

Az evolúció és adaptáció bemutatása a *Saccharomyces cerevisiae* W303 törzs adenin hiányos színváltozásán keresztül

1. Elméleti háttér

Az evolúció és adaptáció a biológia két alapfogalma, amelyek az élő rendszerek változásait és alkalmazkodását írják le a környezethez. Az evolúció a genetikai információ generációról generációra történő változását jelenti, amely szelekciós nyomás, mutáció, rekombináció és genetikai sodródás révén valósul meg. Az adaptáció pedig az a folyamat, amely során egy populáció fenotípusos és genotípusos szinten alkalmazkodik a környezetéhez, így növeli túlélési esélyeit.

A laboratóriumi körülmények között az evolúció és adaptáció jelenségei jól tanulmányozhatók mikroorganizmusokkal, különösen élesztő- és baktériumtörzsekkel. Az *Saccharomyces cerevisiae* (sörélesztő) egy modellorganizmus, amelyet széles körben alkalmaznak genetikai, metabolikus és evolúciós vizsgálatokban, mivel genomja ismert, könnyen módosítható, és jól definiált laboratóriumi törzsei állnak rendelkezésre.

Az egyik leggyakrabban használt élesztőtörzs a W303, amely számos genetikai markert hordoz, többek között egy *ade2* mutációt, ami kulcsszerepet játszik az adenin-bioszintézis útvonalban. Ennek a mutációnak köszönhetően az élesztő adenin hiányos közegben piros színű pigmentet halmoz fel, míg adeninben gazdag táptalajon fehér marad. A pigmentképződés és annak eltűnése kiváló modell az adaptációs folyamat és mikroevolúciós változások szemléltetésére.

1.1 Evolúció és adaptáció

Az evolúció

Az evolúció a populációk genetikai összetételének időbeli változása. Charles Darwin természetes szelekció elmélete szerint az élőlények közötti változatosság és a környezeti tényezők közötti kölcsönhatás vezet az adaptációhoz. A modern evolúciós elmélet szerint az evolúció genetikai szinten értelmezhető, és a mutációk, rekombináció, szelekció, migráció és genetikai sodródás együttesen határozzák meg annak irányát és sebességét (Dobzhansky, 1973).

Az adaptáció

Az adaptáció egy folyamat, amely során egy populáció genetikailag és fenotípusosan alkalmazkodik a környezeti körülményekhez. Ez történhet:

- fiziológiai szinten (pl. anyagcsere-útvonalak szabályozása),
- fenotípusos plaszticitás révén (átmeneti változások),
- vagy genetikai adaptáció útján (öröklődő mutációk révén).

A mikroorganizmusoknál az adaptáció különösen gyorsan megfigyelhető, mivel rövid a generációs idejük és nagy populációméretük miatt a mutációk gyorsan fixálódhatnak (Lenski et al., 1991).

1.2 W303 törzs

Az *Saccharomyces cerevisiae* egy eukarióta mikroorganizmus, amelyet széles körben használnak a sejtciklus, genetika, anyagcsere, és evolúció tanulmányozására. A W303 törzs különösen alkalmas laboratóriumi vizsgálatokra, mivel genetikai háttere jól ismert, stabil, és számos auxotróf mutációt hordoz. Az *ade2-1* mutáció különös jelentőségű a jelen kísérlet szempontjából, mert ez a gén a purin (adenin) bioszintézis útvonal egyik kulcsenzimét, az 5'-foszforiboszilaminoimidazol karboxiláz enzimet kódolja. Mutációja esetén az útvonal megszakad, és egy piros színű intermedier, a foszforiboszil-aminoimidazol (AIR) halmozódik fel, ami a sejtek piros színét okozza (Jones & Fink, 1982).

