

KÁROS ÉS KOMPENZÁLÓ MUTÁCIÓK: LEHET-E SZEREPÜK A BIOLÓGIAI SOKFÉLESÉG EVOLÚCIÓJÁBAN?

DELETERIOUS AND COMPENSATORY MUTATIONS: CAN THEY CONTRIBUTE TO BIOLOGICAL DIVERSITY?

Boross Gábor Zoltán¹, Papp Balázs²

¹PhD, tudományos munkatárs, boross@brc.hu

²PhD, tudományos főmunkatárs, pappb@brc.hu

Szegedi Biológiai Kutatóközpont Biokémiai Intézet Szintetikus és Rendszerbiológiai Egység

ÖSSZEFOGLALÁS

A biológiai sokféleség létrejöttének megmagyarázása az evolúcióbiológia egyik központi kérdése. Ma már tudjuk, hogy az adaptív, az adott környezetben előnyt jelentő mutációk mellett semleges vagy akár káros mutációk is elterjedhetnek egy populációban. Káros mutációk megjelenése úgynevezett kompenzáló evolúciót indukálhat. Ez egy olyan adaptív folyamat, amelynek eredményeképpen az eredeti mutáció káros hatása enyhül. Korábbi kutatások számos példát találtak kompenzáló evolúcióra, de előfordulási gyakoriságát és evolúciós jelentőségét csak kevéssé ismerjük. Ennek megválaszolására egy nemrég elvégzett kutatásunkban a sörélesztő kompenzációs potenciálját vizsgáltuk több száz olyan élesztőtörzsön, melyekben egy-egy gén teljes elvesztése jelentette a kijavítandó káros mutációt. A laboratóriumi evolúciós kísérleteink fő eredménye, hogy a kompenzáció gyakori és nagymértékű, ami a genotípus és fenotípus szintjén is változatosságot hozott létre. Eredményeink alapján egészen új szempontokról tekinthetünk a törzsfejlődésre, mely során bizonyos mértékben evolúciós helyben futás zajlik: olyan adaptációs folyamatok mehetnek végbe, amelyek nem növelik a környezethez való alkalmazkodást, de hozzájárulnak a fajok közötti különbségekhez. Ezentúl nem hanyagolhatjuk el ezeknek a folyamatoknak a szerepét a fajok között megfigyelhető változatosság kialakításában.

ABSTRACT

According to the original Darwinian view of evolution, adaptation happens through sequential fixation of adaptive changes in the population. However, neutral and deleterious mutations can also fix in populations. Once a deleterious mutation arises, its negative effect on the organism's fitness can be mitigated through compensatory evolution. Thus, compensatory evolution is an adaptive process that suppresses the effect of a harmful mutation. Although previous studies revealed several examples of compensatory evolution, we still have only a limited knowledge about its propensity and evolutionary consequences. To answer these questions, we set out to study the capacity of the brewer's yeast genome to compensate the complete loss of genes

during evolution, and explore the long-term consequences of this process. We initiated laboratory evolutionary experiments with hundreds of yeast gene knock-out mutants and found that compensatory adaptation was rapid and pervasive, and it promoted genotypic and phenotypic divergence. Our work implies that variation across species could be partly due to the action of compensatory evolution.

Kulcsszavak: kompenzáló evolúció, biológiai sokféleség, élesztő, laborevolúció

Keywords: compensatory evolution, biological diversity, yeast, laboratory evolution

Hogyan jött létre a ma látható biológiai sokféleség? Ez a kérdés nemcsak Charles Darwin számára volt fontos, hanem a modern evolúcióbiológiában is központi jelentőséggel bír. Az evolúció kutatói sokáig csak a látható fenotípusokat tudták vizsgálni, amelyek alapján arra következtettek, hogy az élőlények különbségeit a természetes szelekció révén megvalósuló alkalmazkodás (adaptáció) okozza. A madarak csőre, a lepkék színezete, a virágok és magok színe és morfológiája mind az adaptáció példái, a természetes szelekció által apró lépésenként végbe ment változások, melyek növelik az élőlények rátermettségét (fitneszt).

