

## ÚJ TECHNIKÁK A HUMÁN VARIÁCIÓK NEM ÚJ KELETŰ TANULMÁNYOZÁSÁRA

Charles Susanne<sup>1</sup> és B. Bodzsár Éva<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Vrije Universiteit Brussel, Laboratorium Antropogenetica, Brussel, Belgium

<sup>2</sup> Eötvös Loránd Tudományegyetem, Embertani Tanszék, Budapest

*Susanne, C. and Bodzsár, É.B.: New techniques for the not recent study of human variation. The (technical, moral and ethical) problems inherent to the development of new bioengineering techniques especially relevant to the human genome are briefly outlined and attention is drawn to the experts' and laymen's responsibility in facing and answering them.*

**Keywords:** Structure of population; Genetic markers; New polymorphisms; Human genome.

### Populációk struktúrája

Ami a valódi szerkezetüket illeti a populációk nem egyeztethetők össze a pánmixia feltételeivel. Alapjában véve azért nem, mert zártak, belső struktúrájuk van és kisebb egységekre tagozódnak: ezek a kisebb egységek (démek) bizonyos fokig izoláltak, másrészt génállományukat (részleges) génáramlások befolyásolják. Ezt az izolációt figyelembe vevő modellek is születtek már, amelyek a genetikus divergenciát a növekvő földrajzi távolsággal magyarázzák (Wright 1943, 1951, Malécot 1950).

Méretüket tekintve a legelső lényeges kérdés a populációknak a korrekt meghatározása. Mit tekintünk populációnak? Mi legyen a dém, a populáció operacionális alegységeinek a definíciója? Igen nehéz ezekre a kérdésekre gyakorlati választ adni, meghatározni az egységet, minthogy a dém kvázi végtelen. Az egyik végtel, ha a démet csupán a családmagnál valamivel nagyobb egységnek, a másik végtel pedig az, amikor majdnem az egész fajt magában foglaló egységnek tekintjük. Néha segíthet, ha el tudunk különíteni bizonyos tartózkodási központokat, vagy társadalmi csoportokat, a valóságban azonban minden olyan csoportosítás önkényes, amely a folytonos teret (vagy egyéb dimenziót) részekre szabja. Bizonyos esetekben segítségünkre lehet néhány táborhely illetve szociális csoportok szegregációjának vizsgálata, azonban nagyon gyakran önkényes a folyamatos tér (vagy egyéb más dimenzió) alcsoportjainak kijelölése.

Tekinthetnénk persze azt az egységet is populációnak, amelyből a szexuális partner származik, ez felelne meg a Dahlberg (1947) valamint Cavalli-Sforza és munkatársai (1966) által javasolt régi felfogásnak az izolátumról. Ez a populáció azonban nincs pontosan körülhatárolva, hanem csak valószínűségi fogalmakban definiálódik. A meghatározás még a vadászó-gyűjtögető társadalmak esetében sem könnyű.

A pigmeusok lehetnének az egyszerű társadalmak egyik példája, amely az ősi társadalmakat képviseli. Táborhelyeiken átlagosan 30-an élnek együtt. Legtöbb tevékenységük, a vadászatuk pedig biztosan, 2–4 tábor egyedeiből szerveződött csoportokban zajlik. Ezek a csoportok exogámok, így a genetikai alapegység ennél is nagyobb. A pigmeusok párválasztási csoportja Cavalli-Sforza (1986) szerint 870 fő, ami elfogadható becslése lehet a dém méretének. Ha Cavalli-Sforza gondolatsorát követjük,

akkor pl. az ausztrál őslakosoknál ez a szám 640-nek, míg a makisutare indiánoknál 245-nek adódik.

A populációk effektív mérete ( $N_e$ ) minden esetben szerepel a leírásukra alkalmazott matematikai modellekben, amelynek értéke emberi populációk esetében a demográfiaiainak egyharmada, egynegyede.

