

BAKTÉRIUM HIBRIDÁLÁSOK ÉS A DNS EVOLÚCIÓJÁNAK KÉRDÉSE*

SZENDE KÁLMÁN

a biológiai tudományok kandidátusa

MTA Genetikai Intézete, Budapest

A darwini evolúciós elmélet megszületése óta eltelt 106 esztendő nemcsak a magasabbrendű szervezetek evolúciójának sok kérdését tisztázta, az ott érvényes elvek érvényeseknek bizonyultak a baktériumokra is. A kutatások kezdetén nehézséget okozott az, hogy a baktériumokat „klónosan” szaporodó lényeknek ismerték, de 22 év telt AVERY felfedezése óta, mely szerint a baktériumok között az öröklődő jellegeknek átvitele DNS révén lehetséges és 16 esztendő azóta, mióta LEDERBERG felfedezte azt, hogy a baktériumok között ivaros szaporodás van. Ez alatt az idő alatt, ha nem is teljes értékű, de több ivaros szaporodási mechanizmus vált ismeretessé a baktériumoknál és így a rekombinálódás lehetőségei a mutációval és szelekcióval együtt alapul szolgálnak azon elvek működésének, melyet DARWIN a Fajok eredetéről c. munkájában lefektetett.

Eszerint az élőlények fajai, tehát a baktériumfajok is, két kölcsönösen ható tényező termékei. Ezek egyike az egyedek öröklődő megváltozásának lehetősége, a másik pedig az, hogy a környezet kiszelektálja azokat az egyedeket, melyek megváltozásuk következtében előnnyel bírnak a többi egyeddel szemben önmaguk fenntartásában és elszaporodásuk lehetőségében. A genetikai kutatások bebizonyították, hogy az öröklődő megváltozások oka elsősorban a mutáció, másrészt az ivaros folyamatok után bekövetkező rekombinálódás, mely a mutáció által létrejött megváltozást elterjeszti a többi egyed leszármazottai között is. A mutáció, rekombinálódás és szelekció következtében kialakulhat tehát egy adaptív jelleggel bíró populáció. Ez kontinuos populáció lévén, ugyanezen erők hatására adaptív jellegét hasonló sebességgel el is veszítheti, mert a mutálódás és rekombinálódás nem adaptív jellegeket is kialakíthat. Van azonban még egy mechanizmus, az ún. izoláló mechanizmus, és ez maga is tárgya lehet a mutációnak és rekombinálódásnak. Ez a mechanizmus megakadályozza azt, hogy két populáció között a génáramlás bekövetkezhesen. Az ilyen mechanizmus kialakulása gátolja két populáció között a rekombinálódás lehetőségét és elősegíti a populációból kivált új populáció fajjá alakulását.

* Elhangzott: a „Távoli hibridizáció elméleti és gyakorlati eredményei a növényvilágban” c. konferencián. 1965. március 11.

A fajok kialakulását filogenetikai nézőpontból vizsgálva, az ilyen izoláló mechanizmusok keletkezésében két tényező szerepelhet: *egyik a földrajzi elkülönülés*, melynek folyamán az adaptív jellegeknek olyan differenciálódása jöhet létre, mely egy esetleges újra egymás mellé kerülés után az ivaros folyamatokat, illetőleg a rekombinálódás létrejöttét megakadályozza. Izoláló mechanizmus azonban egymás mellett, de *eltérő ökológiai feltételek* között élő populációk között is kialakulhat és létre jöhet egy elkülönült új faj. Ezek rokon fajok, mert bár izoláló mechanizmusok révén egymástól elkülönültek, mégis több-kevesebb genetikai homológia van közöttük. Ez a genetikai homológia gyakran megnyilvánul a fenotípusok hasonlóságában is és így sokszor fedti a taxonomusok által alkotott csoportokat is.*

A *baktériumok osztályozását* már a múlt század végén megkezdték. Megállapítható, hogy a taxonomusok és a genetikai szemlélet alapján rendszerezők között különbség van. RAVIN, mint genetikus, a baktériumoknál megkülönböztet nomen species-t, ez az egység, melyet a biner kombináció meghatároz, taxospecies-t, vagyis egy olyan csoportot, melynek egyedei között nagy a hasonlatosság, és a genospecies-t, tehát egy olyan egységet, melyen belül a rekombinálódás lehetséges. Előadásomban magam is ehhez a Ravin-féle beosztáshoz igyekszem adaptálódni.