1.3 A pigmentképződés mechanizmusa

A W303 *ade2* mutáns törzs pigmentképződése a purin bioszintézis zavarából fakad. Amikor a sejtek adenin mentes YPD táptalajon nőnek, a metabolikus útvonal blokkolódik az *ADE2* lépésnél, és a felhalmozódott köztes termék oxidálódik, piros pigmentet képezve. Ez a jelenség stabilan megfigyelhető, amíg a sejtek nem szereznek kompenzáló mutációkat más *ADE* génekben vagy szabályozó faktorokban.

Hosszabb inkubálás után azonban előfordulhat, hogy a kolóniák fehér szektorokat kezdenek mutatni – ez az adaptáció egyik jele. A fehér sejtek általában helyreállítják a purin-bioszintézist, vagy más módon elkerülik a pigment felhalmozódását. Így a kolónia piros-fehér csíkozottsága az evolúciós diverzifikáció vizuális megjelenése.

2. A kísérlet célja

A kísérlet célja az evolúciós és adaptációs folyamat szemléltetése a W303 *ade2* mutáns törzs segítségével, különböző adenin-ellátottságú környezetekben. A színbeli változások időbeli megfigyelése lehetőséget ad arra, hogy nyomon kövessük a mutációk és szelekció hatását, valamint a fenotípusos diverzitás kialakulását.

3. Anyagok és módszerek

3.1 Szükséges anyagok

- *S. cerevisiae* W303 (*ade2-1*) törzs, YPD táptalajon felnevesztett
- YPD táptalaj összetevők: élesztőkivonat, pepton, glükóz, agar, Adenin-szulfát, steril desztillált víz
- Steril petricsészék, mikropipetták, steril pipettahegyek
- steril szűrő, fecskendő
- falcon cső
- Mikroszkóp vagy digitális kamera

3.2 Táptalajok előkészítése

A táptalajokhoz az alábbiak alapján hozzáadjuk az összetevőket. 200 ml-er táptalajhoz, ami kb. 10 petricsészéhez elegendő az alábbiak szükségesek

1. **YPD alap táptalaj:** 2 g élesztőkivonat + 4 g pepton + 4 g glükóz + 4g agar + 200 ml desztillált víz. A keveréket a mikróban forralva sterilizáljuk.
2. **YPD folyékony oldat:** Ugyanazok az összetevők, mint az alap táptalajban csak agar nélkül
3. **Adenin oldat:** 20mg/ml koncentrációjú adenin oldatot készítünk majd steril fecskendő szűrő segítségével sterilizáljuk, mivel hőérzékeny, így nem forralható.
4. **YPD + adeninnel:** Ugyanaz, mint az alap YPD esetén. A mikros sterilizálás után, miután kb. kézmelegre hűlt hozzáadunk 0,2 ml-t a 20mg/ml koncentrációjú adenin oldatunkból, aminek így a végkoncentrációja: 20 mg/L.

A táptalajokat a szükséges mennyiségű petricsészékbe öntjük. Egy petricsészébe kb. 20-25 ml táptalaj kerüljön.

3.3 Élesztősejtek előkészítése és szélesztése

1. Az táptalajon lévő élesztő sejtekkel egy pipetta hegy segítségével beoltunk 2-5 ml folyékony YPD-t, kupakkal zárható kémcsövekben vagy falcon csövekben és egy éjszakán át rázatva növesztjük.
2. Másnap a sejteket két részletben hígítjuk 5 ml végtérfogatban. Először egy 1:1000 hígítást készítünk, majd a hígítottból ismét 1:1000-hez tovább hígítjuk, így 1:1000000 végső hígítást elérve.
3. A hígított sejtből 200 ul-t szélesztünk az adenint tartalmazó és adenint nem tartalmazó lemezekre.
4. A lemezeket hagyjuk nőni 2-14 napig szobahőmérsékleten és közben figyeljük, hogy a kinövő kolóniák színe hogyan változik.