### Genetikai markerek

Számos populációgenetikai tanulmány épült olyan genetikai markerek vizsgálatára, amilyen többek között a vér polimorfizmus (AB0, Rh, MNS, Duffy, Lutheran, Kell, Kidd, secretorok, ...), a szérum polimorfizmus (haptoglobin, transferrin, ...), az enzim polimorfizmus (savas foszfátáz, foszfoglükomutáz, 6-foszfoglükonát dehidrogenáz, glükóz-6-foszfát dehidrogenáz, ...) valamint a HLA csoportok, az apolipoproteinek, a G-immunglobulinok nehéz láncainak Gm rendszere.

Tagadhatatlan azonban, hogy ezek a genetikai markerek a humán genomnak csak nagyon kis hányadát képezik. Tulajdonképpen a humán genom 1 %-át adják a kódoló gének (eleve csak a genom 10 %-át alkotják a gének, és ezeknek újabb 10 %-a hordozza a fehérjékre vonatkozó információkat). A kódoló szekvenciák tekintetében az evolúció csupán a humán DNS 1 %-át érintené. A genom néhány további %-a felelős a génregulációért, illetve a kromoszomális struktúra (centroméra, teloméra) DNS-éért. A humán genom fennmaradó része, legalább 90 %-a, eddigi ismereteink alapján, látszólag semmilyen nemű speciális funkcióval nem bír: gyakran a génállományban szétszóródott, ismétlődő szekvenciákból áll (ezeket olykor önző géneknek nevezik).

A fehérjék kódolásáért valamint a génregulációért felelős gének nagyobb mértékben vannak kitéve a természetes szelekció hatásainak: a mutációk felhalmozódása ezért területükön lassúbb, mint a genom nem-kódoló részében, ahol is az evolúciós változások lényegesen gyorsabbak. A csimpánz és az ember DNS szekvenciáinak 1,6 %-a, a makákó és az ember DNS állományának pedig 7,5-a tér el a nem-kódoló régiók területén (Svatier et al. 1987, Miyamoto et al. 1988). Ezzel szemben a kódoló DNS régiók kevésbé különböznek, mintegy igazolva ezzel a kisebb „szabad” mutációs rátát.

Mindebből az következik, hogy a DNS variabilitása génhelyről génhelyre változhat és ez más kérdésekre adhat választ. Például, a magasabb mutációs rátájú DNS területek vizsgálata lehetővé teszi a populáción belüli és mikroevolúciós mechanizmusok tanulmányozását, azonban a rokon fajok közötti genetikai távolság makroevolúciós vizsgálatára már nem alkalmas. A hipervariábilis lókuszekben a mutációk gyorsan halmozódnak fel és néhány millió év alatt akár telítődhetnek is.

### Új polimorfizmusok

Hipervariábilis területekként említhetők a miniszatelliták, amelyek a DNS gyakran kis számú bázispárjainak ismétlődéséből épülnek fel. Az ismétlődéseik száma azonban a populáción belül is változhat és a mendeli szabályokat követi. Számuk leggyakrabban néhányszor 10, vagy 100 másolat, ily módon akár egyetlen lókuszon is nagyszámú allél fordulhat elő, amelyek ezen túlmenően is olyan élénken eshetnek át mutáción, mintha az egyszerre 20 gamétát érintett volna (Jeffreys et al. 1988a). Ezeket a hipervariábilis miniszatellitákat VNTR (variable number of tandem repeats – változó számú tandem ismétlődések) lókuszeknek is nevezik. Néhány mimiszatellitát a PCR (polimerase chain reaction – polimeráz lánc reakció) technika segítségével sikerült amplifikálni, amellyel

lehetővé vált akár egy-egy sejt genetikai „ujjlenyomatának” elkészítése (Jeffreys et al. 1988b).

Más egyéb hipervariábilis egységei a DNS-nek, amelyek a mikroevolúciós vizsgálatokban tarthatnak érdeklődésre számot, a mikroszatellit elnevezést kapták: ezek két bázis (CA) szekvenciák (10–30) ismétlődéséből állnak. Több ezer mikroszatellit található a humán genomban. Ami a centromérákat illeti azokban viszonylag rövid szakaszok ismétlődnek, ezeket írták le  $\alpha$ -szatellitákként (Willard et al. 1986).

