

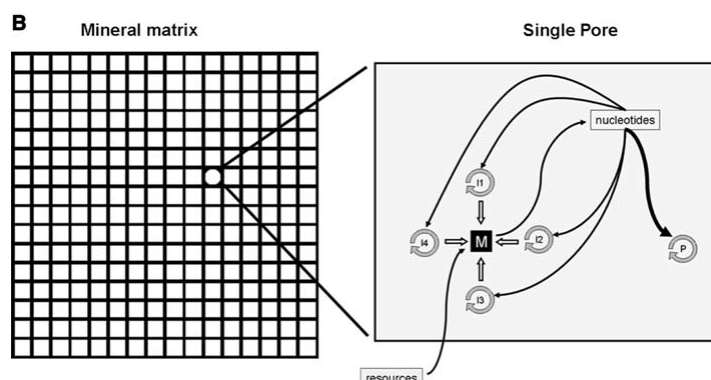
Zárójelentés

Az élet keletkezésének és jelenkori modellorganizmusok evolúciójának számítógépes vizsgálata

Pályázatunk súlyponti témája az élet keletkezésének és korai evolúciójának vizsgálata volt, de kutatásaink kiterjedtek az evolúciós folyamatok további területeire (evolúció az agyban, együttműködés, virulencia) is. Eredményeinket zömmel nyílt hozzáférésű folyóiratokban publikáltuk, egyéb esetekben a szerzői kéziratokat az MTA REAL archívumának honlapján tettük elérhetővé (a legfrissebb, nem nyílt hozzáférésű cikk kéziratát az előírt várakozási idő után fogjuk feltölteni az archívumba). A kutatási témák tárgyalásánál az evolúciós folyamatok időbeli, illetve logikai sorrendjét követjük (eltérve az eredeti munkatervben használt sorrendtől).

Ásványokhoz kötött dinamika a sejtes korszak előtt

A mai élő rendszerek működése és pontos öröklődése több ezer enzim működésén alapszik, és a sejtes szerveződéshez köthető. Kérdés, hogy az evolúcióban egy ilyen rendszer hogyan épülhetett fel lépésről lépésre, aminek eredményeként megjelenhettek a legkorábbi elősejtek. Abból a feltételezésből indultunk ki, hogy az enzimszisztéma még a sejtes stádium előtt, bizonyos ásványi felszínekhez kötött anyagcsere kontextusában jelent meg, amely primitív RNS-szerű replikátorok másolásához szükséges nyersanyagokat tudott termelni, alkalmasint a replikátorok enzimatiszisztéma segítségével. „Highly accessed” cikkben mutattuk meg (sejtautómata módszerrel szimulált dinamika segítségével), hogy a különböző belső kompetítorok közötti replikáció nem öli meg a rendszert, viszont a velük együttélő paraziták időnként hasznos funkcióra evolválódnak: ilyen pl. a replikáz aktivitás [1]. A replikáz még akkor is evolválódik, ha a saját replikációja lassul, mert a segítség a metabolizmust segítő replikátorok gyorsabb replikációja révén megtérülhet.



