

EGY ÚJ TUDOMÁNYOS FORRADALOM: A MOLEKULÁRIS GENETIKA, AZ INFORMATIKA ÉS A VISELKEDÉS TUDOMÁNYÁNAK INTEGRÁCIÓJA

Gerlai Róbert

PhD, tudományos főmunkatárs, Eli Lilly and Company, Lilly Research Laboratories
robert_gerlai@yahoo.com

Az elmúlt pár évtizedben szemtanúi voltunk a molekuláris genetika forradalmának. A gén koncepciójának megszületése után számtalan új, a gyakorlatban is alkalmazható molekuláris technológiát fejlesztettek ki, amely előre nem látott mértékben segítette elő az élőlények biológiai működésének megértését. A genetika forradalma azonban tatóongó őrít hagyott maga után: számos más tudományág, mint például a neurobiológia és a viselkedéstudományok, nem tudtak lépést tartani a molekuláris genetika által diktált gyors fejlődéssel. Azonban a helyzet lassan kezd megváltozni. A jelen cikkben e változást, és a jövőbeli kutatások egy lehetséges irányát vázolom fel, különös tekintettel az állatok viselkedésének tanulmányozásában rejlő lehetőségekre. Véleményem szerint a számítógépesítés, az új mérnöki megoldások, a bioinformatika és viselkedéskutatásban bekövetkező koncepcionális változások egy új tudományág születéséhez fognak vezetni: a „Phenomics”, hasonlóan a „Genomics” tudományához, egy új evolúciós lépcsőt fog jelenteni a természettudomány fejlődésében.

A génmanipuláció fő alanya: a házi egér

Az agyműködés biológiai mechanizmusának megértése mind tudományos, mind pedig gyógyászati szempontból alapvető fontos-

ságú. Minden száz emberből egy szenved skizofréniában, az Alzheimer-kór konzervatív becslések szerint is több mint 1,5 millió embert érint csak az Amerikai Egyesült Államokban, autizmusban is milliók szenvednek, a depresszió és pszichózis a leggyakoribb kórok egyike. Mindezen betegségek részben az agyműködés meghibásodására vezethetők vissza, de mindmáig nem sikerült pontosan feltárni sem a betegséget kiváltó okokat, sem azt, hogy hol sérül az agyműködés mechanizmusa. Így hatékony gyógyításuk sem lehetséges. Az agyműködés biológiai mechanizmusait kutatva a kutatók között kialakult egy megegyezés: egy közösen elfogadható „modellállatra” van szükség, amely lehetőséget ad genetikai és egyéb beavatkozások hatásának kipróbálására. A választott modellállat a házi egér (*Mus musculus domesticus*) lett, mert számos praktikus előnye mellett (könnyű tartani és szaporítani) magatartása és agyának működése komplex, és sok tekintetben hasonlít az emberéhez. Egy másik fontos szempont volt, hogy ez a faj alkalmas a genetikai mérnökösködéssre. Rekombináns genetikai módszerek segítségével az egerek DNS-ébe mesterséges módon mutáns géneket lehet beültetni. A mutáns gén aztán nagy mennyiségben termelhet mRNS-t, azaz mesterségesen megnövelt gén-expressziót lehet elő-

idézni. De ennek ellenkezőjét is el lehet érni, azaz le lehet csökkenteni, vagy teljesen meg is lehet szüntetni a gén expresszióját („null” mutáció). Az így kialakított úgynevezett „transzgénikus” egerekben egyetlen gén funkcióját változtattuk meg, és ez lehetővé teszi, hogy az általunk kiszemelt gén fenotípusra (a megfigyelhető tulajdonságokra) gyakorolt hatását vizsgáljuk. Egy másik lehetőség mutáns gének létrehozására, hogy kémiai úton idézünk elő úgynevezett random mutagenézist. Az etil nitrozourea (ENU) nevű mutagén pontmutatót okoz az egér DNS-ében. A transzgénikus egerekkel ellentétben azonban ez a mutáció véletlenszerűen, és nem egy előre kiszemelt génben fordul elő. Ez a módszer ezért inkább arra alkalmas, hogy eddig ismeretlen gének hatását fedezzük fel, és a fenotípusos elváltozások alapján új, az agy működésében fontos szerepet játszó géneket találjunk. A fenotípus vizsgálata tehát mind a transzgénikus egerek, mind pedig a random mutagenézissel kialakított mutáns egerek esetében alapvető fontosságú. (Az egérgenetika módszereiről és a módszerek alkalmazásáról az olvasó részletesebben a Wim E. Crusio és Gerlai Róbert (1999) által szerkesztett kézikönyvben kaphat információkat.)

A viselkedésvizsgálatnak alapvető szerepe van az agykutatásban

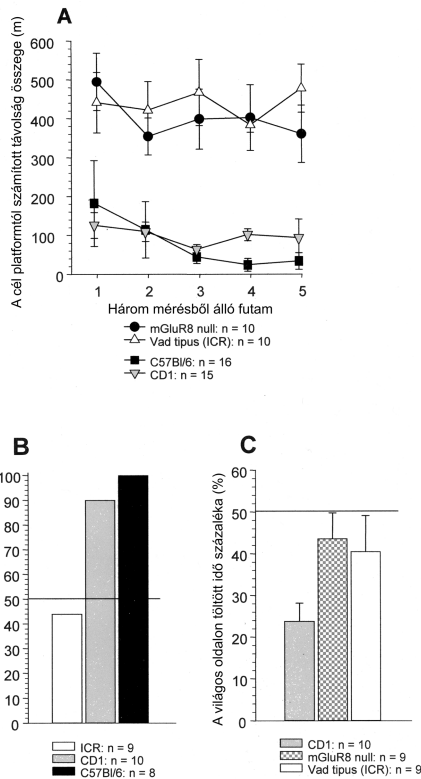
A fenotípus vizsgálata azonban igen bonyolult, különösen, ha az agyműködés következményeképpen jelentkező viselkedési elváltozások elemzéséről van szó (Gerlai, 2001). Mindazonáltal több kutató, köztük jómagam is, azon a véleményen van, hogy az agyműködés egyik legobjektívabb és legpontosabb vizsgálatának módja a viselkedés tanulmányozása (Gerlai–Clayton, 1999). Az agy egyik legfontosabb szerepe, hogy az adott környezet figyelembevételével megfelelő viselkedési válaszokat adjon. A viselkedés vizsgálata lehetővé teszi, hogy

