

## Vélemény, vita

# AZ ALAPKUTATÁSTÓL A GYAKORLATI HASZONHOZ VEZETŐ ÚT KÉT FRISS NOBEL-DÍJ TÜKRÉBEN

## THE ROAD FROM BASIC RESEARCH TO PRACTICAL APPLICATION IN THE LIGHT OF TWO RECENT NOBEL-PRIZES

Venetianer Pál

az MTA rendes tagja  
venetpal@brc.hu

### ÖSSZEFOGLALÁS

A cikk a tavalyi kémiai Nobel-díjas Frances Arnold és az orvosi Nobel-díjas Hondzso Taszuku felfedezéseit ismerteti. Rámutat arra, hogy mindketten elméleti alapkutatásokat végeztek; Arnold a biológiai evolúciót modellezte, Hondzso pedig egy immunológiai molekuláris mechanizmust vizsgált. Arnold eredményeit egy évtizeden belül ipari cégek tucatjai alkalmazták nagy profitot hozó új termékek előállításában. Hondzso Nobel-előadásában maga is hangsúlyozottan a véletlen szerencsének tulajdonította, hogy eredményei korszakalkotó sikereket hoztak a rák gyógyításában.

### ABSTRACT

This paper describes the discoveries of last year's Nobel-prize winner in Chemistry, Frances Arnold, and Nobel-prize winner in Medicine, Tasuku Honjo. It shows that both winners worked exclusively in fields of theoretical basic science. Arnold's work modelled the biological evolution and Honjo investigated a specific molecular mechanism of immunology. The results of Arnold were employed by dozens of companies within less than ten years to produce new, very profitable biochemicals. Hondzso himself emphasized the role of serendipity in the fact that his discoveries led to epoch-making successes in curing cancer.

**Kulcsszavak:** in vitro evolúció, enzimek, immunológia, rák, osztályváltás, véletlen felfedezés

**Keywords:** in vitro evolution, enzymes, immunology, cancer, class-switch, serendipity

Az Innovációs és Technológiai Minisztérium (ITM) és az MTA közötti jelenlegi konfliktus egyik tényezője az, hogy a két fél különbözőképpen ítéli meg az alap kutatás és a gyakorlati haszonnal járó alkalmazott kutatás helyes arányát, illetve relatív fontosságát a K+F-szféra finanszírozásában. Ez a vita nem magyar specifikum, a politikusok világszerte nehezen értik meg, hogy miért is fontos az alap kutatás. Erről a témáról szólva gyakran előkerül a híres (és kétes igazságú) anekdota, hogy amikor Michael Faraday bemutatta elektromos indukciós kísérletét az angol miniszterelnöknek, az megkérdezte, hogy mégis mire jó ez a játék. Faraday válasza: „Egyszer talán majd meg lehet ezt adóztatni.” (Azt nem láthatta előre, hogy az az idő is eljön, amikor ebből a haszonból a CÖF [Civil Összefogás Fórum] 500 millió forintot kaphat kormánypropagandára.) Faraday kísérletei és az elektromos áram adóztathatósága között több mint fél évszázad telt el, de manapság ez az út sokkal rövidebb. Ebben a cikkben ezt a rövidebb utat szeretném bemutatni két tavalyi Nobel-díj példáján. A példák kiválasztása természetesen némileg önkényes, az illusztrációra bármelyik friss Nobel-díjas alkalmas lett volna, a két díjazottat személyes érintettség miatt emeltem ki. Frances Arnoldot azért, mert az ő eljárását mi is alkalmaztuk egy sikeres kísérletsorozatban, Hondzso Taszuket (Tasuku Honjo) pedig negyvenöt éve személyesen ismerem, és 2000-ben négy hónapot töltöttem kiotói intézetében (a Nobel-díjas munkához semmi közöm nem volt).