Az evolúciós vizsgálatok másik vonzó célpontjává vált a kis méretű mitokondriális DNS-ben lejátszódó transzmisszió, a gyorsan illetve lassan változó valamint a kódoló és a nem-kódoló régiók keveredése (Melnick et al. 1992). Azonban ne feledkezzünk meg eközben arról, hogy az mDNS a genomnak csak nagyon kis hányadát teszi ki, és kizárólag egymástól nem független lókuszból épül fel.

### Humán genom

Az első eredményeket a humán genom feltérképezésében néhány öröklődő betegség génjeinek azonosítása hozta meg, mint pl. a Duchenne szindróma 1986-ban, mucoviscidosis 1989-ben, Huntington chorea 1993-ban. Ezek a vizsgálatok meglehetősen gyakran meg-megszakadtak és nem voltak összehangolva. Ezzel szemben a restrikciós fragmenthossz (RFLP – analysis of sites of restriction) polimorfizmusának vizsgálata már 30 évnél régebben kezdődött, amikor felfedezték az egyes DNS frekvenciákra specifikus endodezoxiribonukleázokat (restrikciós enzimek). Ez a felfedezése számos technika kialakulásának nyitott utat, amilyen például a szekventálás, a géntérképezés, a PCR, a klónozás, a transzgenetikus beavatkozások és természetesen az RFLP eljárás is. A benne rejlő lehetőségek határtalannak tűnnek és remélhetőleg alkalmazhatóak lesznek a DNS egész területének, beleértve a nem-kódoló régióknak a vizsgálatára is. Százból egy bázis változhat és vehet részt a restrikciós helyek variációjában. Ha ugyanazon DNS szegmensben többféle polimorfizmus fordul elő, akkor az egyes típusok együtt, mint haplotípusok vizsgálhatók: ezeknek a haplotípusoknak az egymáshoz viszonyítása lehetővé teszi a gének bizonyos klaszterének szinte anatómiai pontosságú vizsgálatát (mint pl. a 11. és 16. kromoszóma globinjai esetében; Maniatis et al. 1981, Weatherall et al. 1986), valamint azt, hogy ezeknek a géneknek az eredetét felderíthessük (mint pl. a  $\beta$ -globin klaszter esetében, Long et al. 1990, Trabuchet et al. 1991), illetve hogy megérthessük földrajzi elterjedésüket.

Az első genetikai térképek az RFLP technika alapján születhettek meg, majd ezt követően a mikroszatelliták vizsgálatának segítségével. Ezek a térképek még mindig a rekombinációs távolságok becslése alapján készültek el, mely távolságokat Morganben fejeznek ki (1 cM=1 %-os rekombináció). Az első genetikai térképet 1987-ben hozták nyilvánosságra, mely ezeknek a genetikai „szondáknak” genombeli eloszlását mutatta.

A fizikai térképek az izolált gének illetve anonim szekvenciák azonosítását követték, amely szekvenciákat pulzáló elektroforézissel különítették el. Ezek a fragmentumok néhány 100 vagy 1000 kilóbázis hosszúságúak és mesterséges élesztő kromoszómákban (YAC – yeast artificial chromosomes) lettek klónozva. Ennek eredményeképpen születhetett meg klónozott DNS szegmensek topográfiája, amely lehetővé teszi a már sokkal precízebb géntérképezést, a gének pontosabb beazonosítását és a pontosabb szekventálást.

Az utolsó lépés tehát teljes emberi DNS szekvenciájának megállapítása volt, míg a gének értelmezése természetesen egy további lépés. Az mRNS-ből konstruált cDNS

szekvenciájának megállapítása gyorsabb, de korlátozottabb módja a számunkra érdekes gének felderítésének.