az agy működését az agyterülettől, illetve a neurobiológiai mechanizmustól függetlenül vizsgáljuk, azaz objektív módszerünk van arra, hogy egy mesterségesen előidézett mutáció hatását, a mutáció okozta neurobiológiai elváltozásokat felfedezzük és jellemezzük. A viselkedési fenotípus vizsgálatának fontosságát mások is felismerték. Több kutató összefogásából az USA-ban nemrég elindult a *The Mouse Phenome Project* elnevezésű kutatási program (Paigen–Eppig, 2000), amely azt a célt tűzte ki maga elé, hogy részletesen leírja és katalógusba foglalja az egér viselkedési tulajdonságait. Mint ahogy a *Mouse Genome Project* feltérképezte az egér DNS-ét (azaz leírta a nukleotidák szekvenciáját), úgy a *Mouse Phenome Project* részletes információkat fog szolgáltatni az egér viselkedési és egyéb fenotípusos jellemzőiről.

A régi módszer: az elveszett kulcsot csak a lámpa fénye alatt kerestük

Bár sokan elfogadják a viselkedéskutatás fontosságát, a tesztek gyakran nagyon lassúak és munkaigényesek, és ezért túlságosan szűkre szabottak. Számos cikk jelent meg még olyan neves tudományos lapok hasábjain is, mint a *Science* és a *Nature*, melyben a kutatók technikailag briliáns módszerekkel megváltoztatták az általuk kiszemelt gén működését, de a kitenyészett mutáns egér fenotípusát csak igen elnagyolva és csak az általuk kiszemelt szubjektív szempontoknak megfelelően elemezték. Azaz a kulcsot csak a lámpa fénye alatt keresték. Így fordulhatott elő, hogy az aCamKII (egy calmodulin-függő kináz egyik alegységét kódoló gén) nullmutáns egérről, amelyről utóbb kiderült, hogy abnormálisan félénk, úgy gondolták, hogy a tanulásban van elmaradva (például Silva et al., 1992), holott a mutáns egerek csak ijedtükben felejtették el, hogy mit kellett volna csinálniuk a Morris-féle térbeli tanulás-tesztben (az eredeti hipotézis az volt,

1. ábra • A viselkedés analízise nem mindig egyszerű. Az mGluR8 null mutáns egerek tanulási képességének vizsgálatakor derült ki, hogy nem képesek még az egyszerű asszociatív tanulásra sem. Az (A) panel mutatja, hogy a Morris-féle vizes labirintusban az mGluR8 null mutáns egerek nem voltak képesek megtanulni, hogy a víz felszíne alatt levő platform helyét egy vizuális jel, egy zászló mutatta. Azonban részletesebb vizsgálat kimutatta, hogy a kontroll- („vad típus”) egerek sem találták meg a platformot. Mind a mutáns, mind pedig a vad típusú egerek az ICR albinó egértörzstől származtak. Más egértörzsből származó egerek, például a C57BL/6 (fekete) vagy a CD1 (albinó) egerek könnyedén megtanulták a tesztet, és megtalálták a platformot. További vizsgálatok derítették ki, hogy az ICR törzsből származó egereknek nem a tanulási képességgel, hanem a látással van problémájuk. A vizuális szakadék teszt (B) alkalmas a látás vizsgálatára. Az állatoknak egy lécről lenézve kell eldönteniük, hogy melyik a biztonságos oldal, a fedett kemény felület vagy a látszólag mély szakadék. Az ábra az egerek arányát mutatja, melyek a biztonságos oldalra léptek le. Az ICR törzsből származó egereknek csak 42 %-a választotta a biztonságos oldalt, ami nem tér el szignifikánsan a random 50 %-os (egyenes vonal) választástól. Azonban a szintén albinó CD1 és a fekete C57BL/6 egerek több mint 90 %-a választotta a biztonságos oldalt. Mivel a választás



egyedül vizuális ingerek alapján történik (az egerek nem tudják megtapintani egyik oldalt sem, és mindkét oldal egyforma üveglappal van befedve, csak az egyik alatt tátongó ür míg a másik alatt egy falp van), így az eredmények azt sugallják, hogy az ICR egerek nem látnak. Azt, hogy az ICR egerek teljesen vakok e (C) panel eredményeiből tudjuk eldönteni. Ebben a kísérletben az egereknek egy két kompartmentből álló dobozban kellett sétálniuk. Szabadon választhattak a sötét és a világos oldal között. Általában az egér éjszakai állat lévén, a sötét oldalt választja. Valóban, a CD1 egerek idejük kevesebb mint 30 %-át töltötték a világos kompartmentben, míg az ICR törzsből származó egerek (az mGluR8 null mutáns és a vad típusú egerek) több mint 40 %-ot. Az utóbbi szám szignifikánsan magasabb, mint a 30 %, és majdnem eléri a random-szintet, azaz 50 %-ot. Ez azt sugallja, hogy az ICR egerek nagyon rosszul látnak, és bár lehet, hogy nem teljesen vakok, alig tudják megkülönböztetni a sötétet a világostól. Az ábrán (A és C) az átlag, illetve a Standard Error van feltüntetve. Az „n” a kísérletben mért egerek számát jelzi. Az 50 %-os véletlen szintet egyenes vonal mutatja. Részletesebb magyarázat, illetve a kísérleti módszerek leírása Gerlai és munkatársainak (2002) cikkében található meg. Az ábra ezen cikkekből vett eredményeken alapul.