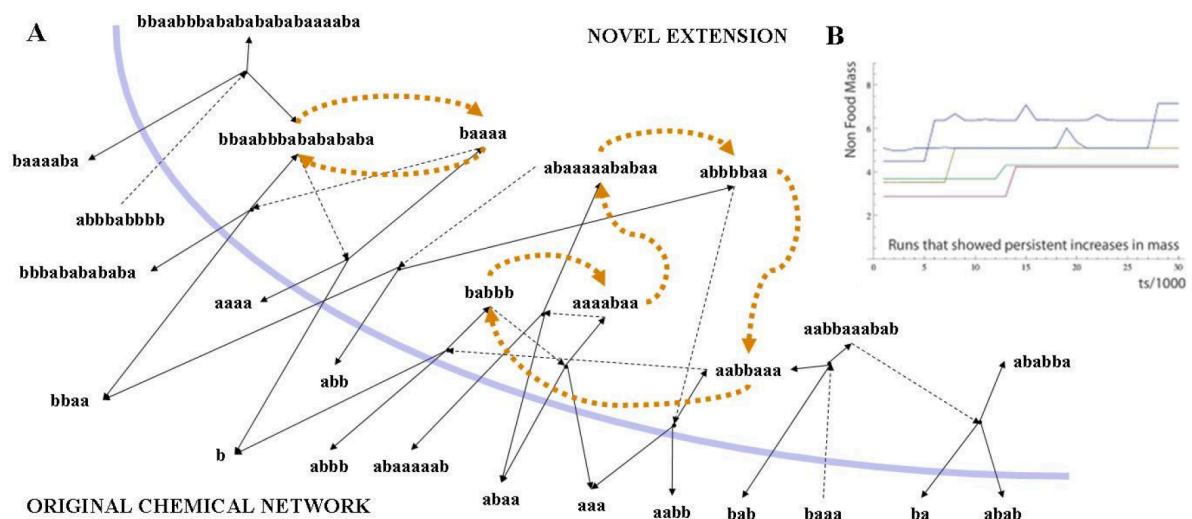
1. ábra. Replikálódó templátok a porusokban. Az M metabolizmusra hatva a templátok elősegítik a nukleotidok keletkezését, melyekből a paraziták (P) is táplálkoznak.

További kapcsolódó munkánkban a porózus felszínhez kapcsolt metabolizmus térbeli tagoltságának hatásait vizsgáltuk meg részletesebben numerikus szimuláció segítségével [2]. A modellben potenciálisan minden porusban folyhat metabolizmus és replikáció is (1. ábra): a fenntartható molekulák száma egy porusban a metabolizmusnak a ribozimek által katalizált hatékonyságától, illetve a

pórus méretétől függött. A pórusok között lassú áramlást engedtünk meg, ennek ellenére azt tapasztaltuk, hogy az egymással kompetícióban lévő templátok nem feltétlenül szorítják ki egymást, illetve a paraziták sem ölik meg a rendszert.

Korai molekuláris rendszerek evolvabilitásának vizsgálata

Az élet keletkezésének egyik legérdekesebb kérdése magának az evolválhatóságnak az eredete. Noha sokan hisznek a korai RNS-világ létében, kevesen gondolják, hogy a „semmitből” hirtelen színre ugrott volna. Ezért sokan felteszik a kérdést, hogy még az RNS-gének előtt lehettek-e evolválhatós kémiai ágensok. Az egyik ilyen javaslat Doron Lancet GARD-modellje, melyben különböző lipidekből álló és növekvő aggregátumok (micellák, liposzómák stb.) osztódása szerint öröklődést mutat és darwini evolúcióhoz vezet. Vizsgálatunk szerint [3] ez az állítás hamis. Sikeresen levezettünk egy Eigen-egyenletet az aggregátumok populációjának jellemzésére, melyből kitűnt, hogy a mutációs ráták extrém nagysága megakadályozza a természetes szelekció működését. A vissza-visszatérő kevés komposzóma-típus mindegyikét néhány erőteljesen kölcsönható molekulatípus dominálja, melyek időnként véletlenszerűen átadhatják egymásnak a helyet: kumulatív adaptációkról szó sem lehet.



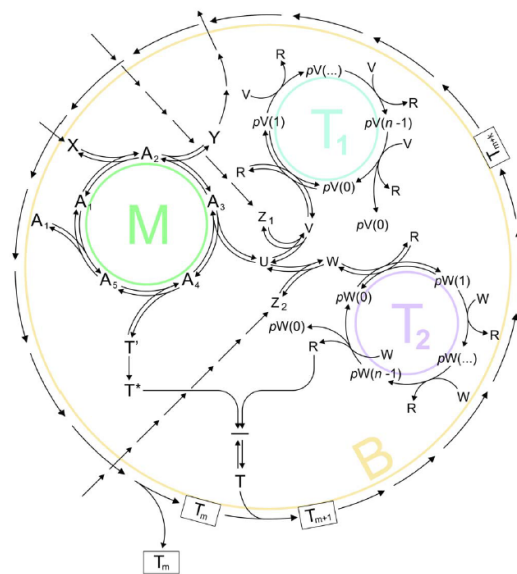
2. ábra. Autokatalitikus oligomer hálózatok templátreplicáció nélkül. A jobb oldali ciklus később jelent meg, és erősebb növekedést eredményezett.