A baktériumok között a filogenezis alapján álló osztályozás nehézségekbe ütközik. Ennek több oka van: a magasabbrendű szervezetekkel szemben ui. a baktériumok

1. morfológiailag egyszerűek,
2. rendkívül gyors a szaporodásuk és a hatalmas populációképző potenciájuk nagy variabilitási lehetőségeket biztosít számukra,
3. citológiai vizsgálatuk nehéz és a magasabbrendű szervezetek citotaxonomiai jellemzési módszerei nem alkalmazhatók rájuk és végül
4. genetikai rendszereik vizsgálata újkeletű és nem teljesen feltárt.

Mindezek ellenére az utolsó 10 év mikrobiális genetikai kutatásainak eredményei lehetőséget nyújtanak arra, hogy éppen ezen a területen: a baktériumok evolúciója és a baktériumok fajkérdésének területén várhatók gyors eredmények és tisztázódhat a genetikai faj (a RAVIN szerinti genospecies) fogalma. Mindezekre a modern genetikai kutatás egy módszert adott a kezünkbe, mégpedig a genetikai homológia megközelítésének a lehetőségét.

A baktérium populáció megváltozásának és a populációk elkülönülésének lehetősége

A populáció változatosságának egyik forrása a darwini elmélet szerint a mutáció. A mutáció fellépése a baktérium populációban véletlenszerű. Ha a populációt egy új, kémiai vagy fizikai hatásnak tesszük ki, esetről-esetre megfi-

* A következőkben a *homológia* kifejezést evolúciós értelemben, de szerkezeti homológia vonatkozásában is használom.

gyelhető, hogy új, kiválóbb (nagyobb adaptív értékkel bíró—fitness) típusok alakulnak ki és ezek a szelekciós erők következtében túlnövik a szülői típusokat. Ez a flexibilitás főleg az antibiotikum-rezisztencia kialakulása mechanizmusának vizsgálata idején arra a feltevésre jogosított egyeseket, hogy a baktériumok adaptív természete nem azonos a magasabbrendű szervezetekével és ezt lamarcki öröklődéssel igyekeztek magyarázni. Ha azonban figyelembe vesszük azt, hogy egyetlen *Escherichia coli* baktérium „klónos” szaporodása mekkora (2^{23} /nap, ha az osztódás sebessége 60 perc = 10^{11} , nagyon könnyen felmérhető, hogy a 10^{-8} /sejt/generáció mutáció ráta esetén egy nap alatt 1000 új típusú *E. coli* baktérium alakulhat ki egyetlen sejtből. Ebből könnyen értethetővé válik a baktériumok populációjának flexibilitása. Kialakultak technikák: a legszellemesebb *Lederbergék* replika módszere, mellyel kimutatható volt, hogy a mutációk kialakulása véletlenszerű és egy új fit típus, tehát egy olyan egyed, mely nagyobb adaptív készséggel rendelkezik, a szelektív ágens távollétében is kialakulhat.

A változatosság másik forrása a rekombinálódás. Amint röviden azt már említettem, a baktériumokat „klónosan” szaporodó lényeknek tekintették még nem is olyan régen. Az utóbbi 20 év alatt azonban a genetikai anyag kicserélésének több mechanizmusa vált ismeretessé: a konjugáció, transzdukción és transzformáció.

