

Fascinerande forskning

*för skolan med fokus på
cell- och molekylärbiologi*



Fascinerande forskning

från Nationellt resurscentrum för biologi och bioteknik, 2018

Produktion och tryck har möjliggjorts tack vare bidrag från Tage Swahns Stiftelse för Undervisning och Forskning

Redaktion: Lisa Reimegård (redaktör och grafisk form), Britt-Marie Lidesten (föreståndare), Kerstin Westberg, Ida Solum

Bildförteckning och övriga referenser, se sidorna 79–80

För fler exemplar, kontakta info@bioresurs.uu.se

Upplaga: 14 000 exemplar

ISBN 978-91-976647-9-0

Tryck: DanagårdLiTHO AB



Fascinerande forskning

| | |
|--|----|
| INTRODUKTION | 2 |
| GENTTEKNIKENS UTVECKLING | 4 |
| GENSAXAR ÄNDRAR DNA – om CRISPR-teknik | 16 |
| ARV + MILJÖ – om epigenetik | 26 |
| LITEN BLIR STÖRRE – om embryonalutveckling | 36 |
| LIVETS DJUPASTE RÖTTER – om livets utveckling | 44 |
| VÅRT URSPRUNG – om människans evolution | 54 |
| OSYNLIGA MEN FARLIGA – om smittspridning och -spårning | 62 |
| VÅRA MÅNGA VÄNNER – om människans mikrobiom | 72 |
| BILDFÖRTECKNING OCH ÖVRIGA REFERENSER | 79 |

Fascinerande forskning

Följ med på en resa i biologins landskap – ett landskap som snabbt förändras och som är fascinerande att lära känna och spännande att orientera sig i. Inte minst är det väsentligt att undervisningen i skolan fångar upp det nya som händer inom biologiområdet.

Det här magasinet handlar om de minsta beståndsdelarna, cellerna och livets molekyler, och om hur kunskaperna kan användas för att förstå sammanhang och hitta tillämpningar.

Biologi är ett mångfacetterat ämne och kunskapsutvecklingen inom biologiområdet påverkar oss som individer såväl som i ett samhällsperspektiv, vilket visas av exemplen nedan:

Biologisk kunskap ger ökad förståelse:

Vi förstår allt mer om människans och andra organismers evolution och hur samspelet inom ett ekosystem fungerar.

Biologisk kunskap påverkar oss:

Utvecklingen inom det medicinska vetenskapsområdet öppnar för att på molekylnivå förstå orsaker till sjukdomar och hitta behandlingsmetoder.

Biologisk kunskap behövs för välgrundade beslut:

Det gäller bland annat beslut som har betydelse på individnivå för vår hälsa och beslut som är viktiga i ett samhällsperspektiv och rör omställningar beroende på klimatförändringar.

Forskning

Forskningen inom biologiområdet expanderar extremt snabbt och grunden för den snabba utvecklingen är nya metoder som har utvecklats för att kunna arbeta med celler och stora biomolekyler som nukleinsyror och proteiner. Förutsättningen är den enorma datakraft som utvecklats parallellt och gör det möjligt att lagra och analysera stora datamängder.

Cell- och molekylärbiologi rör sig i gränslandet mellan biologi, kemi, fysik, medicin, matematik, teknik och data. Men grundläggande är biologiska frågeställningar kring processer i celler. På forskarnivå samarbetar man ofta över ämnesgränserna kring ett forskningsprojekt där kompetenser från olika vetenskapsområden behövs. Behovet av en ökad ämnesintegrering växer också i skolan eftersom ämnens gränser inom vissa områden blir flytande.

I det här magasinet har vi valt att lyfta fram åtta delområden, men självklart ger det endast en liten glimt av allt

som händer inom biologiområdet. Inom varje del berättar forskare och experter om utvecklingen inom sina respektive områden och vi får en inblick i deras arbete. Vi kan inte veta vilken inriktning forskningen kommer att ta framöver, men säkert kommer några av spåren som beskrivs i magasinet att leda vidare till nya upptäckter och viktiga tillämpningar.

Biologin utvecklas

Intressant är att fundera över utvecklingen av biologiamnet. På 1700-talet, Carl von Linnés tid, låg fokus på att beskriva, namnge och systematisera organismvärlden. Botaniken stod i centrum för Linnés vetenskapliga arbete och ett bakomliggande syfte var att hitta ekonomiskt värdefulla arter. Linné insåg tidigt betydelsen av att sprida kunskaperna till nya generationer och var mycket engagerad i pedagogiska frågor kring praktisk och konkret undervisning, vilket bland annat tog sig uttryck i systematiska exkursioner (herbationer) till naturmiljöer i Uppsalas omgivning.