Legnagyobb meglepetésünkre más a helyzet a Kauffman által bevezetett reflektív autokatalitikus fehérje-hálózatokkal ([4]; „highly accessed” közlemény: néhány nap alatt a folyóirat havi letöltési statisztikájának élére került). Ha elfogadjuk, hogy ilyen hálózatok egyáltalán lehetségesek (úgy tűnik, a paraméterek nem túl szűk tartományában ez így is van), abból még nem következik, hogy természetes szelekcióval evolválódhatnak. Vizsgálataink szerint oldatban nem is tudnak – feltétlenül szaporodó kompartmentekbe kell őket helyezni. Az evolvabilitáshoz még gátló kölcsönhatásokra is szükség van, melyek olyan alternatív attraktorok létét engedik meg, amelyek aztán valódi

öröklékenységet eredményeznek. Amennyiben a nem katalizált háttér-reakciókból néha valamelyik a katalitikus hálózat részévé válhat, úgy alternatív autokatalitikus magok jelennek meg (2. ábra), melyek közül a hatékonyabbak gyorsabban növelik a biomasszát, ami a kompartmentek – szelektálható – gyorsabb növekedésében nyilvánul meg. Az öröklődés korlátos (az alternatív, „életképes” hálózatok száma szerény), így az evolúció sem nyitott végű – ehhez az RNS-ek megjelenése továbbra is szükségesnek látszik.

Protosejt-dinamika

A chemoton modell a sejt szerveződésén alapuló élő rendszerek minimálmodellje. Sztochasztikusan szimuláltunk egy olyan chemoton modellt, melyben kétféle monomerből is képződhetnek makromolekulák templátreplikáció révén (3. ábra) [5]. Megerősítettük, hogy a chemoton a sztochasztikus dinamika esetén is stabilan működik: az ún. adaptálódott állapotban a generációk közötti variáció elég kicsi. Meglepetésünkre azt találtuk, hogy a V és a W monomerekből álló templátok koegzisztálnak a chemotonban, noha az U molekula mind a V, mind a W közös előanyaga, így a templátok kompetícióban vannak egymással. A jövőben megvizsgáljuk, hogy itt egyszerűen a Gause-elv érvényesüléséről van-e szó, vagyis igaz-e, hogy n monomeren csak $N \leq n$ különböző sorrenddel rendelkező templát élhet együtt.



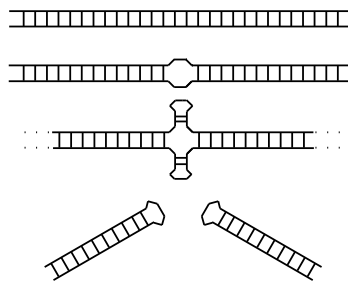
3. ábra. Egy chemoton model topológiája. Az M a metabolikus ciklus A_i intermedierekkel, a membrán előanyaga a T^* . A V és W monomerekből álló templátok közös előanyaga az U, melyet szintén az anyagcsere ciklus termel.

Kapcsolódó projektünkben a sztochasztikus korrektor modellben elemeztük a templátok közötti munkamegosztásból esetlegesen származó előnyöket és a komplexitás ezzel kapcsolatos növekedését [6]. A komplikált analízis legfontosabb üzenete az, hogy a modellben korábban használt osztódási kritérium (az osztódik elsőnek, aki legelőször eléri a kritikus össz-templátszámot) túl nagy teret enged a parazitáknak. A jövőben vizsgálandó, milyen reálisan implementálható osztódási kritériummal lehetne ezt helyettesíteni. Végül e témához kapcsolódóan könyvfejezetet is megjelentettünk [7].