A *konjugáció*, mint ivaros mechanizmus az, mely legjobban megközelíti a magasabbrendű szervezetek ilyen típusú mechanizmusait. Konjugáció közben két ivarilag ellentétes egyed, nevezzük F^+ és F^- -nak, átmenetileg egymáshoz kapcsolódik és az F^+ kromoszómája vagy annak egy része egy konjugációs tömlőn áthalad a F^- vagy más néven befogadó sejtbe. Ott a kromoszóma szinapszisa kerül a befogadó sejt kromoszómájával és a rekombinálódás beépülés vagy mintaválasztás útján bekövetkezik. Az F jelzés a fertilitás faktor jele. A fertilitási faktor egy ún. episzóma, tehát egy olyan genetikai részecske, mely autonóm állapotban a sejt citoplazmájában is szaporodik, de képes a baktérium kromoszómájához kapcsoltn, azzal összhangban önmagát lemintázni. Ilyen episzóma jellegű, tehát autonóm vagy a kromoszómához kapcsolt állapotban szaporodó részecskék még a baktériumok vírusainak, a bakteriofágoknak egyes típusai: az ún. mérsékelt fágok, bakteriocinogének és drog-rezisztens faktorok.

A másik ivaros mechanizmus a *transzdukción*. Transzdukciónkor az említett mérsékelt fág a gazdabaktériumban elszaporodik, miközben a baktérium kromoszómájából részeket kebelez be. Egy más baktériumot fertőzve ezeket az idegen kromoszómárészeket abba átvinni képes és ezek az idegen kromoszómárészek rekombinálódnak azután a befogadó baktérium homológ kromoszómárészeivel.

A rekombinálódás harmadik főforrása a genetikai *transzformálódás*. Egy bizonyos genetikai jelleggel bíró baktériumtörzs DNS-e a másik, ezzel a

jelleggel nem rendelkező törzs egyedeibe, azok ún. kompetens állapotában, behatolni képes. Majd szinapszisba jutva a befogadó sejt kromoszómájával rekombinálódás következik be és az utódok között az új jelleget mutató rekombinánsok megjelennek.

Az ismertetett három genetikai rendszer egymásmellett is működik: pl. *E. colinál* a konjugáció és a transzdukció, míg a *Bacillus subtilis*nél a transzformáció és transzdukció.

Az eddigiekben röviden ismertettem, hogy mutáció és rekombinálódás révén miképpen alakulhatnak ki új adaptív baktérium populációk a régiből. Felmerül a kérdés ezután, hogy melyek azok az izoláló mechanizmusok, melyek ennek az új, adaptív jellegű populációnak a régitől való végleges elkülönülését és új biológiai fajjá alakulását előidézhetik. Ravin szerint, eddigi ismereteink alapján, ezek a baktériumok között a következők:

Konjugáló rendszerben egyrészt a párválasztási inkompatibilitás, másrészt a konjugációs inkompatibilitás.

Transzdukciós rendszerben a genetikai anyagot hordozó bakteriofágnak és a fertőzendő sejt kapcsolatában bekövetkező megváltozás. Ilyen pl. a bakteriofág adszorbeálását meghatározó tényezőkben bekövetkező eltolódás, fágrezisztencia kialakulása és a bakteriofág által átvitt genetikai anyag és a befogadó sejt genetikai anyagában levő különbség.

Transzformálódó rendszerben a befogadó sejt fiziológiás állapota, illetőleg az azt meghatározó genotípus lényeges a behatolás szempontjából. Ez az ún. kompetencia. Másrészt a donor és befogadó sejt genetikai homológiájának mértéke is mérvadó, amit talán így is meg lehet fogalmazni, hogy az exogén és endogén DNS szerkezeti homológiája is nagymértékben fokozza a transzformánsok, tehát a rekombinánsok számának emelkedését.

A rekombinálódó-képesség, mint a genetikai homológia mértéke

A baktériumok ismertetett genetikai rendszerei és izoláló mechanizmusai mind feltételezik a genetikai homológiát is. Két populáció rekombinálódásának lehetősége tehát függ attól, hogy filogenetikai rokonságuk milyen mértékű. Megfordítva, a rekombinálódás lehetősége, illetőleg annak kisebb-nagyobb mértékű gátolt volta, mutatóul szolgálhat a genetikai homológia megállapításánál.