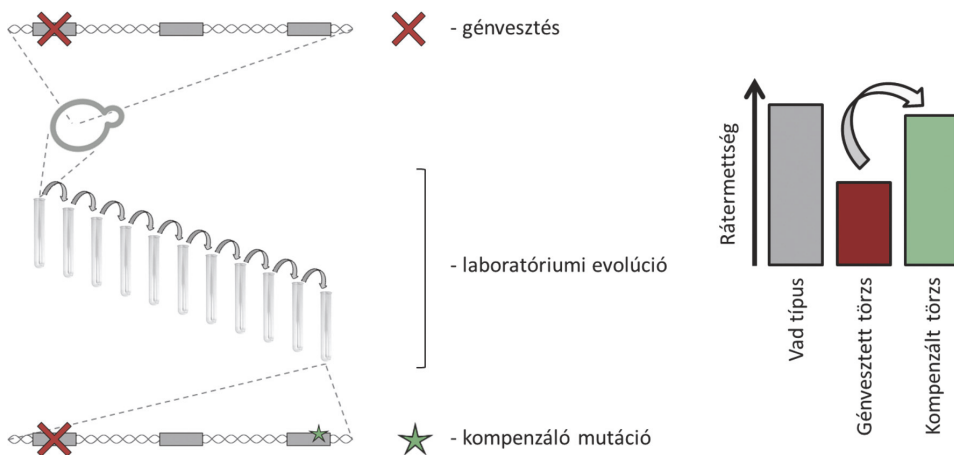
De vajon mi magyarázza a sokféleséget a sejt molekuláris alkotóinak szintjén? Az utóbbi évtizedekben a technikák fejlődésével egyre több molekuláris eredmény és adat halmozódott fel. Ezek vizsgálata révén a 20. század második felében kiderült, hogy molekuláris szinten rengeteg változás nem adaptáció, hanem az úgynevezett neutrális evolúció eredménye. Motoo Kimura munkássága során arra a felfedezésre jutott, hogy a DNS-szekvenciában a fajok között található különbségek döntő többsége nem okoz előnyt az adott faj egyedeinek, ugyanakkor nem is káros, azaz neutrális (Kimura, 1968). Érvelése szerint a darwini nézettel ellentétben nemcsak az a mutáció terjedhet el egy populációban, ami előnyös, hanem minden, ami nem hátrányos (bár jóval kisebb valószínűséggel). Míg az előnyös mutációk elterjedését a természetes (pozitív) szelekció segíti elő, a neutrális mutációk a generációk során véletlen mintavételi hibák sorozatával terjedhetnek el. Hogyan történhet ez? Egy populáció különböző egyedei nem ugyanannyi utóddal járulnak hozzá a következő generációhoz. Egyesek elpusztulnak, mielőtt szaporodhatnának, mások utódait felfalja egy ragadozó, vagy betegség áldozatául esnek. Ezeknek az eseményeknek a valószínűségét az egyed speciális, a fajtársaitól eltérő tulajdonságai természetesen nagyban befolyásolják, de még ha minden egyed teljesen egyforma lenne is egy populációban, akkor sem hozna mindegyikük létre ugyanannyi utódot, hiszen a szaporodást számos véletlenszerű esemény befolyásolja. Ezt a folyamatot nevezzük genetikai sodródásnak, melynek vizsgálata a populációgenetika tárgya. Kimura felfedezése óta egyre több evolúciós változás eredetében merül fel a neutrális evolúció szerepe. Fris-

sebb kutatások olyan bonyolult és látszólag adaptív jellegek esetében is felvetik a neutrális mutációk konstruktív szerepét, mint a fehérjék komplexekbe szerveződése, a jelátviteli hálózatok bonyolultsága vagy az eukarióta genom méret nagymértékű növekedése a baktériumokhoz képest (Lynch, 2007; Finnigan et al., 2012).

