakaszt érint, akkor az nem szelektálódik ki, és új mitokondriális DNS polimorfizmusként mutatható ki az utódokban. A populációban megtalálható legtöbb ilyen polimorfikus mutáció nagyon régen keletkezett és homoplazmiát mutat, azaz minden sejtben egyforma típusú polimorfizmust hordozó mitokondrium található. A nem kódoló, D-loop szakaszon bekövetkező mutációk gyorsan rögzülhetnek a genomban illetve a populációban, hiszen erre a régióra evolúciós, szelekciós nyomás nem nehezedik. Ennek eredményeképpen a mitokondriális D-loop szakaszra

jellemző mutációs ráta a nukleáris genom átlagos mutációs rátájának több mint tízszerese. Ezért ez használható az előzőekben már említett molekuláris evolúciós óráként is. A mitokondriális D-loop szekvencia analízise tehát lehetőséget nyújt a populációk genetikai eredetének vizsgálatára.

Az Y kromoszóma-markerek vizsgálatának populációgenetikai célja a mai Y kromoszómák evolúciós fájának megszerkesztése, ill. a különböző populációkban előforduló különböző Y kromoszómák frekvenciájának meghatározása. Rokon populációk hasonló frekvenciákat, az egymással nem rokon népségek lényegesen eltérő Y kromoszómás mintázatot mutatnak, ahogy ezt az előzőekben más genetikai jellegzetességek kapcsán is említettük. Hasonlóan a mitokondriális DNS-hez, az Y kromoszómának az a szakasza, amely a populációgenetikai vizsgálatokban használatos, a meiosis során nem rekombinálódik (szemben a szintén Y kromoszómális pszeudoautoszomális szakasszal). A PCR vizsgálatokhoz mini- és mikrosatellita ismétlődéseket alkalmaznak, amelyek nagy polimorfizmust mutatnak egy populáción belül (a mini- és mikrosatelliták a genomban véletlenszerűen előforduló bázisismétlődések). Az *aDNS* vizsgálata esetén problémát jelenthet, hogy szemben a mtDNS-sel, a kópiaszám a mintákban alacsony, miután csak egyetlen Y kromoszóma található a férfiak minden egyes sejtjében.

A molekuláris genetikai eredmények teljesebbé teszik a régészeti leletek eredményeit, amikor egy temetkezési helyen talált csontok vizsgálatával megadható az egyének rokonsági viszonya, két egymástól távolabbi ásatásnál talált leletekből meghatározható az ott élő populációk rokonsági foka. Erre pedig kizárólag a molekuláris genetikai vizsgálatok képesek! A molekuláris genetikában azonban a legnagyobb segítséget az egyes népek vándorlási útvonalának azonosításában adja. Segítségével megadható

egy népek származási fája, genetikai rokonsági viszonya. Ezek a vizsgálatok tisztázták a prehisztórikus Japán betelepülésének történetét, az Óceániai szigetek népeinek eredetét, vagy az Újvilág humángenetikai történetét.

A humán genom első piszkozati példányának elkészültével már számos olyan következtetés nyert bizonyítást, amelyre a kutatóknak más genetikai forrásokból is voltak információik. Kiderült, hogy a genom szintű eltérés az egyes emberek között kisebb, mint pl. az emberszabású majmokban. Két ember között 0,2-0,4 százalékos eltérés lehet a genom szintjén – ez sokkal kisebb, mint két csimpánz közötti eltérés. Az eddig rendelkezésre álló adatok szerint egy csimpánz genom csak 1 %-ban tér el egy emberi genomtól. Ebben az 1 %-ban keresendő tehát az a genetikai jellegzetességünk, amely elkülönít bennünket az összes többi állattól.