hogya a CamKII fehérje a tanulásban játszik szerepet, így a kutatók csak ezt vizsgálták). Hasonlóan az mGluR8 mutáns egerekről azt feltételezték, hogy szorongásban szenvednek (Linden et al., 2002). A kutatócsoport a szorongás ellen igyekezett gyógyszert kidolgozni, így a munka erre a problémára összpontosult. A kutatók kimutatták, hogy az mGluR8 null egerek különösen szoronganak, amikor erős megvilágítású dobozban vannak. Utóbb derült csak ki, hogy az ICR nevű egértörzs, amit a mutáns egér kialakítására használtak hordozta a retina degenerációját előidéző gén egy variánsát (az *rdallélt*), a kutatók tehát majdnem teljesen vak egerek fényre való reakcióját vizsgálták, és így eredményeik nehezen értelmezhetők (Gerlai et al., 2002).

Viselkedési tesztrendszerek: a fenotípus szisztematikus feltérképezése

Ahogy a fenti példák is mutatják, a túlságosan szűkre szabott és csak a viselkedés bizonyos aspektusait vizsgáló kutatás veszélye, hogy alapvetően korlátozza a genetikai manipuláció (a mutáció) által előidézett idegrendszeri elváltozás megfelelő értékelését. Éppen ezért egyes kutatók javasolják, hogy részletes, a viselkedés számos aspektusát vizsgáló teszt-sorozatot kell végezni (Crawley–Paylor, 1997). Néhány ilyen „teszt-csomag” már létezik is. Az ismertebbek közül talán a SHIRPA tesztrendszert lehetne megemlíteni (Hatcher et al., 2001), amely már előzőleg alkalmazott és jól ismert viselkedésteszteket foglal magába. Egy másik csomag a CANTAB rendszer (<http://www.camcog.com>), amely egy ötletes és mind emberi, mind pedig állatkísérletekre alkalmazható számítógépesített teszt-sorozat. Ezek a teszt-csomagok többek között lehetővé teszik a mozgásfunkciók, az érzékelés, a motiváció, a tanulás és a félelem vizsgálatát, és így teljesebb képet adnak a viselkedési fenotípusról.

Vajon mennyi viselkedési teszt szükséges a fenotípus leírásához? Vannak, akik azt vallják, hogy az egér viselkedése viszonylag egyszerű (még a patkányéhoz képest is), így egy tucat teszttel is elég jól le lehet írni az egér magatartását. Mások szerint az egerek agya elég bonyolult ahhoz, hogy az egér számtalan viselkedési tulajdonsággal bírjon. Én az utóbbi elképzeléssel értek egyet. Ráadásul nagyon valószínű, hogy egy új mutáció olyan új, nem várt változásokat okoz az agyban, amelyeket egy néhány tesztből álló rendszer nem képes kimutatni. Az is megfontolandó, hogy bár az emlősök génjeinek száma nyilvánvalóan véges (jelenleg mintegy 40 ezerre becsülik), és így az agyműködés mögött rejlő biológiai mechanizmusok száma is feltehetően korlátozott, ez nem jelenti azt, hogy az agyműködés funkcionális „egységeinek” száma is csupán 40 ezer. Ezeket a funkciókat, így a viselkedést is, nemcsak a 40 ezer gén és ezek számtalan kombinációja befolyásolja, hanem a feltehetően még nagyobb számú és folytonosan változó környezeti tényezők hatása is. A környezeti hatások a gének hatását is bonyolult módon változtathatják meg, amit „gén-környezet interakciónak” hívunk. Összefoglalva tehát a viselkedési „fének” (fenotípusos tulajdonságok) száma feltételezhetően óriási. A teljes fenotípusos analízis még igen nagy számú teszt alkalmazásával is csak egy álom.

A tesztrendszereket illetően egy másik sokat vitatott kérdés az, hogy vajon szükség van-e standard tesztekre, vagy jobb lenne minden mutánst a mutációnak megfelelő speciális tesztekkel vizsgálni. A standardizálás mellett szól, hogy ez lehetővé tenné a különböző laboratóriumokban mért eredmények összehasonlítását, ez azonban azt is jelentené hogy a tesztek merevek és változtathatatlannak. Ez viszont oda vezethet, hogy nem lesznek alkalmasak az új mutáció által okozott idegrendszeri elváltozások megfelelő jellemzésére. Úgy tűnik, hogy a vita ered-

ményeként egyfajta kompromisszum kezd kialakulni: a standardizált tesztekre szükség van, mert ezek egy referenciapontot jelentenek, de a speciális tesztekre is szükség van, mert ezek lehetővé teszik a rugalmas és kreatív viselkedési analízist.