Ebből adódik az előadás címében megjelölt első problémakör tárgya. Ha ugyanis taxospeciesek közötti keresztezéseket tanulmányozunk, azok eredményeiből következtetni lehet a közöttük fennálló genetikai homológiára is. A filogenetikai rokonság nagyobb a nagyobb genetikai homológia esetében, ez pedig függ a rekombinálódó-képességtől. Természetesen a rekombinálódó-képesség csak fertilitás esetében szolgálhat a genetikai homológia indexeként;

a fertilitás hiánya ezzel szemben nem jelenti a genetikai homológia hiányát is és ez csökkenti a keresztezéses megközelítés értékét. Mindenesetre a genospecies kritériumát a faj és nemzetségek közötti keresztezések eredményei alapján jobban megközelíthetjük.

Az elmúlt években több irodalmi áttekintés látott napvilágot a baktérium-fajok (taxospeciesek) közötti keresztezések eredményeiről. Ezeknek alapján rövid áttekintést szeretnék adni erről a kérdéstről.

A *konjugációs rendszerrel* bíró baktériumok közül elsősorban az *Enterobacterium*okat vizsgálták: *E. coli* és a *Shigella*, valamint *Salmonella* csoportokat. Már 1957-ben (LURIA és BURROUS) kimutatták, hogy egyes *Shigellák* befogadóként szerepelnek az *E. colival* szemben. Bár a konjugáció gyakorisága megegyezett a fajon belüli keresztezések konjugációs gyakoriságával, mégis a rekombinánsok gyakorisága az utóbbi eredményeinél jóval alacsonyabb volt. Ezenfelül az *E. colinak* nem minden öröklődő jellege volt kimutatható a rekombinánsokban, feltehetően a genetikai homológia elégtelensége miatt. Másik érdekes tény, hogy bár a gének lineáris sorrendje a *Shigellában* az *E. coli*éhoz hasonló, mégis a rekombinánsok száma alacsony volt s ezek legnagyobb része virulenciáját elvesztette. Azok a hibridek, melyek virulensek voltak, legfeljebb egy-két *E. coli* jelleget tudtak felmutatni. Hasonló eredményekre jutottak *E. coli* és *Salmonella* hibridek esetében is. Annak ellenére, hogy a *Salmonella* kromoszóma nagyobb vonásaiban azonos az *E. coli*ével, mégis a keresztezések után labilis diploidok keletkeznek, melyek később az eredeti típusokra szegregálnak. Fajok közötti *Salmonella* keresztezéseket is végeztek *S. typhimurium* és *S. typhosa* között. Ezesetben is csak egyes jelek átvitelére volt megfigyelhető, ellentétben a fajon belüli *S. typhimurium* keresztezésekkel. Ebből az következik, hogy a két *Salmonella* faj között a genetikai homológia nem nagymérvű. A *Salmonella* és *Shigella* hibridálások alapján is ugyancsak kisebb genetikai homológiát lehet a két genus vizsgált fajai között kimutatni, mint az az *E. colival* történt keresztezések alapján várható.

Genuszok közötti transzdukciókra többek között *E. coli* és *Sh. dysenteriae* esetében vannak adataink. Kimutatható, hogy nemcsak az átvitt genetikai marker régiójának homológiája nem teljesen azonos, hanem az is, hogy a marker régiójához kapcsolódó kromoszómarszekciók sem homológok.

Fajok közti *transzformációt* először intézetünkben néhány BALASSA RÓZSI publikált *Rhizobium* fajok között. Ezt követően rövidesen *Haemophilus* fajok között végeztek részletes elemzést. SCHAEFFER mutatta ki a fajok közötti transzformációban a rekombinánsok számának csökkenését a fajon belüli transzformálásokkal kapott rekombinánsok számával szemben. Izotóppal jelzett DNS-el kimutatható volt, hogy a heterológ DNS felvétele nem csökkent. Schaeffer ennek alapján feltételezi, hogy az inkomplett homológia, tehát a DNS bázisszekvenciában levő kisebb különbség az oka a rekombinánsok száma csökkenésének.