4. Megfigyelés

Kolóniák színének naponta történő megfigyelése a különböző lemezeken. Mikor lesznek a kolóniák piros színűek az adenin nélküli lemezen? Mikor jelennek meg fehér szektorok a piros kolóniákban? Végig fehérek maradnak-e a kolóniák az adenin tartalmú táptalajon? Fényképek készítése a tapasztalatokról.

5. Eredmények és értelmezés

Az adenin tartalmú lemezeken a kolóniák fehér színűek maradnak míg W303 ade2 mutáns piros pigmentet képez adenin hiányos táptalajon. Hosszabb távon, több napos növesztés után a kolóniákban fehér szektorok jelennek meg. Ezek a sejtek olyan genetikai változásokat hordoznak, amelyek helyreállítják a purin-anyagcserét, vagy alternatív útvonalakat aktiválnak.



6 napos



14 napos

Ez a változás jól szemlélteti az adaptáció és evolúció folyamatát. Jól megfigyelhető, hogy a fehérre vált szektorok nem csak a színükben, hanem a növekedési gyorsaságukban is eltérnek. Így ez azt jelenti, hogy a mutáció kialakulása egy előnyt is biztosít a növekedésben, így ennek a kialakulása kedvező az élesztő törzs számára.

A W303 ade2 mutáns kísérlet egyszerű, de erőteljes modell az evolúciós adaptáció bemutatására. A pigmentképződés és eltűnés dinamikája jól reprezentálja a természetes szelekció alapelveit. A piros-fehér szektorozottság az evolúció vizuális lenyomata, amely a mikroorganizmusokban zajló genetikai folyamatok közvetlen megnyilvánulása

Hosszabb távú tenyésztéssel akár stabil, fehér populációk is kialakulhatnak, amelyek tovább vizsgálhatók genetikai szinten.

Az ilyen típusú kísérletek tökéletesek az evolúció és adaptáció megértéséhez, mivel a folyamatok vizuálisan megfigyelhetők, és a genetikai háttér pontosan ismert. A piros-fehér szektorozottság az evolúció vizuális lenyomata, amely a mikroorganizmusokban zajló genetikai folyamatok közvetlen megnyilvánulása.

Referenciák

1. Kokina, A., Kibilds, J., & Liepins, J. (2014). Adenine auxotrophy – be aware: some effects of adenine auxotrophy in *Saccharomyces cerevisiae* strain W303-1A. *FEMS Yeast Research*, 14(5), 697-707. <https://doi.org/10.1111/1567-1364.12154>
2. Ralser, M., et al. (2012). The *Saccharomyces cerevisiae* W303-K6001 cross-platform genome sequence: insights into ancestry and physiology of a laboratory mutt. *Open Biology*, 2, 120093. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3438534/>

3. Haarasilta, S. & Oura, E. (1975). On the activity and regulation of anaplerotic and gluconeogenic enzymes during the growth process of baker's yeast. *European Journal of Biochemistry*.
4. Yang, Z., et al. (2024). Dual auxotrophy coupled red labeling strategy for efficient genome editing in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Microbiological Methods*.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1087184524000471>
5. Ugolini, S. & Bruschi, C.V. (1996). The red/white colony color assay in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*: epistatic growth advantage of white *ade8-18, ade2* cells over red *ade2* cells. *Current Genetics*, 30, 485-492. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8939809/>
6. Pattison, J. R. & Plaut, G. W. E. (1965). Studies on the mechanism of adenine inhibition of purine biosynthesis. *Journal of Biological Chemistry*.
7. Spontaneous Mutation Laboratory Protocol - Kansas State University Yeast Genetics Resource <https://www.k-state.edu/gene/bb9.html>
8. Rebora, K., et al. (2001). Yeast AMP Pathway Genes Respond to Adenine through Regulated Synthesis of a Metabolic Intermediate. *Molecular and Cellular Biology*.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC99957/>
9. Jha, B., et al. (2016). Use of *ade1* and *ade2* mutations for development of a versatile red/white colour assay of amyloid-induced oxidative stress in *saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27654890/>