A gének és a környezet közötti interakció fontosságát is kezdik felismerni a molekuláris genetikai kutatók. Ez a magatartásgenetikában régóta ismert jelenség, számos fejlődést okozott a kutatóknak. Néha a mutáció környezettől függő módon, hol ezt, hol azt a változást eredményezte. Így felismertük, hogy a környezeti faktorok kontrollálása éppolyan fontos, mint a genetikai tényezők (Gerlai, 1996). Sok molekuláris biológus felejtette el, hogy az általa módosított és mesterségesen beültetett „transzgén” nem az egyetlen olyan gén, ami az agy működését befolyásolja. Számtalan más gén, az úgynevezett „genetikai háttér” is fontos szerepet játszik (bővebben lásd Gerlai, 1996). Végül, de nem utolsósorban az etológiai, illetve ökológiai szempontok figyelembevételére is számos kutató hívta fel a figyelmet (Gould, 1974; Gerlai–Clayton, 1999), hiszen csak így nyílik mód arra, hogy megértsük a magatartás mögött rejlő biológiai/genetikai tényezőket. A mesterséges, az állat természetes viselkedését figyelmen kívül hagyó kísérletek nem hoznak értelmezhető eredményeket. Az etológiai szemléletmód hatására koncepcionálisan új tesztek születnek, melyek igen hasznosak az agyműködés genetikai tényezőinek vizsgálatára.

A tesztrendszerek szerkezete a tudományos kérdéstől függ

A viselkedési tesztrendszerek hierarchikus felépítésűek. Először általánosabb és kevésbé specializált tesztek alkalmaznak, melyek számos idegrendszeri elváltozásra érzékenyek. Ezt követik az egyre célzottabb, speciálisabb tesztek, melyek lehetővé teszik, hogy részletesebben megvizsgálják a mutá-

ció által előidézett elváltozásokat, azaz pontosítsák a diagnózist. A tesztrendszer összeállításának kérdése azonban még nyitott. Gyógyszerkutató intézetek, illetve orvosi kutatással foglalkozó laboratóriumok esetében a fő szempont a betegség maga, illetve az, hogy a tesztrendszer megfelelően tárja fel a betegség tüneteit és mechanizmusát. Így például az Alzheimer-kór vizsgálatára kialakított tesztrendszer feltehetőleg a memória jellegzetességeire fog összpontosítani olyan tesztekkel, melyek a figyelmet, a rövid és hosszú távú memóriát, illetve az úgynevezett „gondolati vezérfunkciót” (executive function) vizsgálják, hasonlóan ahhoz, ahogy ezeket a memóriával és tanulással kapcsolatos jellegeket a humán klinikumban vizsgálják. Más kutatási irány esetén előnyös lehet, ha a tesztrendszert a neurobiológiai mechanizmusok szerint alakítják ki. Például a memória elemzése esetén a kutató vizsgálhatja, hogy vajon a memória kiépítése, a memória konszolidációja (megerősítése illetve megtartása) vagy felidézése megváltozott-e a mutáció következtében. Ha valaki viszont a különböző agyi struktúrákban bekövetkezett esetleges változásokra kíváncsi, akkor úgy szervezheti meg a tesztrendszert, hogy az lehetővé tegye például az úgynevezett „procedurális tanulás” (cerebellum-funkció), a reláció-tanulás (például térbeli tanulás: hippocampus-funkció), az elemi tanulás (agykéreg-funkció), avagy emocionális tanulás (amygdala-funkció) vizsgálatát. Sok esetben a tesztrendszerek alapvetően különböző eredményekre vezetnek a közöttük lévő átfedések ellenére. Azonban az is fontos, hogy egy adott tesztrendszeren belül számos tesztnek kell ugyanarra a viselkedésre vonatkozó adatokat szolgáltatnia. Egy teszt sohasem elég, mert eredményei önmagában félrevezetőek lehetnek. Így például a relációs tanulás vizsgálata esetén a hibás következtetések elkerülésére olyan tesztek kell alkalmazni, melyek ugyanarra

a neurobiológiai mechanizmusra (ebben az esetben a hippocampus működésére) érzékenyek, de különböző mozgási, érzékelési és motivációs jellegzetességekkel rendelkeznek. Csak ebben az esetben tudjuk ugyanis eldönteni, hogy a mutáció okozta elváltozás valóban a relációs tanulást, illetve a hippocampus működését befolyásolta, és nem pedig a fenti jellemzők (mozgás-, érzékelési képesség, motiváció) megváltozásán keresztül hatott a viselkedésre.

Gyorsabb, jobb, és automatikus viselkedési tesztek: a jövő szele?