Hosszú templátok replikációjának evolúciója

Az RNS másolása komplementer szálal eredményez, amely a másolt szálhoz hibridizálódik. A hibridizált (kettős szálú) állapotban az RNS molekula nem képes enzimeként működni és nem is

másolható. Azt vizsgáltuk, hogy a szálak szétválása prebiotikus körülmények között hogyan valósulhatott meg. Először beláttuk, hogy általános szekvenciára a spontán szálszétválás 100°C alatt nem lehetséges. Egyes kivételes szekvenciák esetén, amelyeket evolúciós algoritmussal találtunk meg, akár 37°C-n elkezdődik néhány százalékos szétválás, és 75°C körül lényegében teljes szálszétválás



4. ábra. A szálszétválás egy lehetséges mechanizmusa. A kettős szál belsejébe ékelődő kis molekula (nincs feltüntetve) lehetővé teszi az intramolekuláris hajtúkanyart, amelynek fokozatos növekedése elvezethet a szálak szétválásához.

figyelhető meg. A nyíltabb ribozim szerkezetek esetében – például az igen gyakori strukturális elemekből álló hajtúkanyar ribozim ilyen – ez a fajta szétválás nem lehetséges.

Ezt követően megvizsgáltuk, hogy egy kis méretű szekvencia képes-e „ékként” működve elérni, hogy a termodinamikailag legkedvezőbb konfiguráció ne a kettős szál legyen. Azt kaptuk, hogy amennyiben egy legalább 6 nukleotid hosszú ék kerül a kettős szál belsejébe – ami annak dinamikus mozgása közben molekulárisan elképzelhető –, akkor a kettős száznál termodinamikailag kedvezőbbé válik egy intramolekuláris hajtúkanyar. Ez lehetővé teheti a szál fokozatos szétválását (4. ábra). Ez az elméleti úton levont következtetés kísérletes megerősítést igényel, ezért eredményeink publikálását későbbre halasztottuk.

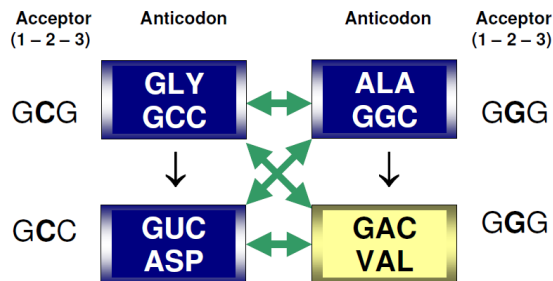
Az RNS világ és a hibaküszöb

Az RNS világban az információt független replikátorok (RNS molekulák) hordozhatták, és az információ fennmaradásához (így az evolúcióhoz) elengedhetetlen volt, hogy a replikátorok elég pontosan másolódjanak. A hibaküszöb az a mutációs ráta, amely felett az információ (szekvenciális vagy szerkezeti) nem tartható fent. Korábbi kutatásunkban kimutattuk, hogy a szerkezeti információ magasabb mutációs ráta mellett is fenntartható. Most arra kérdeztünk rá, milyen szerkezeti tulajdonság függ össze leginkább a hibaküszöbvel. Rövid szekvenciákra analitikusan kiszámoltuk a hibaküszöböt, és megállapítottuk, hogy a szekvenciától egy mutációval különböző azonos szerkezetű szekvenciák átlagos száma a meghatározó karakterisztika. Ez alapján tetszőleges szekvenciára, illetve szerkezetre meg tudjuk jósolni a hibaküszöböt. In vitro evolválatott, valós ribozimek elemzése alapján kijelenthetjük, hogy az enzimműködéssel rendelkező szekvenciák igen ellenállóak a mutációkkal szemben. Eredményeinkből hamarosan tudományos közleményt jelentetünk meg.