Frances Arnold amerikai kutatónő kapta 2018-ban a kémiai Nobel-díj felét „az enzimek irányított evolúciójáért”. A felfedezés ismertetését kezdhetem egy több mint négy évszázados idézettel. Ekkor írta Francis Bacon, hogy: „Ha egyszer egy természeti jelenséget megfigyeltek valamennyi változatában, és tisztázták létrejöttének okait, könnyű lesz ugyanezeket a véletlen által előidézett jelenségeket mesterségesen utánozni.” E gondolat jegyében folynak már több évtizede számos kutatóhelyen izgalmas kutatások, amelyek a természetes evolúciót kívánják modellezni laboratóriumi körülmények között. Ezeket a kísérleteket általában gyorsan szaporodó, igen nagy tömegben tenyészthető organizmusokkal (baktériumok, élesztő) végzik, és a céljuk a természetes evolúció mechanizmusainak jobb megértése. A vegyészmérnök képzettségű Arnoldot nem általánosságban az evolúció problematikája izgatta. Őt pályája kezdete óta lenyűgözte egy paradoxon. Egyfelől tény, hogy a földi élőlényeket alkotó és azok életfolyamait végző sok milliárd különböző fehérje csak elenyészően kis töredékét reprezentálja az elvileg lehetséges fehérjéknek (a húsz aminosav elvileg  $20^{100}$  különböző 100 aminosav hosszúságú fehérjeláncot képezhet. Noha a létező fehérjék többsége ennél hosszabb, már ez a szám is nagyobb, mint a naprendszer összes atomjainak a száma). Másfelől, az élővilág evolúciója során a – szakzsargonban „szekvencia-térnek” nevezett – hatalmas, elvileg lehetséges mezőnyből csak azok a (nagyon csekély valószínűségű) valóban létező fehérjemolekulák választódtak ki, amelyek az ismert csodálatosan pontos és hatékony módon képesek elvégezni feladatukat

a sejtekben. E paradoxonon gondolkozva hatott rá a nagy evolúcióbiológus John Maynard-Smith elmélete is, aki szerint, ha az evolúció során egy fehérje, mutációk révén több lépésben átalakul, és új funkciót nyer, akkor e folyamat minden köztes lépésének szelekciós előnyt kell nyújtania. E pontokból kiindulva Arnold forradalmi ötlete az volt, hogy a kérdés vizsgálatához voltaképpen nincs is szüksége élőlényekre. Az evolúció két alapvető tényezője, a mutációk által létrejött változatosság és a legjobbak szelekciója (survival of the fittest), megvalósítható molekuláris szinten is, sejten kívül. Kiválasztott tehát egy jól ismert szerkezetű és működésű fehérjét, a *Bacillus subtilis* által termelt, széles körben használt fehérjebontó enzimet, a szubtilizint, illetve az ezt az enzimet kódoló DNS-molekulát (gént). Ezt a DNS-t kémcsőben olyan körülmények között sokszorozta meg, amelyek kedveztek a másolási hibák keletkezésének, azaz a mutációknak. Az így létrejött, igen nagyszámú, véletlenszerűen eloszló hibát (azaz mutációt) tartalmazó, DNS-molekulatömeget bevitte egy baktériumkultúrába. A baktériumsejtek egy része beépítette és működtette a mutáns géneket, tehát az egyes baktériumsejtek így különböző, mutáns szubtilizin variánsokat termeltek. Ezután következett a szelekció. Arnold egy olyan szelekciós szempontot választott, amely a természetben biztosan nem fordul elő. Azt vizsgálta meg, hogy a mutáns szubtilizineket termelő baktériumsejtek között van-e olyan, amely az általános fehérjedenaturáló szerként használt és a természetes szubtilizint inaktíváló, dimetilformamid jelenlétben mutat némi aktivitást. Ezekből a sejtekből izolált szubtilizingénnel azután az egész procedúrát megismételte (iteráció!). A harmadik menet után izolált gén három mutációt tartalmazott, és a termelt szubtilizin aktivitása dimetilformamidban harmincnolcszor nagyobb volt, mint a kiinduló természetes enzimé ebben az oldószerben.

A természetes evolúció nyersanyaga, a változékonyság forrása azonban nemcsak a mutáció, hanem a kromoszómák közötti részleges DNS-kicserélődés, a rekombináció is. 1995-ben a holland Willem Stemmer kitalált egy szellemes módszert, amellyel ezt a folyamatot is lehetett kémcsőben, a DNS-molekulák között imitálni. (Stemmer 2004-ben elhunyt, ezért nem részesülhetett a Nobel-díjban.) Ezzel a trükkel tágítva a módszer lehetőségeit, Arnoldék előállítottak egy olyan, tíz mutációt tartalmazó szubtilizint, amely a denaturáló dimetilformamidban éppoly aktív volt, mint a természetes enzim vizes oldatban.