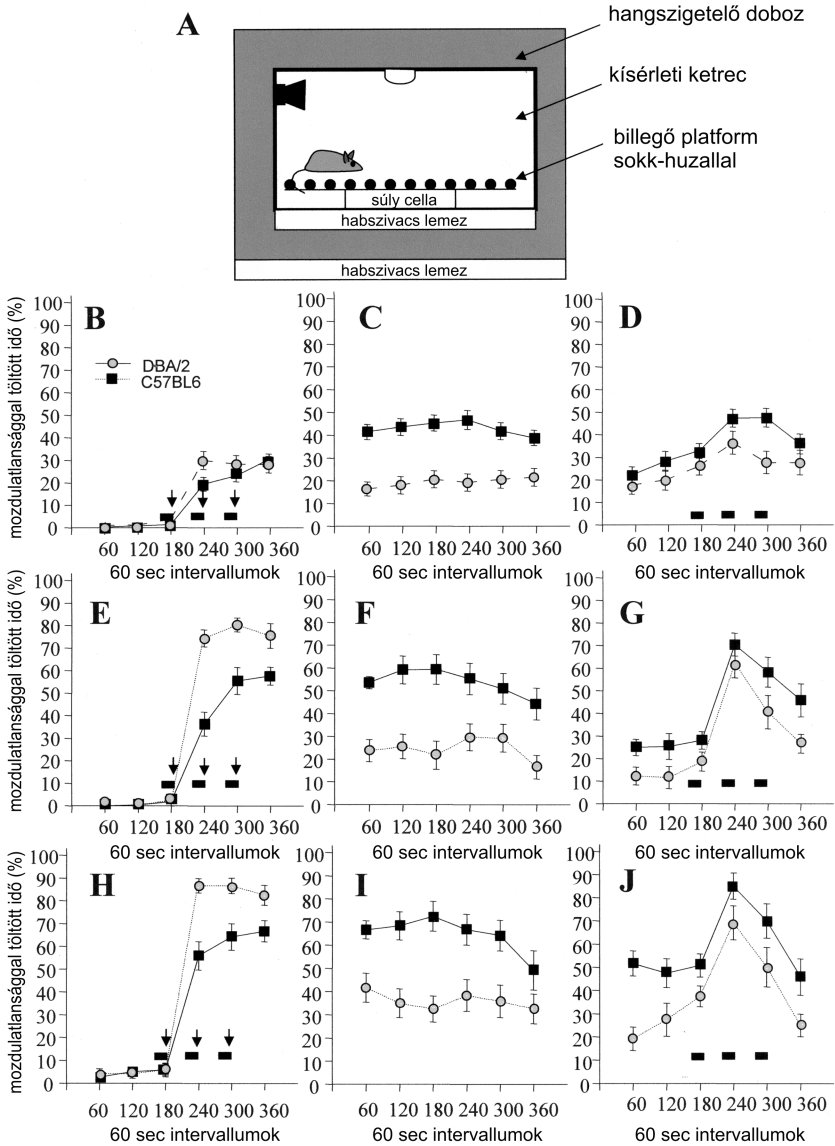
A fentiekből világosan kitűnik, hogy egy tesztrendszer összeállítása óriási kihívást jelent. A rendszer optimalizálása nem egyszerű feladat. A legalapvetőbb probléma praktikus jellegű: a viselkedéselemzés sok időt és helyet igényel. Hogyan lehet pontosan és gyorsan vizsgálni, hogy milyen funkcionális eltéréseket okozott a mutáció? Vajon a minőség rovására megy a gyorsaság? Egy lehetséges megoldás az, ha a párhuzamosan működtethető viselkedési berendezések számát megnöveljük, azaz több kísérleti állatot mérünk egy időben. A másik megoldás szerint a teszt által nyújtott információ mennyiségét növeljük, és olyan tesztet alkalmazunk, amelyben egyidejűleg sokféle viselkedési paramétert lehet mérni. Az is fontos, hogy berendezésünk flexibilis, azaz többféle agyfunkció jellemzésére is képes legyen.

Ma már akár egy átlagos számítógép is alkalmas arra, hogy számtalan viselkedésmérő berendezést vezéreljen, és gyorsan és hatékonyan analizálja a mért adatokat. Ékes példája a fejlődésnek egy nemrég kifejlesztett rendszer, amely a kísérleti állat mozgását egy úgy nevezett erő-transzdukáló rendszer (force transducer system) segítségével méri (MED Associates, Vermont USA). A rendszer nyolc tesztapparatust képes egyszerre működtetni, és számtalan mozgásparaméter mérésére lehet beprogramozni. A rendszert

laboratóriumomban (Eli Lilly and Company, Neuroscience Research, Indianapolis) továbbfejlesztettük, és lehetővé tettük, hogy az eredetileg a nagy súlyú patkányra kidolgozott berendezés az apró egér mozgását is megfelelően mérni tudja (Fitch et al., 2002).

A kísérleti állat mozgásától függően az erő-transzdukáló berendezés különböző „erő-mintázatokat” (különböző frekvenciával és amplitúdóval rendelkező elektronikus hullámokat) regisztrál. Jelenleg azon dolgozunk, hogy a hullámformák mintázata alapján azonosítani tudjuk a megfelelő magatartás-elemeket. A „lefagyás” (freezing) nevű viselkedésformát egyszerű mérni, hiszen csak a mozgás teljes hiányát kell regisztrálni. Azonban a két lábra való ágaskodást, a tisztálkodást vagy ugrást már sokkal nehezebb ezzel a módszerrel felismerni. Azonban némi programozási tehetséggel remélhetőleg hamarosan ez a probléma is megoldódik, s a rendszer alkalmas lesz számtalan magatartás-elem pontos mérésére. Miért érdekesek ezek a magatartás-elemek? Miért nem elég csupán az állat aktivitásának hagyományos módon történő regisztrálása? Mert nem mindegy, hogy a kísérleti állat azért nem mozog, mert remegve és a félelemtől megdermeve ül a sarokban, vagy békés nyugalommal nyalogatja a szőrét, vagy netán úgy unja már a tanulástesztet, hogy el is aludt. Ezidáig viselkedéselemeket csak közvetlen megfigyelés révén tudtuk mérni, azaz a kísérletezőnek kellett nézni az állatokat és papírra vetni vagy számítógépbe írni, hogy milyen magatartásmintázatokat figyelt meg. Ez nyilvánvalóan igen időigényes, és fárasztó. Az erő-transzdukációs rendszer további előnye, hogy a berendezést mindenféle tartozékkal is fel lehet szerelni, így például alkalmassá lehet tenni a legkülönbözőbb tanulási tesztekre.