A genetikai kód eredete

A genetikai kód eredete „notóriusan nehéz” probléma. Az új adatok fényében megvizsgáltuk annak a forgatókönyvnek a realitását, mely szerint mind a tRNS-ek, mind a szintetáz enzimek „kettős szálú kódolásból” erednek, vagyis a kialakulásukban szerepet játszó RNS-eknek mind a pozitív, mind a negatív szála hasznosulhatott [8]. Meggyőzően érveltünk amellett, hogy ennek mind a ribozim, mind a

fehérje alapú szintetázok esetében is így kellett lennie. Az a kényszer, hogy az egyszerű ribozimes szintetázok sem keverhették össze a különböző komplementer és nem komplementer tRNS-elődöket az aminoacilálás során, megadja, milyen aminosavakat lehetett közel egy időben bevonni a kódszótárba. Ennek egyik folyománya, hogy a legkorábban kódolt aminosavakról is mondhatunk valamit: az 5. ábrán látható tetrád komplementer antikodonú aminosavai az elsők között lehettek.



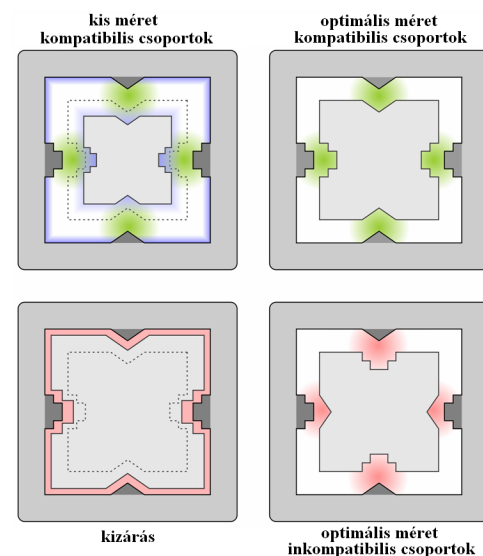
5. ábra. A legkorábbi aminosav tetrád. Az Asp katalitikusan is fontos. Látható, mely antikodonok komplementerek egymással.

Ezt a gondolatmenetet kiterjesztettük és összekapcsoltuk a genetikai kód eredetéről szóló Szathmáry-féle „kódoló koenzim fogantyú” hipotézisre, melyben az aminosavak párhuzamosan, részben szerkezeti, részben katalitikus előnyük révén léptek be a genetikai kódba ([9], „highly accessed”). Megmutattuk, hogy a pre-tRNS-ek egy csoportja az előbbi, a velük komplementer tRNS-ek pedig az utóbbi aminosavakhoz rendelődtek. A

gondolatmenet egy előnyös következménye, hogy magyarázatot tudunk adni rá, miként növekedhettek a különböző aminosavakhoz rendelt tRNS-ek mintegy párhuzamosan a mai méretűre. A témához kapcsolódóan két könyvfejezetet is megjelentettünk [10, 11].

A komplex anyagcsere evolúciója

A komplex anyagcserével rendelkező sejtes szerveződésű élet alighanem az RNS világ idején fejlődhetett ki, mikor az RNS egyszerre információhordozóként és enzimként is funkcionált. Az első sejtekben tág specificitású enzimek működhettek. Megvizsgáltuk, mikor, illetve milyen feltételek mellett válhatták fel az ősi, generalista enzimeket a mai organizmusokra jellemző szűk specificitású enzimek. Modellünkben a szubsztrátumok téglatestek, lapjaikon a katalízishez szükséges funkciós csoportokkal, míg az enzimek evolválódó méretű, funkciós csoportokkal ellátott téglatest-üregek. Optimális enzimméret és a funkciós csoportok megfelelő találkozása esetén létrejön a katalízis, míg rossz orientáció vagy nem megfelelő enzimméret esetén nem jön létre, illetve kis hatásfokkal keletkezik hasznos katalitikus termék (6. ábra). Enzimkatalizált reakciólánc



6. ábra. Megfelelő alak, de túl nagy enzim-méret esetén a katalízis hatásfoka kicsi (bal felső ábra), optimális méret és alak mellett a katalitikus hatásfok nagy (jobb felső), túl kis enzimméret mellett a szubsztrátum kizáródik (bal alsó), megfelelő méretű enzim, de rossz orientáció esetén haszontalan melléktermék keletkezik (jobb alsó).