Érdekes probléma a *Streptococcus* és *Staphylococcus* egyrészt, és a *Pneumococcus* másrészt genetikai homológiájának kérdése. A két organizmus közel azonos helyen, tehát azonos ökológiai körülmények között is előfordulhat a szervezetben, mégis taxonomiailag elkülönített csoportokat alkot, annak ellenére, hogy már 1957-ben kimutatták reciprok transzformálhatóságukat. Így sokan ajánlják rendszerezésük felülvizsgálását.

Rendkívül finom vizsgálatokat végzett RAVIN, amikor *Diplococcus pneumoniae* és *Streptococcus challis* közötti transzformációval kimutatta azt is, hogy a transzformált képesek jellegek stabilitása nagy, tehát újabb transzformációval tovább vihetők. Ez arra mutat, hogy a bázisszekvencia és a homológia az exogén és endogén DNS-ek között a genetikai marker környékén nagy. Ez Ravin szerint egy bizonyos kromoszómaregió homológiájának genetikai módszerrel kapott egyik legérzékenyebb indexe.

Összefoglalva: Az egyes taxospeciesek között a rekombinálódás lehetősége fennáll. Ez sohasem olyan mértékű mint a taxospeciesen belül végzett keresztezés eredménye. Feltehető tehát, hogy a taxospeciesek között a filogenetikai rokonság mérvének megfelelő homológia van. Tekintettel arra, hogy az öröklődő tulajdonságok hordozója a DNS, fel kell tételezni azt, hogy a genetikai homológia anyagi alapjait is a DNS-ben kell keresni. A DNS azonosságának és különbségének megállapítására jól bevált fizikai és kémiai módszerek állnak rendelkezésre és a baktériumfajok közötti genetikai homológia mértéke kimutatására a baktériumok kromoszómáját alkotó DNS szerkezetének homológiája is felhasználható.

A genetikai homológia kérdésének molekuláris szinten történő megközelítése

A DNS szerkezetét és lemintázódását WATSON és CRICK vizsgálatai és elgondolásai alapján eléggé jól ismerjük. Tudjuk, hogy a DNS egy kettős csigavonalat alkotó molekula. Mindegyik csigavonalát egy-egy cukor-foszfát molekulákból álló gerinc alkotja. Ezek a csigavonalak, a helixek, egymás köré tekeredő struktúrát alkotnak. Ezen helyezkednek el a DNS-re jellemző bázisok: két purin bázis, az adenin és a guanin és két pirimidin, a citozin és timin. A kettős hélixen befelé fordult bázisok hidrogénhidakkal kapcsolódnak. A bázisok elhelyezkedése jellemző: mindig egy purin kapcsolódik egy pirimidinnel — a guanin a citozinnal, az adenin a timinnel. Ha tehát a purin/pirimidin arányt vizsgáljuk, az mindig eggyel egyenlő. Ha azonban az A+T/G+C arányt vizsgáljuk az adott DNS mintákban, akkor azt tapasztaljuk, hogy ez DNS mintánként különböző lehet. Tehát egy DNS mintát a G+C tartalommal jellemezni lehet. A bázisok megoszlása ugyanis nem egyenletes, a sorrendjük változik és a sorrendiségben, a szekvenciában levő különbség a G+C aránnyal

kifejezhető. A bázisok szekvenciája alkotja azokat a kód-jeleket, melyek a DNS genetikai információit rögzítik és amelyek azután átírva az RNS hasonlóan négybetűs kódjára, majd átfordítva az aminosavak 20 betűs kódjára, megszabják a szervezet fehérjéinek aminosav szekvenciáit és működését.

LEE 1957-ben ismerte fel a DNS szerkezet tanulmányozásának taxonomiai jelentőségét. BELOZERSZKIJ és SPIRIN széles körű G+C tartalom-meghatározásra irányuló vizsgálatokat kezdtek. A korábban kémiai módszerekkel végzett ilyen meghatározások nehézségeinek kiküszöbölésére fizikai-kémiai módszereket vezettek be. Többek között a fajsúly szerinti meghatározást ultracentrifugás vizsgálatokkal, azon az alapon, hogy a G+C tartalom növekedésével a minta fajsúlya is növekszik. Másik szellemes és általánosan használt fizikai-kémiai módszer a G+C tartalom meghatározására a DNS hő-denaturálásának megállapítása. MARMUR és DOTY 1959-ben megállapított egy lineáris összefüggést a G+C tartalom és denaturálódás hőmérséklete között. Nem kell ehhez más tehát, csak a DNS mintát hevíteni és az optikai abszorpcióban bekövetkező változást rögzíteni és az így kapott görbén az olvadáspontot meghatározva a Doty—Marmur-féle adatoknak megfelelő G+C tartalom megállapítható.