Talán még ennél is kifinomultabb az a berendezés, melyet egy biotechnológiai cégnél, a PsychoGenicsnél (Terrytown, NY,



2. ábra • Az erő-transzdukciós rendszer eredetileg a patkány mozgásának analizésére került kidolgozásra. Számos hardver- és szoftver-módosítás után a berendezés alkalmas lett a kis testsúlyú egér mozgásának analizésére. Az ábrán (A) az erő-transzdukciós rendszer sémája látható. A platform, amely elektromos sokk-huzalokat is tartalmaz, az erő-transzdukáló „súly-cellára” van rögzítve. A platform legkisebb mozgása is

torziós erőt kelt, és ez a súly-cellában elektromos jelet indukál. Az elektromos jelet egy elektronikus szűrő-erősítő felerősíti, és egy számítógép analizálja. Az ábra többi része az erő-transzdukciós rendszer által automatikusan mért viselkedés (mozdulatlanság) mértékét (B, C, D) hasonlítja össze egy számítógépes programmal (Noldus Observer Event Recording) rögzített, de a kísérletező megfigyelésén alapuló adatokkal (E, F,

G), és hagyományos, papír-ceruza módszerrel, szintén emberi megfigyelésen alapuló eredményekkel (H, I, J). A kísérlet egyébként egy félelemkondicionálási teszt, amely egy asszociációs tréningből (B, E, H; sokk + hangjel), egy kontext (hely) felismerési tesztből (C, F, I; nincs sokk és nincs hangjel), és egy hangjelfelismerési tesztből (D, G, J; nincs sokk + hangjel) áll. A hangjel időzítését három vastag rövid vonal mutatja, és az elektromos sokk kibocsátását a nyilak jelzik. Az ábra két beltenyészett egértörzs (a DBA/2 és a C57BL/6) viselkedésének átlagát és a Standard Errort mutatja. Mindkét egértörzsből negyven



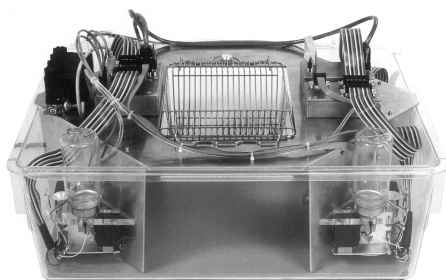
3. ábra • A SmartCube rendszer (PsychoGenics Inc.) lesz az első berendezés, amely számtalan mozgásmintázatot, azaz magatartáselemet fog automatikusan, nagy sebességgel és kapacitással érzékelni és analizálni. A SmartCube robot hardverrel, számítógépes látással, és számtalan neurológiai mérőberendezéssel lesz felszerelve. Ezenkívül képes lesz arra, hogy önmagát tanítva (machine-learning algoritms) egyre pontosabban felismerje a viselkedés különféle elemeit. A magatartásmérésben szokásos frekvencia-, intenzitás és időtartam-mértékeken felül, a berendezés az úgynevezett tranzíciós táblázatot is elemzi, azaz azt, hogy mely viselkedés követi időben a másikat. A viselkedési tulajdonságokon felül, a berendezés fiziológiai paramétereket (például a szívverés ritmusát, vérnyomást, stb.) is regisztrálni fog. (Ábra és információk a PsychoGenics engedélyével.)

állatot vett részt a kísérletben. Az erő-transzducerrel (B, C, D) minden állatot megmérünk, míg a többi mérésben videókazettára rögzített felvétel segítségével ezen állatok közül random módon kiválasztott húszer viselkedését elemeztük. Fontos megjegyezni, hogy a két, emberi megfigyelésen alapuló mérést (E, F, G és H, I, J) két külön személy végezte (ugyanazon állatokról készült felvételek alapján), és az eredmények igen hasonlóak. Az ábrából az is látszik, hogy az erőtranszdukciós rendszer is igen hasonló eredményeket produkált, azaz alkalmas volt arra, hogy a két egértörzs közötti különbségeket érzékelje.

USA) fejlesztenek ki. A SmartCube-nak nevezett berendezés számítógépes képanalízis alapján működik. Az ötlet azon alapszik, hogy az állatok viselkedését három dimenzióban úgynevezett *image analysis* (képanalízis) segítségével mérjük. A számítógép a felvett képet pixelről pixelre analizálja, és minden pixelbeli változást (mozgást) érzékeli. A több kamerából kapott képet aztán egy szoftver segítségével integrálják, és így a pixelekből történt időbeli változásokat három dimenzióban képesek értékelni. Azonban a dolog lényege nem ebben rejlik. A képanalízis legfontosabb eleme, hogy a számítógép (legalábbis a PsychoGenics dolgozó szerinti), képes lesz megtanulni, hogy bizonyos pixelváltozás-mintázatok egy-egy magatartáselemnek felelnek meg. Így a szoftver egyre több magatartáselemet fog „felismerni”, egyre kifinomultabb méréseket tud majd végezni, és számtalan magatartáselemet mér igen nagy pontossággal, és ráadásul gyakorlatilag korlátozatlan számú berendezéssel. Azaz egy kis szobában annyi munkát fognak tudni elvégezni pár nap alatt, amennyit egy emberi megfigyelésen alapuló vizsgálatban akár kutatók százai végeznének éveken át egy egész egyetemi épületben. A sebesség önmagában persze nem nagy előny. Azonban lehetővé teszi, hogy a kutatók az összes jelenleg forgalomban levő és a viselkedés szempontjából érdekes

gyógyszert kipróbálják és a viselkedésre kifejtett hatásukat jellemezzék. Az adatok segítségével a gyógyszereket aztán kategorizálják, és egyfajta viselkedésmintázattal jellemzik őket. Így ha egy új kémiai vegyület vizsgálatára kéri fel őket, az új vegyület viselkedési mintázata alapján rögtön meg fogják tudni mondani, hogy vajon az új gyógyszer olyan-e mint például a Prozac (egy depresszió elleni gyógyszer, amely a serotonin nevű neurotransmitter idegsejtbe való felvételét és lebontását gátolja), vagy úgy hat-e mint egy AMPA-R aktivátor (egy glutamin neurotransmitter receptor „potenciátor”, amiről úgy hiszszük, elősegíti a tanulást).