Ez az eredmény nyilvánvalóvá tette az eljárás potenciális gyakorlati hasznosíthatóságát, így nem meglepő, hogy nyolc évvel Arnold első cikkének megjelenése után, 1999-ben, a világ legnagyobb ipari enzimgyártó cége, a Novo Nordisk közölte, hogy Arnold technológiáját felhasználva, mosóporuk egyik komponenseként előállítottak egy, a fehérítőszereknek ellenálló hem-peroxidáz enzimet, amelynek hőstabilitása 174-szeresen, oxidatív stabilitása százszorososan haladta meg a kiinduló természetes enzimét. Ugyancsak még a kilencvenes években nyertek az Arnold-féle eljárás alapján szabadalmat enzimelőállításra a Hercules, Danisco,

Nuevolution, Evocatal és Evonik Degussa cégek. A Diversa, Nautilus Biotech és Maxygen cégeket kizárólag a molekuláris enzimevolúció felhasználására alapították. Az Amyris, Zymergen és Gingko Bioworks cégek, amelyek szintetikus biológiával foglalkoznak, ugyancsak ezt a módszert használják. Az utolsó évtizedben Arnold maga is létesített két új céget, a Provivit, amelyik környezetbarát növényvédőszeret és gyógyszereket gyárt, és a Gevót, amely növényi szénhidrátokból akar alacsony széntartalmú üzemanyagot előállítani. Gondolom, a konkrét számok ismerete nélkül is eléggé nyilvánvaló, hogy az irányított fehérjeevolúció sokoldalú felhasználásának gazdasági haszna nagyságrendekkel felülmúlja azt az összeget, amely Arnold alapkutatásait finanszírozta annak idején.

Hondzso Taszuku a 2018. évi orvosi Nobel-díj felét azért a felfedezésért kapta, hogy: „...a negatív immunszabályozás gátlása alkalmazható a rák gyógyítására”. Arról, hogy Hondzso mennyire nem tudatosan kereste a rák gyógyításának lehetőségét, legjobban Nobel-előadásának címe árulkodik: *Serendipities of Acquired Immunity*. A *serendipity* szónak nincs adekvát magyar megfelelője. Az Ország-hagyománygyűjtő szerint jelentése „képesség értékes dolgok megtalálására ott, ahol kevésbé valószínű”. A szó eredete az Ezeregyéjszaka egyik meséje, amelyben Serendip herceg véletlenül mesés kincsre bukkan. A tudományos kutatással kapcsolatban serendipityről akkor beszélnek, ha egy felfedezés szándéktalanul, véletlenül történik meg.

Hondzót egész kutatói pályáján a molekuláris immunológiának az az alapproblémája foglalkoztatta, hogy hogyan képes az ember (és valamennyi gerinces állat) szervezete szinte végtelen számú különböző antitest-fehérjemolekulát előállítani, amelyek szinte végtelen számú különböző (akár a természetben elő sem forduló) antigénnel specifikusan reagálnak. Ma már nagyrészt tudjuk a választ erre a kérdésre, tudjuk, hogy aránylag kisszámú gén többféle lehetséges átrendeződése, illetve hipervariabilitása képes generálni hihetetlenül nagyszámú különböző antitestfehérje termelését. Eme sokféle átrendeződés egyik típusára, az úgynevezett „class-switch”-re (talán osztályváltásnak lehetne fordítani) irányultak a múlt század hetvenes éveinek végétől Hondzso kiotói munkacsoportjának kutatásai. Ők tették azt a meglepő felfedezést, hogy ebben az átrendeződésben kulcsszerepet játszik egy AID (activation-induced cytidine deaminase) nevű enzim, amelynek addig egészen más biológiai szerepet tulajdonítottak, és az évek során nagyrészt tisztázták e folyamat biokémiai-genetikai mechanizmusait. E munka egyik fázisában szükségesnek tartották, hogy az antitesttermelő T-sejtekben olyan fehérjéket keressenek, amelyek szerepet játszanak az apoptózisban (programozott sejthalál). Találtak is egy eddig ismeretlen új fehérjét (és az azt kódoló gént), amelyet PD-1 néven írtak le (PD, programmed death = programozott sejthalál). Ez 1992-ben történt. Arról ekkor még fogalmuk sem volt, hogy mi lehet e fehérje biológiai szerepe, és van-e valami köze az osztályváltáshoz. Erre a kérdésre úgy keresték a választ, hogy „kiütötték”, azaz inaktívtázták a PD-1-fehérje