További két módszert ismertetek röviden, melyek alkalmasak arra, hogy a kromoszóma DNS-ének szekvenciális mikrohomológiáit is meg lehessen állapítani. Mind a kettő a DNS ún. komplementer fonalainak hibridálásán alapul. Ezek egyikében egy faj nehéz izotóppal jelzett DNS-ét hevítik az olvadáspontig. Így a komplementer fonalak szétnyílnak. Ezt az egyfonalas állapotban levő, ún. denaturált DNS-t keverik egy másik faj hasonlóan kezelt, de izotóppal nem jelzett denaturált DNS-ével. A keveréket lehűtik. Lassú lehűlés közben a homológ komplementer fonalak párosodnak. Lesznek olyan párok, melyek mindkét fonala nehéz lesz, lesznek olyanok, melyeknél mindkettő könnyű, de ha a két faj DNS-e között kisebb-nagyobb homológia van, úgy hibrid képződik: a két komplementer fonal közül az egyik nehéz, a másik pedig könnyű lesz. Tehát a renaturálódott molekula fajsúlya a másik két típus közé esik. Homológia esetében tehát (akár részleges, akár teljes homológiáról van szó) a DNS molekulák elhelyezkedése a gravitációs térben három maximumot mutat, míg homológia hiányában csak az eredeti két DNS-nek a jelenlétére utaló kétsúcsú görbe mutatható ki.

A másik szellemes megközelítés ugyancsak a molekuláris hibrid képződésén alapul. Lényege az, hogy egy nagymolekulasúlyú DNS-t, nevezzük „A”-nak, 100 C°-ra való hevítéssel a két polinukleotid fonalra választanak szét és gyors hűtéssel megakadályozzák a komplementerek párosodását. Az így denaturált DNS-t agarba keverik és az agart hagyják megdermedni. Az összehasonlítandó, izotóppal jelzett DNS-t nagy mechanikai hatásnak teszik ki, mellyel a hosszú molekulákat rövid darabkákra nyírják. Ezt az ismert módon denaturálják és gyors hűtéssel megakadályozzák a renaturálódást. Ez a „B”

DNS. Ezt a „B” DNS-t az „A” DNS-t tartalmazó agaron kromatografálják, miközben az „A” DNS fonalak a komplementer „B” DNS fonalkákkal molekuláris hibrideket alkotnak. A homológ részek így, mintegy csapdába jutva, visszamaradnak a kromatografáló oszlopon. Ismételt hevítéssel ebből a csapdából megszabadíthatók és radioaktivitásukból meghatározható a visszatartott homológ DNS mennyisége.

Az ismertett módszerek alapja tehát egyrészt a G+C tartalomban jelentkező azonosságok, illetőleg különbségek megállapítása, másrészt a molekuláris hibrid képződésének kimutatása.

Rendkívül érdekes összehasonlítani a különféle baktériumfajoknál nyert adatokat. Nemrégén közölték Marmurék a *Bacillus* genuszban végzett összehasonlító vizsgálataik eredményeit. A kísérleteket 22 *Bacillus*-fajjal végezték. Huszonegy fajból 5 transzformálta a *B. subtilis*. A transzformánsok gyakorisága két esetben rendkívül nagy volt, három esetben alacsony, a többi esetben nem volt transzformáció. A transzformálható fajok G+C tartalma 43% volt, egy esetben 42,5%. A többi — nem transzformálódó faj G+C tartalma 32,5 — 50,5% között változott. Hibridképzés kimutatható volt egyrészt fajon belül *B. subtilis* × *B. subtilis* között, kimutatható volt ugyancsak két különböző fajú, de transzformálható *Bacillus* között. A harmadik esetben, két nem transzformálható faj DNS-ei között nem volt molekuláris hibridképződés kimutatható. A G+C tartalom adatai, bár a nem transzformálódó *Bacillus*ok között nagyobb szóródást mutattak, nem eléggé meggyőzők. Más, transzformálható fajoknál az értékek eléggé homogének, összehasonlítva a nem transzformálódók G+C tartalmával. Ahhoz, hogy ezek az adatok meggyőzők legyenek, ajánlatos a G+C tartalom adatait az ismertett módszerek közül többel is alátámasztani.