Mára az adaptív folyamatok mellett a neutrális evolúció szerepe is elfogadottá vált. Ugyanakkor az előnyös és semleges mutációk elterjedése mellett ismert jelenség, hogy akár káros mutációk is elterjedhetnek a populációkban, például genetikai sodródás vagy előnyös mutációhoz történő kapcsoltság által. Mivel ez a folyamat a népeiségre nézve hátrányos (legalábbis rövid távon), ezért a káros mutációk konstruktív evolúciós szerepe kevés figyelmet kapott. Igen ám, de egy ilyen káros mutáció megjelenése következtében úgynevezett kompenzáló evolúció indulhat el a populációban. Kompenzáló evolúciónak nevezzük azt a folyamatot, amikor egy vagy több káros mutáció hatására bekövetkező fitneszcsökkenést egy másik mutáció részben vagy egészben kijavít. Az ilyen kompenzáló mutációk előnyösek, terjedésükért alapvetően a természetes szelekció felelős, akárcsak a környezeti adaptációt növelő mutációk esetében. Számos biológiai rendszerben mutatták ki a kompenzáló evolúciót mind laboratóriumi körülmények között, mind a természetben. Például Andrew Kern és Fyodor Kondrashov kompenzáló evolúció nyomát találták humán és más emlős mitokondriális transzfer RNS- (tRNS-) szekvenciák összehasonlításakor (Kern–Kondrashov, 2004). Azt találták, hogy egy nukleotidcsere, amely a tRNS szerkezetét destabilizálja, gyakran egy másik nukleotidcserével együtt fordul elő, ami ezt a káros szerkezetváltozást kompenzálja. A kompenzáló evolúció jól ismert, klinikailag is fontos példája az antibiotikum-rezisztenciával függ össze (Andersson–Levin, 1999). Amikor egy baktériumpopuláció egy antibiotikum ellen rezisztenciát alakít ki, akkor a rezisztenciát okozó mutációknak gyakran vannak a baktériumra nézve káros mellékhatásai, amelyek csökkentik az osztódási sebességet. Ez a káros hatás kompenzáló evolúciót indukálhat, azaz olyan mutációk elterjedését segítheti elő, amelyek helyreállítják a rezisztens törzs osztódási sebességét.

Vajon elképzelhető-e, hogy a káros és kompenzáló mutációk sorozata is hozzájárul az evolúció során kialakult biológiai sokféleséghez? Ez a lehetőség egy egészen új evolúciós világképet sugall, ugyanis a természetes szelekció ez esetben is fontos szerepet játszana a fajok közötti különbségek kialakításában, de mégsem vezetne a környezethez való tökéletesebb alkalmazkodáshoz. Arra már számos bizonyítékunk van, hogy a kompenzáló evolúció valóban szerepet játszik a fajok közötti genomi különbségekben (lásd tRNS-szekvenciák evolúciója), de a génszabályozási vagy anyagcsere-hálózatok evolúciójában betöltött lehetséges szerepéről eddig kevés ismeretünk volt (Goncalves et al., 2012; McManus et al., 2014; Fong et al., 2006).

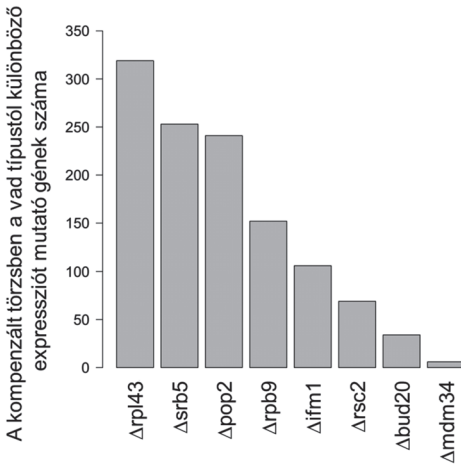
A kompenzáló evolúció következményeinek mélyebb megismeréséhez a korábbi esettanulmányok helyett nagy léptékű, módszeres vizsgálatokra van szükség. Nemrég kollégáinkkal azt a célt tűztük ki, hogy laboratóriumi evolúciós kísérletekben megvizsgáljuk teljes gének elvesztésének kompenzációját, és mindezt több száz génre megismételjük, hogy általános képet kaphassunk a folyamatról (Szamecz et al., 2014). A génvesztés evolúciós kompenzációja különösen érdekes vizsgálati téma, ugyanis ilyenkor nemcsak módosul egy meglévő génfunkció, hanem teljesen el is veszik. Mivel egy elvesztett gén visszaállítása rendkívül valószínűtlen, ezért az evolúciónak más génekben bekövetkező kompenzáló mutációk révén kell csillapítania a rátermettség csökkenését. Munkánk során sörlesztőben (*Saccharomyces cerevisiae*) az összes olyan génkiütött törzset evolváztattuk a laboratóriumban, amely törzsekben az adott gén elvesztése csökkentette az egyedek rátermettségét (a sejtosztódás sebességét), ugyanakkor életképes maradt az organizmus (1. ábra). A laboratóriumi evolúció végén újra megvizsgáltuk a törzseinket. Meglepődve tapasztaltuk, hogy a gének többségének (68%) elvesztését képes volt kompenzálni a sörlesztő, még hozzá egy evolúciós időskálán pillanatnyinak tűnő idő alatt. A kompenzáció mértéke ráadásul igen jelentős volt, a törzsek nagy hányada megközelítette a vad típusú, azaz génvesztésen át nem esett törzs osztódási sebességét.