Egy másik említésre méltó új berendezés már borsos áron ugyan, de meg is vehető (kb. 30 ezer amerikai dollár). Az „IntelliCage”



4. ábra • Az IntelliCage (NewBehavior Inc.) lehetővé teszi, hogy egerek viselkedésének számos jellemzőjét hosszú időn keresztül, az egerek megzavarása nélkül nyomon kövessük. A berendezésben négy tanulás-sarok van, melyek egy-egy antennával vannak felszerelve. Az antennák érzékelik az egyes egerek mozgását, illetve jelenlétét, amit az egerekbe beültetett egyedi microchip tesz lehetővé. A berendezés így pontosan nyomon tudja követni, hogy melyik egér hol tartózkodik, és hogy milyen gyorsan mozog. A tanulás-sarokok beépített fotocellával (infravörös detektorokkal) is fel vannak szerelve. A sarokok még tartalmaznak apró nyílásokat is (nose-poke receptacle), melyekbe az egereknek be kell dugni az orrukát, hogy a nyílás mellett lévő kis itatóból jutalomtejet vagy cukros vizet kapjanak. A „rossz

elnevezésű készüléket egy svájci cég (NewBehavior Inc., Zürich), gyártja Hans-Peter Lipp, a híres neuroanatómus magatartás-genetikus vezetésével. A berendezés rádió-transzponder technológia segítségével figyeli, hogy a benne szaladgáló egerek éppen hol és mit csinálnak. A készülék minden egyes egeret, melybe egy egyedi microchipet ültettek be, meg tud különböztetni, így értékelni tudja, hogy melyik egér dolgozik azon, hogy mihamarabb megkapja a jutalmát az ételosztóból, melyik szaladgál fejt vesztve a ketrec közepén, és melyik ül a bonyolult berendezésből kiábrándult módon a sarokban. Bár első látásra talán nem nyilvánvaló, az IntelliCage a természetes környezetnek (több tagból álló egércsofé) megfelelő helyzetben is képes méréseket végezni.

tanulóknak” büntetés jár. Ezek az egerek jutalom helyett egy apró fűvókából erős levegőfuvallatot kapnak. A berendezés az egerek hőmérsékletét is méri. Az érzékelőkből elvezetett jeleket, illetve a különböző stimulusok időzítését mikroprocesszorok segítségével egy központi számítógép dolgozza fel, illetve irányítja. A központi számítógép raktározza el az adatokat is. Az egyes egerekről gyűjtött adatokat a számítógép képes megkülönböztetni, így lehetőség van arra, hogy az egyedi kísérleti alanyok képességeinek, tanulási eredményeinek megfelelően automatikusan változzanak a tanulás kritériumai. A rosszul tanulóknak kevésbé bonyolult, a jobbaknak komplikáltabb feladatokat lehet kijelölni, s mindezt anélkül, hogy a kísérlet alatt akár egyszer is hozzányúl-nánk az egerekhez (persze azért az egérketrecet rendszeresen tisztítani kell, de ezt a kísérleti időn kívül is el lehet végezni). A kitzethető tanulási feladatok száma szinte végtelen. A NewBehavior Inc. párat említ, úgymint: térbeli tanulás, vizuális megkülönböztetés, ízpreferencia, illetve megkülönböztetés, különféle operáns tanulási tesztek és tér-idő kondicionálás. Ezenfelül számos szociális, a fajtársak között történő interakciót is lehet elemezni, például a jutalomért vagy enivalóért való versengést, dominancia-rangsort, stb. (Ábra és szöveg a NewBehavior Inc. engedélyével.)

Bioinformatika és többváltozós statisztika: alapvető eszközök a jövő viselkedéskutatásában

A fent bemutatott berendezések hatalmas mennyiségű adatot szolgáltatnak. Ezek elemzése és megfelelő értelmezése bonyolult bioinformatikai feladat. Többváltozós statisztikai módszerekre, illetve komplikált mintázatelemzésre is szükség lehet. Ráadásul a fenotípus vizsgálata általában nem ér véget a viselkedés elemzésével. Már van mód arra, hogy szabadon mozgó egerek idegsejtjeinek aktivitását mérjük elektrofiziológiai eszközökkel, azaz lehetségessé vált, hogy vizsgáljuk egy szabadon mászkáló egér hippocampusában található piramis sejtek (az úgynevezett „hely” sejtek) működését. Ezek az idegsejtek felelősek a térbeli, illetve a relációs tanulásért. A viselkedési és elektrofiziológiai adatok együttes elemzése még fokozottabb igényt támaszt majd a bonyolult adatfeldolgozásra. Mindez bár komplikáltnak tűnik, de lehetőséget fog adni arra, hogy eddig fel nem ismert idegrendszeri, illetve viselkedési mintázatokat fedezzünk fel. Mint ahogy eleinte nem látjuk a mozaikkép mögött rejlő emberi arcot, ugyanúgy ezek nélkül a matematikai eszközök nélkül lehet, hogy sosem tudnánk felismerni, vajon mit mutat a kép. Minden bizonnyal a számtalan paraméterből összeálló mozaik pontosabb képet ad majd az agyműködésről és annak elváltozásairól, a gének szerepéről és betegségekkel kapcsolatos problémákról.