Megállapítható tehát, hogy a baktériumok genetikai és molekuláris szintű genetikai vizsgálatai új módszereket adtak egyrészt a filogenetikusok, másrészt a taxonomusok kezébe. A leszármazás és a rokonság kérdése nagymértékben megközelíthető azzal, hogy vizsgálat alá vesszük egyrészt a kromoszóma funkcionális homológiáját, másrészt a kromoszómát alkotó DNS szerkezeti mikrohomológiáját is.

A DNS evolúciójának kérdése

A DNS evolúciójának kérdését illetően, szemben a fehérjékkel végzett evolúciós vizsgálatokkal, ma főleg még spekulációkra szorítkozhatunk. Összehasonlító biokémiai vizsgálatokban kimutatták azt, hogy a fehérjék szerkezetében és működésében a filogenezis folyamán változások következtek be. Fel kell tételeznünk mai ismereteink alapján azt, hogy ezeknek a fehérjéknek szintézisét meghatározó és szabályozó DNS szerkezetében is változások követ-

keztek be. A közös primitív ős vagy ősök már rendelkeztek egy géngarnitúrával, melynek anyaga a DNS volt. Ez a géngarnitúra feltehetően variábilis volt, miként ma is az. Lehetséges, hogy a genetikai anyagban bekövetkező megkettőzések fokozták annak mennyiségét és ezzel együtt a gének „differenciálódása” is bekövetkezett. Salmonellánál és *Escherichia colinál* a kromoszóma funkcionális finomszerkezeti elemzése kimutatta azt, hogy az egyes biokémiai folyamatokban működő enzimek kialakulásáért felelős gének csoportokban helyezkednek el és a szintézis minden egyes lépésében a gének sorozatának a megfelelő tagja vesz részt. Ennél a két mikroszervezetnél kimutatható volt az, hogy a gének sorrendje a kromoszómán a biokémiai működés sorrendiségét is követi. A géneknek ez a csoportosulása magasabbrendű szervezetekben (leszámítva a *Neurosporát*) nem volt kimutatható.

DEMEREC fajközötti keresztezésekkel kimutatta, hogy az *E. coli* és *Salmonella* kromoszóma funkcionálisan nagyon hasonló és feltehető, hogy az egyes gének evolúciós értelemben homológok. Ennek ellenére, amint azt ismertettem, a kromoszóma szerkezeti megoszlásában egyenlőtlenségek vannak. Az, hogy a küldött információk mégis jók és a fehérjék szerkezetében változás nincs és azok működőképeseek, a genetikai kód degeneráltságára vezethető vissza, tehát arra, hogy a lehetséges 64 triplet mindössze 20 aminosavat határoz meg. Ezek szerint a DNS bázisszekvenciájában mutatkozó kisebb változások nem mutatkoznak meg okvetlenül a kromoszóma funkcionális eltérésében is. Az is lehetséges, hogy egy megváltozás a génen belül magával hoz bizonyos más megváltozásokat is és így, amint azt Tatum megállapítja, a szelekció már magán a DNS struktúrán is jelentkezhet azzal, hogy vannak olyan régiói, melyeknek változása megváltoztatja és értelmetlenné teszi a DNS más működésbeli sajátosságait. A mutáció igen sokszor csak egy bázispár megváltozásán alapul és egy gén több száz bázispárt tartalmaz. Ahhoz, hogy a gén szerkezetében lényegesebb változások ezen az alapon létrejöhessenek, nagyszámú generációra és nagyszámú mutációra van szükség. Ez tehát a finomszerkezet megváltozásának lassú módja. Lehetséges, hogy ezen felül vannak mechanizmusok, melyek a kromoszóma DNS-ének stabilitását biztosítják, sőt ezek maguk is tárgyai lehetnek a mutációnak. Mindenesetre azonban a bázisszekvencia megváltozásával megváltozik a kromoszóma finomszerkezete és ezzel a funkció-megváltozás is előbb vagy utóbb bekövetkezik. Az ilyen finomszerkezeti megváltozások egy rekombinálódó populációban gyorsan szétszóródnak, de el is különülhetnek egy-egy izoláló mechanizmus kialakulása után. A DNS szerkezeti homológiájával együtt a genetikai homológia egyre csökken és ez olyan mértékű lehet, hogy az eredeti izoláló mechanizmus megszűnése után a rekombinálódás lehetősége már nem áll fenn, vagy oly mértékben csökkent, hogy már nem mutatható ki.