Az ember és a nem-humán primáták genetikai elemzése drámaian felgyorsult a fizikai géntérképek és a DNS szekventálás fejlődésével, azonban mindez nem változtatta meg a már említett eredmények és molekuláris szinten végrehajtott technikák mögött álló filozófiát. Molekuláris biológusok csak mostanában döbbennek rá arra, amit az antropológusok már régóta tudnak, hogy ti. minden populáción belül milyen hihetetlenül nagy az emberi variabilitás. A humán genomot nem lehet egy vagy néhány egyeden belül vizsgálni, hisz különben a molekuláris genetika eredményei rasszista színezetet nyerne tipológiai megfontolásaik következtében. A Humán Genom Projekt (HGP) 1987-ben indult, egy későbbi kezdeményezés a Humán Genom Diverzitás Projekt (HGDP) is céljaként tűzte ki ennek a variabilitásnak a megértését, majd a Humán Genom Nemzetközi Szervezete (HUGO – International Human Genome Organisation) 1994-ben ez utóbbi projektet adoptálta. A HGDP továbbra is számos etikai problémát vet fel az antropológusok számára, mint pl. a vizsgálandó populációk kiválasztása, reprezentativitásuk vizsgálata, a jellemzőnek tartott polimorfizmusok megválasztása és nem utolsósorban a minta nagysága (20–25 egyed); minthogy a populáción belüli variabilitás jóval nagyobb, mint a populációk közötti, ez az ismeret befolyásolhatja az eredményeket.

A HGDP bizonyos aggodalmakat ébresztett a vizsgált populációk némelyikében: a populációgenetikai vizsgálatoknak, mint egyébként minden embert érintő kísérletes tudományának, meg kellett felelniük a tájékoztatás alapján történő beleegyezés kritériumának. A résztvevőket tájékoztatni kell a rajtuk végzett vizsgálat célkitűzéseiről, szabad akaratukból kell, hogy a részvétel mellett döntsenek és egyértelműen szabadon hozzáférhessenek az eredményekhez. A genetikai adatbankok piaci hasznosítását gazdasági következményeikkel együtt kell mérlegelni, ugyanígy azok bizonyos egyéni vagy kollektív tulajdonjogainak kiaknázását.

A HGP lényegi változásokat hozhat a biológia területén végzett kutatások szervezettségében, amely szinte ipari méretűvé vált. A nemzetközi és a nyilvános HGP-vel versenyfutásban áll a Celera Genomic Systems, egy amerikai tulajdonú magáncég, amelynek kutatásai kizárólag kereskedelmi indíttatásból folynak. A cég folyamatosan próbálkozik a gyógyszeripar szempontjából érdekes gének legtöbbjének leírását szabadalmaztatni.

Mivel nagy a nem kódoló DNS-hányad, amiatt is kritizálták a HGP-t, hogy a teljes szekventálás nagyobbik része funkcionálisan kevésbé érdekes.

Ennek ellenére a projekt drámai gyorsasággal halad a végső kitűzött céljai felé, a teljes szekventálás után a feladat a funkcionális gének értelmezése és a genetikai térkép kidolgozása: számos biokémiai eredetű betegség került feltérképezésre, jobban megértettük genetikai eredetüket, jobban kezeltük a hordozók diagnózisát, megindult a beültetés előtti diagnózis és a génterápia is.

Mindez a humángenetikát és a populációgenetikát nyilvános vita tárgyává teszi. Mely tesztek váljanak mindennapos gyakorlattá? Milyen elvárásoknak feleljenek meg a bizalmas információ kezelésének körülményei? Meddig lehet a génterápia során elmenni? Bizonyosan léteznek válaszok ezekre a kérdésekre, azonban ezeket már nemcsak a természettudomány területén munkálkodók kell hogy megadják számunkra.

## Következtetések

A populációgenetika az antropológia, a humán biológiai tudományok egyik területét alkotja és annak is kell maradnia. Meg kell tartania a humán variabilitás tanulmányozásának szellemét és továbbra is tiszteletben kell tartania az etikai szabályokat.

Az új molekuláris technikáknak megvan az emberi egészségre gyakorolt hatása és minden valószínűség szerint egyre több lesz. Hasznosíthatók ezek a technikák az antropológiában is, de el kell hogy kerüljünk a tipologizálás szemléletének megbocsáthatatlan, korábban már felbukkant vétkét.

A humán variabilitás tanulmányozása kell hogy vezérelvünk maradjon és természetesen szükségszerű, hogy tudományterületünk alapvető etikai koncepcióit kövessük ezután is. Egy új technika használata nem jelentheti azt, hogy megfeledezzünk erről.