génjét (természetesen nem embernél, hanem egernél), és vizsgálták ennek hatását az egerekre. Sokáig semmi nyilvánvaló változást nem találtak, de négy év múlva rájöttek, hogy az ilyen „kiütött” egerek antigén-stimulációra jóval intenzívebb immunválaszt adtak a normálisnál. 1998-ban azt is kimutatták, hogy az ilyen egerekben különböző autoimmun betegségek alakultak ki. Ekkor fogalmazták meg a tézist, hogy a PD-1-fehérje valószínűleg az immunreakció általános gátlója, és biológiai szerepe az lehet, hogy védjen az autoimmun betegségek ellen.

A Nobel-díjas Macfarlane Burnet 1970-ben fogalmazta meg azt a hipotézist, hogy a rákos sejtek a szervezetben immunreakciót válthatnak ki, ami bizonyos mértékig korlátozhatja a rákos elfajulás kialakulását. Ebből a feltevésből kiindulva számos kutatólaboratóriumban kezdtek próbálkozni azzal, hogy az immunválasz erősítésével gyógyítsák a rákot. Ezek a kísérletek azonban kudarcba fulladtak, számottevő eredményt nem produkáltak. Hondzsoék viszont a PD-1-gyel kapcsolatos eredményeik alapján arra gondoltak: lehet, hogy nem stimulálással kellene erősíteni az immunválaszt, hanem a gátlás megszüntetésével vagy csökkentésével. És ezen a ponton vált az addig kizárólag alapkutatóval foglalkozó Hondzso immunológusból – legalábbis részben – rákkutatóvá. 2002-ben kimutatták, hogy a „kiütött” egerekben lényegesen lassabb volt a tumorok kialakulása, és 2005-ben azt, hogy a normális (nem kiütött) egerekben a PD-1-fehérje blokkolásával gátolni lehetett a melanóma áttételképzését. 2006-ban az USA-ban és 2008-ban Japánban megkezdődtek a klinikai kísérletek egy, a PD-1-fehérjével szemben kialakított mesterséges antitest alkalmazásával. Terminális stádiumban lévő rákos betegek-nél, kétnapos kezeléssel, döbbenetesen jó eredményeket értek el (lényeges javulás a tüdőrákosok 18%-ánál, a melanómások 28%-ánál és a veserákosok 27%-ánál). 2018-ban már számos teljes gyógyulásról (ötéves tünetmentes túlélés) számoltak be melanómás és petefészekrákos betegek-nél.

Hondzso (és a másik díjazott, James Allison) eredményeinek jelentőségét egy méltató cikk így összegzi: „Azon a ponton vagyunk a rákellenes küzdelemben, ahol felfedeztük azt, amit a penicillin jelentett a fertőző betegségek-nél. Bár a penicillin nem gyógyított minden fertőzést, elindította az antibiotikumok seregeinek kifejlesztését, amelyek örökre megváltoztatták az orvostudományt, mert a legtöbb, korábban végzetes fertőző betegséget a történelmi múlt birodalmába utalták.”

És befejezésként hadd idézzek itt Hondzso Taszuku válaszából, amit a Nobel-díj utáni gratulációra írt: „...Természetesen, mint alapkutatóval foglalkozó kutató, mindig álmodtam a Nobel-díjról, de ez nem volt élelcélom. Az azonban egész életem legizgalmasabb és legmegrendítőbb pillanata volt, amikor egy rák-beteg, aki azt mondta nekem, »Ez volt életem utolsó golfjátzmája«, két hónappal később megkeresett, és így szólt: »Köszönöm a terápiáját. Visszatértem. Október 5-én, vasárnap 78-at ütöttem. Ez volt életem legjobb golfjátzmája.«”