Az elmondottakból arra lehet következtetni tehát, hogy a baktériumok, melyek sok biológiai probléma megoldásában, mint kiváló objektumok mű-

ködtek közre, az evolúció anyagi alapjának, alapvető mechanizmusainak fel-tárásában is hatékony segítséget tudnak nyújtani.

Összefoglalás

Az elmúlt 10 esztendőben a baktériumok evolúciójának tanulmányozása révén lehetőség nyílt a genetikai homológia és ezzel a filogenetikai rokonság kérdésének mélyebb szinten történő tanulmányozására. Az a tény, hogy a baktériumok között a fajok belüli és fajok közötti rekombináladó-képesség kimutatható volt, ez alapul szolgálhatott a fajok közötti, evolúciós értelemben vett, homológia mértékének megállapítására. Ebből adódott azután, hogy az ilyen genetikai homológia fokának megállapításában a baktérium kromoszómát alkotó DNS-ek szerkezeti homológiájával kapcsolatos adatokat is felhasználtak. Ezeket az adatokat eleinte a G+C tartalom, újabban pedig a molekuláris hibrid képződésének vizsgálati módszereivel nyerték. Ezeknek a módszereknek, tehát: a rekombináladó-képesség, a kromoszóma működésbeli és szerkezeti homológiája vizsgálatának együttes alkalmazásával lehetővé vált egyrészt a fajok közötti filogenetikai rokonság megközelítése, másrészt a DNS szerkezeti homológiájának és a kromoszóma funkcionális szerkezetének vizsgálataiból következtetni lehet a DNS evolúciójának problémáira is.

RÉSZLETESEBB TÁJÉKOZÓDÁST ELŐSEGÍTŐ IRODALOM

- BELOZERSKY, A. N. és A. S. SPIRIN (1960): *The Nucleic Acids*. Ed. E. Chargaff és J. N. Davidson, Acad. Press. N. Y.
- BRYSON, V. és H. J. VOGEL (eds.) (1965): *Evolving genes and proteins*. Acad. Press. N. Y.
- DEMEREK, M. és N. OHTA (1964): Genetic analyses of *Salmonella typhimurium* × *Escherichia coli* hybrids. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* **52**. 317–323.
- DOTY, P., J. MARMUR és N. SUEOKA (1959): Structure and function of genetic elements. *Brookhaven Symp. in Biology* **12**. 1–16.
- HOYER, B. H., MCCARTHY, B. J. és E. T. BOLTON (1964): A molecular approach in the systematics of higher organisms. *Science* **144**. 959–967.
- LEE, K. Y., R. WAHL és E. BARBU (1956): Contenu en bases puriques et pyrimidiques des acides désoxyribonucléiques des bactéries. *Ann. Inst. Pasteur* **91**. 212–224.
- MARMUR, J. S. FALKOW és M. MANDEL (1963): New approaches to bacterial taxonomy. *Ann. Rev. Microbiol.* **17**. 329–372.
- RAVIN, A. W. (1963): Experimental approaches to the study of bacterial phylogeny. *The Amer. Naturalist* **97**. 307–318.