A különféle eredményeket összefoglaló adatbázisokra is szükség lesz. Ezekben minden egyes kísérleti eredményt katalogizálnak, úgy, hogy az adatokat érdeklődésünknek, illetve kísérleti kérdéseinknek megfelelően lehet majd csoportosítani és rendszerezni. Ilyen adatbázisok ugyan ma még nem léteznek, de a csírájuk már megtalál-

ható. Például a Jackson Laboratórium által fenntartott internetes *Induced Mutant Resource* (IMR) adatbázis (<http://www.jax.org/imr/index.html>), vagy a *Transgenic Targeted Mutation Database* (TBASE; <http://tbase.jax.org/>), valamint a BioMedNet által fenntartott *Mouse Knockout and Mutation Database* (<http://research.bmn.com/mkmd>) már átfogó információkat nyújt transzgenikus egerekről. Szintén elkezdtek működni olyan nyílt internetes fórumok, melyek lehetővé teszik az elképzelések és adatok szabad áramlását (Surjo–Arndt, 2001). Bioinformatikai eszközök, melyeket eredetileg a genetikai információk feldolgozására fejlesztettek ki, fontos szerepet fognak majd játszani a viselkedési és egyéb fenotípusos adatok feldolgozásában, értékelésében.

Új tudományág születésének vagyunk szemtanúi: a *phenomics* hasonlóan a *genomics* tudományához egy forradalmat jelent majd a fenotípus elemzésével kapcsolatos vizsgálatokban. Hardver- és szoftvermérnökök dolgoznak majd együtt viselkedéskutató és neurobiológus kollégáikkal, hogy közösen oldják meg az évszázad nagy kérdését: miként szabályozzák a gének az agy működését. De ez nem csupán egy izgalmas tudományos kérdés. Megválaszolása lehetővé fogja tenni azt is, hogy új módszereket dolgozzunk ki számtalan, az emberi agyat érintő betegség gyógyítására. A fenotípus kifinomult módszerekkel való vizsgálata, csakúgy mint az elegáns genetikai módszerek, fontos szerepet fog játszani e cél elérésében.

Kulcsszavak: *agykutatás, egér, fenotípusvizsgálat, genetika, idegrendszer, magatartás, mutáció, transzgen technológia*

Köszönetemet szeretném kifejezni dr. Gabos Györgynek és Gerlai Júliának, hogy értékes bírálatukkal segítették e cikk megírását.

IRODALOM

- Crawley, Jacqueline N. – Paylor, Richard (1997). A Proposed Test Battery and Constellation of Specific Behavioral Paradigms to Investigate the Behavioral Phenotypes of Transgenic and Knockout Mice. *Hormones and Behavior*. **31**, 197-211.
- Crusio, Wim E. – Gerlai, Róbert (eds.) *Handbook of Molecular-Genetic Techniques for Brain and Behavior Research*, Elsevier, Amsterdam
- Fitch, Thomas – Adams, B. – Chaney, S. – Gerlai R. (2002). Force Transducer Based Movement Detection in Fear Conditioning in Mice: A Comparative Analysis. *Hippocampus*. **12**, 4-17.
- Gerlai Róbert – Adams, B. – Fitch T. – Chaney, S. – Baez, M. (2002). Performance Deficits of Mglur8 Knockout Mice in Learning Tasks: The Effects of Null Mutation and the Background Genotype. *Neuropharmacology*. **43**, 235-249.
- Gerlai Róbert (2001): Behavioral Tests of Hippocampal Function: Simple Paradigms, Complex Problems. *Behavioural Brain Research*. **125**, 269-277.
- Gerlai Róbert – Clayton, Nicola S. (1999): Analysing Hippocampal Function in Transgenic Mice: An Ethological Perspective. *Trends in Neurosciences*. **22**, 47-51.
- Gerlai Róbert (1996). Gene Targeting Studies of Mammalian Behavior: Is It the Mutation or the Background Genotype? *Trends in Neurosciences*. **19**, 177-181.
- Gould, James L. (1974). Genetics and Molecular Ethology. *Zeitschrift für Tierpsychologie*. **36**, 267-292.
- Hatcher, Jonathan P. – Jones, D. N. C. – Rogers, D. C. – Hatcher, P. D. – Reavill, C. – Hagan, J. J. – Hunter, A. J. (2001). Development of SHIRPA to Characterize the Phenotype of Gene-Targeted Mice. *Behavioural Brain Research*. **125**, 43-47.
- Lindén, Anni-Maija – Johnson, B. – Peters, S. – Shannon, H. – Tian, M. – Wang, Y. – Yu J. – Koster, A. – Baez, M. – Schoepp, D. (2002). Increased Anxiety-Related Behavior in Mice Deficient for Metabotropic Glutamate 8 (Mglu8) Receptor. *Neuropharmacology*. **43**, 2, 251-260.
- Paigen, Kenneth – Eppig, Janan T. (2000). A Mouse Phenome Project. *Mammalian Genome*. **11**, 715-717.
- Rousseau, Jacob B. – Lochem, P. B. A. – Gispen, W. H. – Spruijt, B. M. (2000). Classification of Rat Behavior with an Image-Processing Method and a Neural Network. *Behavior Research Methods Instruments & Computers*. **32**, 63-71.
- Silva, Alcino J. – Paylor, R. – Wehner, M. J. – Tonegawa, S. (1992). Impaired Spatial Learning in A-Calcium-Calmodulin Kinase II Mutant Mice. *Science* **257**, 206-211.
- Surjo, David – Arndt, Saskia S. (2001). The Mutant Mouse Behavior Network, A Medium to Present and Discuss Methods for the Behavioural Phenotyping. *Physiology and Behavior*. **73**, 5, 691-694.