Megállapították, hogy az emberi genomban véletlenszerűen előforduló, a nukleinsav bázisok szekvenciája szintjén megnyilvánuló eltérések, az ún. egyetlen nukleinsav bázis polimorfizmusok (SNP), mintegy minden ötszázadik bázisnál fordulnak elő. Ugyanakkor génjeink nagy része evolúciósan konzerválódott, például 10 %-uk hasonló az ecetmuslicáéhoz. Egyébként az emberi genom által meghatározott 1278 fehérjecsald közül csak 94 jellemző a gerincesekre, az összes többi hasonló az egyéb élőlényben megtalálható, főként az alapvető sejtműködésben szerepet játszó fehérjékhez. Ez is molekuláris bizonyítékkal támasztja alá a darwini evolúciós elmélet igazát. A Humán Genom Program új lehetőségeket nyitott fajunk genetikai variációinak elemzésében. Ma már képesek vagyunk egész genomális szakaszok összehasonlítására. Mivel a genetikai komponensű betegségek kialakulásáért felelős génhibák genetikai variációkként is értelmezhetők, nyilvánvalóan ezen variációk alapját képező evolúciós folyamatok megértése

esszenciális a komplex betegségek kialakulásáért felelős gének azonosításában.

Vannak olyan emberi tulajdonságok, amelyek földrajzi kapcsoltságot mutatnak. Ezek a tulajdonságok általában környezeti szelekciós hatásokra alakultak ki és maradtak fenn a különböző populációkban. Néhány ilyen tulajdonság genetikai háttere már ismert. Bár a bőr pigmentáltságát több gén szabályozza, megállapították, hogy az angoloknál és az íreknél megfigyelhető fehér bőr és vörös haj kapcsolatban van egy hormon receptor (melanocita stimuláló hormon receptor) génjének egyik variációjával. Az afrikai lakosság ennek a génnek egy ősi variánsát hordozza.

Földrajzi tagozódást mutat a tej alapú táplálékok emésztésének képessége is. Az Európából származó embereknel a laktóz tolerancia (az a képesség, hogy felnőtt korban is képesek a tejet megemészteni) a normális állapot. Azonban a világ teljes népességének 70 %-ánál a laktóz intolerancia a normális állapot. Mindenki képes a tej emésztésére kb. ötéves korig (egyébként nem tudnánk anyatejjel táplálkozni), de azután a felnőtté válás során a legtöbb ember ezt a képességét elveszti. Azok, akiknél a laktóz tolerancia megmarad általában olyan populációkból származnak, amelyeknél az évezredek során a tejtermékek adták táplálékuk nagyobb részét. A legtöbb ilyen csoport európai volt.

A különböző populációk genetikai variációinak megismerése a populációk szintjén megmutatókozó eltérő betegség-hajlam megértéséhez vezet. Érdekes a sarlósejtes anémiát okozó mutáció szelekciós előnye. Egy kenyai származású kutató ismerte fel, hogy a betegség előfordulása kapcsolatba hozható a malária elterjedésével. Ahol a malária előfordult, azokban régiókban volt sarlósejtes anémia is. Az ismert, hogy ez a súlyos betegség azoknál jelentkezik, akik két példányban hordozzák a mutáns gént (homozi-

góták). A betegség tüneteit nem mutató, csak egyetlen hibást gént hordozó heterozigóták ellenállóak a maláriafertőzéssel szemben. Ez a tulajdonság megmaradt a rabszolgáként az Egyesült Államokba hurcolt feketék utódaiban is, bár ott nincs malária, de a betegség még jelentkezik. Az utódok tehát súlyos árat fizetnek az ősök kedvező rezisztenciájáért. Miután a maláriát okozó szúnyogok az Egyesült Államokban nem fordulnak elő, és a betegségre hajlamosító mutáció tesztelése folyamatban van, hosszú távon az várható, hogy ez a mutáció eltűnik a populációból.

Hasonló kapcsolat létezik a cisztás fibrózis és a tífuszfertőzéssel szembeni rezisztencia között is. A cisztás fibrózis, amely az esetek egy részében igen súlyos, halálos genetikai betegség, hasonlóan a sarlósejtes anémiához, csak a homozigótákban okoz tüneteket, azoknál tehát, akik mindkét kóroki génben mutációt hordoznak. A cisztás fibrózist okozó mutáció az európai lakosságnál gyakrabban fordul elő, mint az ázsiaiaknál. A mutáció európai elterjedését elősegíthették a középkori európai nagyvárosok ismétlődő tífuszjárványai, mivel a mutációt hordozó, tünetmentes heterozigóták ellenállóak a tífusszal szemben. A tífuszt okozó salmonella baktérium ugyanis a gén vad típusát használja a fertőzés kialakításához.