numerikus szimulációjával megmutattuk, hogy a specialista enzimek elsősorban a kromoszóma megjelenése után alakulhattak ki. A független enzimeket tartalmazó protosejtek evolúciója a generalista enzimeknek kedvez, mivel kevesebb féle enzim mellett kisebb a kockázata, hogy a sejtek osztódása során valamely kulcsfontosságú enzim az egyik utódsejtből (a véletlen szegregáció során) kimarad. A kromoszómák kialakulása (a replikátorok/enzimek egymáshoz kapcsolásával) kiküszöbölte ezt a problémát, így megnyílt az út az enzimek specializációja felé, ami javítja a metabolizmus hatékonyságát, csökkenti a mellékreakciók okozta veszteséget, és megteremti a specifikus szabályozás evolúciójának lehetőségét. Eredményeinket nemzetközi konferencián mutattuk be, jelenleg a tudományos közlemény kéziratán dolgozunk.

Kitekintés

A korai evolúció súlyponti témája mellett további evolúciós kérdésekkel is foglalkoztunk a pályázat futamideje alatt. A replikátorok fogalma, illetve típusaik osztályozása és jellemzése általános elvi jelentőséggel bír az evolúció elmélete számára: egy tudományos közleményben [12], egy megjelent [13] és egy megjelenés alatt álló [14] könyvfejezetben foglalkoztunk ezzel a kérdéssel. A kooperáció eredete és fennmaradása szintén központi problémája az evolúcióbiológiának. „Highly accessed” cikkünkben megmutattuk, hogy az altruizmus kezdeti terjedése – bizonyos feltételek teljesülése esetén – rokonszelekció nélkül, pusztán „genetikai potyautas” mechanizmus révén megvalósulhat [15]. Három további cikkben vizsgáltuk, milyen hatást gyakorol a populáció, illetve a kapcsolati hálózat szerkezete a kooperáció evolúciójára [16-18]. Részt vettünk egy új szekvenciaelemző módszer kidolgozásában, amely a korábbi módszerektől gyökeresen eltérő elv alapján ad megbízható filogenetikai rekonstrukciót [19]. Metaanalízis segítségével vizsgáltuk a HIV vírus virulenciájának (betegségkeltő képességének) időbeli változásait: emelkedő trendet találtunk, aminek a háttérében evolúciós folyamatok (is) húzódnak [20]. Komolyabban foglalkoztunk az agyműködés olyan folyamataival, amelyek a természetes szelekció elvén működhetnek [21, 22], valamint a nyelvkészség eredetével és evolúciójával [23, 24]. Végül a *Science* folyóirat hasábjain súlyos kritikával illettük [25] azt az ott megjelent cikket, amely foszfor helyett arzént használó baktériumok (megkérdőjelezhető) felfedezését adta hírül. Megmutattuk, hogy az eredeti közlemény statisztikailag hibás, a bemutatott bizonyítékok pedig biokémiai szempontból sem érnek sokat.