## Irodalom

- Cavalli-Sforza, L.L. (1986): Population structure. In: Gershowitz, H., Rucknagel, D.L., Tashian, R.E. (Eds) *Evolutionary perspectives and the new genetics*. A. Liss, 13–30.
- Cavalli-Sforza, L.L., Kimura, M., Barrai, I. (1966): The probability of consanguineous marriages. *Genetics*, 56; 37–60.
- Dahlberg, G. (1947): *Mathematical methods for population genetics*. Karger.
- Jeffreys, A.J., Royle, N.J., Wilson, V., Wong, Z. (1988a): Spontaneous mutation rates to new length alleles at tandem-repetitive hypervariable loci in human DNA. *Nature*, 322; 278–281.
- Jeffreys, A.J., Wilson, V., Neumann, R., Keyte, J. (1988b): Amplification of human minisatellites by the polymerase chain reaction, towards DNA finger printing of single cells. *Nuclear Acids Res.*, 16; 10953–10971.
- Long, J.C., Chakravarti, A., Boehm, C.D., Antonarakis, S., Kazazian, H. (1990): Phylogeny of human beta-globin haplotypes and its implications for human evolution. *Am. J. Phys. Anthropol.*, 81; 113–130.
- Malécot, G. (1950): Quelques schémas probabilistes sur la variabilité des populations naturelles. *Ann. Univ. Lyon Sci. A.*, 13; 37–60.
- Maniatis, T., Fritsch, E.F., Lauer, J., Lauwn, R.M., Proudfoot, N.J., Shander, M.H., Shen, C.K. (1981): The structure and chromosomal arrangement of human globin genes. In: Stamatoyannopoulos, G., Nienhuis, A.W. (Eds) *Organisation and expression of globin genes*. A.R. Liss, 15.
- Melnick, D.J., Hoelzer, G.A., Honeyciutt, R.L. (1992): Mitochondrial DNA, its uses in anthropological research. In: Devor, E.J. (Ed.) *Molecular applications in biological anthropology*. Cambridge, 179–233.
- Miyamoto, M.M., Koop, B.F., Slighton, J.L., Goodman, M., Tennant, M.R. (1988): Molecular systematics of higher primates, genealogical relations and classification. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 85; 1124–1151.
- Savatic, P., Trabuchet, G., Chebbune, Y., Faure, C., Verdier, G., Nigon, V.M. (1987): Nucleotide sequence of the beta-globin genes in gorilla and macaque, the origin of nucleotide polymorphisms in human. *J. Mol. Evol.*, 24; 309–318.
- Trabuchet, G., Elien, J., Baudot, G., Pagné, J., Bouhass, R., Nigon, V.M., Labie, D., Krishnamoorthy, R. (1991): Origin and spread of  $\beta$  globin gene mutations in India, Africa and Mediterranean, analysis of the 5' flanking and intragenic sequences of  $\beta$ s and  $\beta$ e genes. *Hum. Biol.*, 63; 241–252.

- Weatherall, M.J., Higgs, D.R., Clegg, J.B., Hill, A.S., Nicholls, R., Wainscoat, J.S. (1986): The relationship between the common mutations of the  $\alpha$  gene cluster and its evolutionary history. In: Gershowitz, G., Rucknagel, D.L., Tashian, R.E. (Eds) *Evolutionary perspectives and the new genetics*. A. Liss, 47–62.
- Weber, J.L., May, P.E. (1989): Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain-reaction. *Am. J. Hum. Genet.*, 44; 388–396.
- Willard, H.F., Wayne, J.S., Skolnick, M.H., Schwartz, C.E., Powers, V.E., England, S.B. (1986): Detection of restriction fragment length polymorphisms at the centromeres of human chromosomes by using chromosome-specific alpha-satellite DNA probes, implications for development of centromere-based genetic linkage maps. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 83; 5611–5615.
- Wright, S. (1943): Isolation by distance. *Genetics*, 28; 114–138.
- Wright, S. (1951): The genetical structure of populations. *Ann. Eugen.*, 15; 322–354.

*Levelezési cím:* Charles Susanne  
*Mailing address:* Vrije Universiteit Brussel  
B-1050 Brussel, Pleinlaan 2  
Belgium