1. ábra. A kompenzáló evolúció laboratóriumi vizsgálatának sematikus ábrája.

A kezdeti génvesztés a sörlesztő rátermettségének csökkenését okozza. A laborevolúció során kompenzáló mutáció(k) elterjedésével a rátermettség akár a vad típus szintjére is visszaáll.

Tehát a kompenzáció gyakran megtörténhet, gyors folyamat, és nagy mértékben csillapítja a kezdeti fitnesszromlást. Kérdés azonban, hogy milyen hatással lehet a kompenzáció az evolúció menetére. Bár lehet, hogy a rátermettség végül



2. ábra. A kompenzált törzsek génextpressziós mintázata a vad típussal összehasonlítva sok génben nagyarányú változásokat mutat. Az ábra a legalább 1,7-szeres, szignifikáns különbségeket mutató gének számát ábrázolja különböző génesztést elszenvedő evolált törzseken.

Forrás: Szamecz et al., 2014

az eredeti vad típushoz nagyon hasonló értéket vesz fel, a káros és kompenzáló mutációk megjelenése nemcsak genotípusos, hanem fenotípusos változatosságot is eredményezhet. Ez azt jelentheti, hogy a ma megfigyelt változatosság egy része nemcsak az adaptív és neutrális evolúció, hanem a kompenzáló evolúció terméke is lehet.

A kompenzációt mutató törzsek evolúciós elkülönülését először a génszabályozás mint molekuláris fenotípus szintjén vizsgáltuk. A sörélesztő minden egyes génjének expresszióját (kifejeződését) lemértük néhány törzsben, és azt találtuk, hogy a kompenzációt mutató törzsek az eredeti vad típushoz képest nagyon különböző expressziós mintázatot mutatnak, azaz számos gén szabályozása megváltozott a vadhoz képest (2. ábra). Ez az eredmény két fontos tanulsággal is szolgál. Egyrészt

kompenzáció során a sejt nem egyszerűen csak helyettesítette a kieső génfunkciót, hanem olyan új állapotba került, ahol már nincs szükség a kiejtett molekuláris funkcióra. Másrészt az eredmény arra is utal, hogy a sejt génszabályozási „áramkörre” jelentősen átrendeződhet anélkül, hogy evolúciós alkalmazkodás történne új környezethez. Ez utóbbi azért is fontos megállapítás, mert a természetben is jelentős evolúciós változások figyelhetők meg a különböző fajok génszabályozásában (Tirosh et al., 2006; Brawand et al., 2011), s így felmerül a lehetősége annak, hogy részben emögött is kompenzáló evolúció áll. További vizsgálatoknak kell eldönteniük, hogy a laboratóriumi kísérleteinkben megfigyelt génextpressziós változások mennyire képesek leírni a természetben látott mintázatokat. Hasonlóan izgalmas kérdés lesz, hogy a sejt más molekuláris fenotípusait, például metabolikus hálózatának működését, hogyan formálja a kompenzáló evolúció.

Vajon milyen hatással volt a kompenzáló evolúció az élesztőtörzsek rátermettségére eltérő környezetekben? Ha a kompenzáció során tökéletesen sikerült volna helyettesíteni a kieső génfunkciót, akkor azt várnánk, hogy a sejt rátermettsége minden olyan környezetben feljavuljon, ahol a génesztésnek káros hatása volt. E kérdés megválaszolására minden kompenzációt mutató törzsünk osztódási sebességét lemértük tizennégy különböző környezetben (különböző tápanyagok és stressztényezők mellett). Az eredeti tápoldatban ezek a törzsek a vad típusú