Irodalom

1. Könnyű, B.; Czárán, T.; Szathmáry, E. Prebiotic replicase evolution in a surface-bound metabolic system: parasites as a source of adaptive evolution. *BMC Evol. Biol.* **2008**, *8*, 267.
2. Branciamore, S.; Gallori, E.; Szathmáry, E.; Czárán, T. The origin of life: chemical evolution of a metabolic system in a mineral honeycomb? *J. Mol. Evol.* **2009**, *69*, 458-469.
3. Vasas, V.; Szathmáry, E.; Santos, M. Lack of evolvability in self-sustaining autocatalytic networks constraints metabolism-first scenarios for the origin of life. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2010**, *107*, 1470-1475.
4. Vasas, V.; Fernando, C.; Santos, M.; Kauffman, S.; Szathmáry, E. Evolution before genes. *Biol Direct* **2012**, *7*, 1.
5. Zachar, I.; Fedor, A.; Szathmáry, E. Two different template replicators coexisting in the same protocell: stochastic simulation of an extended chemoton model. *PLoS One* **2011**, *6*, e21380.
6. Zintzaras, E.; Santos, M.; Szathmáry, E. Selfishness versus functional cooperation in a stochastic protocell model. *J. Theor. Biol.* **2010**, *267*, 605-613.
7. Griesemer, J.; Szathmáry, E., Gánti's chemoton model and life criteria. In *Protocells. Bridging nonliving and living matter.*, Rasmussen, S.; Bedau, M. A.; Chen, L.; Deamer, D.; Krakauer, D. C.; Packard, N. H.; Stadler, P. F., Eds. MIT Press: Cambridge, 2009; pp 481-512.
8. Rodin, A.S.; Szathmáry, E.; Rodin, S.N. One ancestor for two codes viewed from the perspective of two complementary modes of tRNA aminoacylation. *Biol Direct* **2009**, *4*, 4.
9. Rodin, A.S.; Szathmáry, E.; Rodin, S.N. On origin of genetic code and tRNA before translation. *Biol Direct* **2011**, *6*, 14.
10. Szathmáry, E., The genetic code and natural language: their nature, origins and relation. In *An den Grenzen des Wissens.*, Walde, P.; Kraus, F., Eds. Vdf Hochschulverlag AG an der ETH Zürich: Zürich, 2008; pp 185-207.
11. Kun, Á.; Pongor, S.; Jordán, F.; Szathmáry, E., Catalytic propensity of amino acids and the origins of the genetic code and the proteins. In *Codes of Life*, Barbieri, M., Ed. Springer Verlag: 2008; pp 39-58.
12. Zachar, I.; Szathmáry, E. A new replicator: a theoretical framework for analysing replication. *BMC Biol.* **2010**, *8*, 21.
13. Fernando, C.; Szathmáry, E., Chemical, neuronal and linguistic replicators. In *Evolution: The Extended Synthesis.*, Pigliucci, M.; Müller, G. B., Eds. MIT Press: 2010; pp 209-249.
14. Zachar, I.; Kun, Á.; Fernando, C.; Szathmáry, E., Replicators - From molecules to organisms. In *Handbook of collective robotics - fundamentals and challenges.*, Kernbach, S., Ed. Pan Stanford Publishing: 2012.
15. Santos, M.; Szathmáry, E. Genetic hitchhiking can promote the initial spread of strong altruism. *BMC Evol. Biol.* **2008**, *8*, 281.
16. Kun, Á.; Scheuring, I. Evolution of cooperation on dynamical graphs. *BioSyst.* **2009**, *96*, 65-68.
17. Kun, Á.; Boza, G.; Scheuring, I. Cooperators Unite! Assortative linking promotes cooperation particularly for medium sized associations. *BMC Evol. Biol.* **2010**, *10*, 173.
18. Szathmáry, E. Evolution. To group or not to group? *Science* **2011**, *334*, 1648-1649.
19. Jakó, E.; Ari, E.; Ittész, P.; Horváth, A.; Podani, J. BOOL-AN: a method for comparative sequence analysis and phylogenetic reconstruction. *Mol Phylogenet Evol* **2009**, *52*, 887-897.
20. Herbeck, J.T.; Müller, V.; Maust, B.S.; Ledergerber, B.; Torti, C.; Di Giambenedetto, S.; Gras, L.; Günthard, H.F.; Jacobson, L.P.; Mullins, J.I.; Gottlieb, G.S. Is the virulence of HIV changing? A meta-analysis of trends in prognostic markers of HIV disease progression and transmission. *AIDS* **2012**, *26*, 193-205.
21. Fernando, C.; Karishma, K.K.; Szathmáry, E. Copying and evolution of neuronal topology. *PLoS One* **2008**, *3*, e3775.
22. Fernando, C.; Szathmáry, E., Natural selection in the brain. In *Towards a Theory of Thinking.*, Glatzeder, B.; Goel, V.; von Müller, A., Eds. Springer/Parmenides book series: 2010; pp 291-322.
23. Szathmáry, E., Towards an understanding of language origins. In *Codes of Life*, Barbieri, M., Ed. Springer Verlag: 2008; pp 283-313.
24. Szathmáry, E.; Számadó, S. Being human: language: a social history of words. *Nature* **2008**, *456*, 40-41.
25. Csabai, I.; Szathmáry, E. Comment on "A bacterium that can grow by using arsenic instead of phosphorus". *Science* **2011**, *332*, 1149.