A CCR5 egyes immunsejtek felszínén található kemokin jelátviteli molekulákat kötő receptor. Ez a kölcsönhatás az immunsejtek aktivációját és a sejteknek a gyulladással helyekhez történő migrációját eredményezi. Az AIDS okozója, a HIV vírus az immunsejtekbe jutásához ezt a receptort is bitorolja. Mivel a receptornak vannak mutáns formái is, a mutációt homozigóta formában hordozóknál HIV rezisztencia fordul elő (jelenleg egyetlen homozigóta személyről tudnak, aki HIV pozitív). A mutációra nézve az európai populáció 1 %-a homozigóta, 10-20 %-a heterozigóta. Ázsiaiaknál és afrikaiaknál a mutációt eddig nem tudták kimutatni. A mutá-

ció európai elterjedését magyarázhatja az a tény, hogy ez védettséget biztosít a pestisfertőzéssel szemben. Valószínűleg a mintegy hétszáz évvel ezelőtt pusztító nagy járvány túlélői adták tovább ezt a tulajdonságot, amely az AIDS járvány megjelenésével új értelmet kapott.

A klasszikus vércsoportok „védő hatása” régen ismert. Kiderült ugyanis, hogy a különböző vércsoportú egyének eltérően érzékenyek a kolerafertőzésre. A 0-s vércsoportúak a legérzékenyebbek, míg az AB-s vércsoportúak a leginkább immunisak (persze nekik sem ajánlott a Gangesz vizét inni). A 0-s vércsoportnak is van előnye, bizonyos védelmet nyújt a maláriás és a szifilisz fertőzések ellen.

Érdekes az Alzheimer kórra és érelmeszesedésre hajlamosító apolipoprotein genetikai variánsok populációs megoszlása. Ennek a génnek fontos szerepe van a koleszterin anyagcserében. Az egyik genetikai variáns, az APO E 4 hajlamosít mind Alzheimer kórra, mind korai infarktusra. Ennek a variánsnak háromszorosa az előfordulási gyakorisága a svédeknel és finneknél, mint az olaszoknál. Nagyjából hasonló a koronária betegségek megoszlása is. Ez a variáns európaiaknál átlag 30 %-ban, keleti népeknél 15 %-ban, feketéknél 40-50 %-ban fordul elő. Ez valószínűleg az évezredek alatt kialakult étkezési szokások miatt van így. Azok a népcsoportok, amelyeknél magas arányban fordulnak elő a hordozók, történetük során zsirszegény étrenden éltek, ezért ha ők európai, vagy amerikai szokásoknak megfelelően elkészített táplálékot fogyasztanak (pl. hamburgert sült krumplicsal), megnő a valószínűsége annak, hogy korai szívinfarktust kapnak.

A Humán Genom Program eredményeként szervezett formában indult meg a genetikai különbözőségek kilakításában résztvevő, egyetlen nukleinsav bázis polimorfizmus (SNP) formájában jelentkező eltérések azonosítása, miután az SNP-k génen belül is megtalálhatók, génspecifikus jelként használhatók és laboratóriumi robotokkal tipizálhatók.

Az így azonosított genetikai markerek a populáció szintjén alkalmazhatóak arra, hogy megállapítsák az asszociációs fokukat a gyakran előforduló, komplex multifaktoriális betegségekkel. Így meg lehet állapítani egy populáció fogékonyosságát egy adott kórképre nézve. Hasonlóan igen hasznos, és a gyógyításban is alkalmazható információ lehet a bizonyos betegségekkel szembeni, populáció-szintű rezisztencia genetikai okainak megfejtése. Ilyen céllal nemzeti programok indultak Izlandon, Észtországban és Angliában. A programok ellenzői szerint a legnagyobb veszély az azonosított gének kommerciális felhasználása, az egyének genetikai identitásának sérülése. Az ellenzők azt is felvetik (joggal), hogy ún. tiszta populációk csak elvétve találhatók a Földön, és a nyert adatok antropológiai szempontból használhatatlanok lesznek.

Végül: létezik-e a bevezetőben említett „indián gén”? Mint ahogy nem létezik „magyar gén”, úgy nincs „indián gén” sem. Van olyan genetikai variációk, amelyek bizonyos népcsoportoknál gyakrabban fordulnak elő, és szerencsétlen esetben ezek betegség-hajlammal is járnak, általában azonban a genetikai diverzitás emberi fajunk, minden egyes ember egyediségének a meghatározója.