osztódási sebességet közelítették meg, ugyanakkor a környezet megváltoztatásával a kompenzáció sokkal változatosabb hatásait találtuk. Míg a környezetek egy részében az eredeti környezethez hasonlóan a kezdeti génvesztés káros hatása enyhült a laborevolúció során, meglepő módon több környezetben ezzel ellentétes hatást láttunk, és a kezdeti káros hatás fokozódott. Ez az eredmény két jelenségre is rámutat. Egyrészt a kompenzált törzsek nagy fenotípusos változatoságot halmoztak fel, ami az eredeti környezetben rejtve maradt, de új környezetekben feltárul. Másrészt az eredmény rávilágít arra, hogy a kompenzáló mutációknak is lehetnek káros mellékhatásai, amelyek egy új környezetben további evolúciós adaptációt indíthatnak el. Ezek alapján felmerül a kérdés: Lehetséges-e, hogy a molekuláris szinten megfigyelt adaptív evolúciós változások jelentős része korábbi mutációk (károsak és előnyösek) mellékhatásainak kompenzációjáról szól (Pavlicev–Wagner, 2012)? Ha ez így volna, az jelentősen átalakítaná a sejt molekuláris hálózatairól alkotott képünket: számos molekuláris részlet csak a hálózat más pontjain bekövetkezett káros hatások ismeretében értelmezhető. A technológiai fejlődésnek köszönhetően, a következő években egyre több információ fog felgyűlni a molekuláris hálózatok fajok közötti és laboratóriumi evolúciójáról, ami segít megválaszolni ezt a kérdést is.

IRODALOM

- Andersson, D. I. – Levin, B. R. (1999): The Biological Cost of Antibiotic Resistance. *Current Opinion in Microbiology*, 2: 489–493. DOI: 10.1016/S1369-5274(99)00005-3
- Brawand, D. – Soumillon, M. – Necsulea, A. et al. (2011): The Evolution of Gene Expression Levels in Mammalian Organs. *Nature*, 478, 343–348. DOI:10.1038/nature10532, https://www.researchgate.net/publication/51731202_The_evolution_of_gene_expression_levels_in_mammalian_organs
- Finnigan, G. C. – Hanson-Smith, V. – Stevens, T. H. et al. (2012): Evolution of Increased Complexity in a Molecular Machine. *Nature*, 481,360–364. DOI:10.1038/nature10724
- Fong, S. S. – Nanchen, A. – Palsson, B. O. – Sauer, U. (2006): Latent Pathway Activation and Increased Pathway Capacity Enable Escherichia Coli Adaptation to Loss of Key Metabolic Enzymes. *Journal of Biological Chemistry*, 281, 8024–8033. DOI: 10.1074/jbc.M510016200, <http://www.jbc.org/content/281/12/8024.full>
- Goncalves, A. – Leigh-Brown, S. – Thybert, D. et al. (2012): Extensive Compensatory Cis-Trans Regulation in the Evolution of Mouse Gene Expression. *Genome Research*, 22, 2376–2384. DOI: 10.1101/gr.142281.112, <https://genome.cshlp.org/content/22/12/2376.long>
- Kern, A. D. – Kondrashov, F. A. (2004): Mechanisms and Convergence of Compensatory Evolution in Mammalian Mitochondrial tRNAs. *Nature Genetics*, 36, 1207–1212. DOI:10.1038/ng1451, <https://www.nature.com/articles/ng1451>
- Kimura, M. (1968): Evolutionary Rate at the Molecular Level. *Nature*, 217, 624–626. DOI:10.1038/217624a0, <http://www.sns.ias.edu/~tlusty/courses/landmark/Kimura1968.pdf>
- Lynch, M. (2007): The Frailty of Adaptive Hypotheses for the Origins of Organismal Complexity. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 104, 8597–8604. DOI: 10.1073/pnas.0702207104, http://www.pnas.org/content/104/suppl_1/8597.long

- Mcmanus, C. J. – May, G. E. – Spealman, P. – Shteyman, A. (2014): Ribosome Profiling Reveals Post-Transcriptional Buffering of Divergent Gene Expression in Yeast. *Genome Research*, 24, 422–430. DOI: 10.1101/gr.164996.113, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3941107/pdf/422.pdf>
- Pavlicev, M. – Wagner, G. P. (2012): A Model of Developmental Evolution: Selection, Pleiotropy and Compensation. *Trends in Ecology & Evolution*, 27, 316–322. DOI: 10.1016/j.tree.2012.01.016
- Szamecz B. – Boross G. – Kalapis D. et al. (2014): The Genomic Landscape of Compensatory Evolution. *Plos Biology*, 12, E1001935. DOI: 10.1371/journal.pbio.1001935, <http://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.1001935>
- Tirosh, I. – Weinberger, A. – Carmi, M. – Barkai, N. (2006): A Genetic Signature of Interspecies Variations in Gene Expression. *Nature Genetics*, 38, 830–834 DOI:10.1038/ng1819