Under 1800-talet växte kunskapen om cellerna. På 1870-talet iakttog forskare för första gången hur en äggcell och en spermie förenades och förstod hur befruktning gick till. Studierna gjordes på ägg och embryon från sjöborre eftersom sjöborre har yttre befruktning och de första delningsstadierna är lätta att se i mikroskop. Långt senare såg man för första gången den mänskliga äggcellen. Man studerade också cellernas olika delar i mikroskop, som exempelvis cellkärna och kromosomer, men förstod inte förrän långt senare vilken funktion de hade. Kunskapen om vilka strukturer i cellerna som var viktiga för ärftligheten växte efterhand, men det var först på 1960-talet som man fick en förståelse för hur DNA styr bildningen av proteiner.

1900-talet är framför allt molekylärbiologins århundrade. Grundläggande kunskaper om DNA, proteiner och celler etablerades och gav förståelse för processer och sammanhang.

Tillämpningar av gentekniken får betydelse vid tillverkning av biotekniska produkter och i medicinska sammanhang. Slutet av 1900-talet och början av 2000-talet innebär också starten för stora forskningsprojekt. Först handlade det om att kartlägga människans hela genom och nu arbetar man vidare med att beskriva kroppens proteiner och celler. En övergripande frågeställning är hur sambandet ser ut mellan en sekvens i DNA, proteinet som bildas och effekten på cell- och organismnivå.

Undervisning i biologi

Biologiundervisningen handlar om olika organisationsnivåer och om processer inom och mellan dessa nivåer, från det största till det minsta: ekosystem – samhällen – organismer – organsystem – organ – celler – molekyler. Vi växlar ofta snabbt och självklart mellan dessa organisationsnivåer och förväntar oss att eleverna ska hänga med.

Biologi är ett omfattande ämnesområde och vi hoppas att eleverna ska få en bredd i sina biologikunskaper, men det krävs också ett djup. Utan kunskaper i cell- och molekylärbio­logi blir mycket av det som händer inom biologiområdet och beskrivs i media omöjligt att förstå. Undervisningen i skolan behöver avspegla utvecklingen inom biologifämnet och ny kunskap nå eleverna. Det innebär också att undervisning om cellernas och molekylernas värld borde börja tidigt för att eleverna ska få goda kunskaper och nå en nivå som är jämförbar internationellt.

Magasinets struktur

Magasinet är främst avsett för lärare som undervisar i biologi på gymnasium, hög­stadium och vuxenutbildning, men är också tänkt att kunna läsas av lite äldre elever och andra med intresse för aktuell biologi.

Varje del börjar med en introduktion med koppling till biologiundervisning i skolan. Därefter följer någon eller några texter skrivna av forskare och experter verksamma inom området. Som avslutning presenteras översiktligt laborationer, övningar och diskussionsfrågor. Utförliga beskrivningar av uppgifterna, samt referenser och länkar till fördjupande material finns på vår hemsida i anslutning till de olika delarna i magasinet.

Åtta delar

1953 publicerades en av de mest berömda forskningsartiklarna genom tiderna. Det var James Watson och Francis Crick som beskrev den korrekta strukturen för DNA-molekylen. 1962 belönades de tillsammans med Maurice Wilkins med Nobelpriset i fysiologi eller medicin. Men hur kunde endast fyra olika nukleotider i DNA styra alla äftliga egenskaper? 1968 års nobelpristagare, Robert W. Holley, Har Gobind Khorana och Marshall W. Nirenberg, kunde förklara hur DNA-koden fungerade. Nu öppnades möjligheterna att

studera och redigera DNA med hjälp av gentekniska metoder. Den första delen i magasinet handlar om genteknikens utveckling, både i ett längre och ett kortare perspektiv. Vi får följa hur forskningen bygger vidare på tidigare kunskaper och får möta frågeställningar som är aktuella just nu. Kunskaper i genteknik utgör grunden för den forskning som presenteras i senare delar.

Den andra delen beskriver CRISPR-tekniker, med tillämpningar inom växtförädling och medicin. Metodiken används för att på ett kontrollerat sätt förändra DNA och har slagit igenom stort på bara några år. Men det räcker inte att ta reda på sekvensen av nukleotider i DNA för att förstå hur en organism utvecklas med sina varierande egenskaper. Att miljö­n påverkar uttrycket av DNA uppmärksammas allt mer. I den tredje delen handlar det om epigenetisk påverkan av miljögifter och livstilsfaktorer. Andra aspekter på epigenetikens betydelse beskrivs i del fyra och handlar om utvecklingen av en individ, från ett befruktat ägg till vuxen individ.

Frågor om livets och specifikt människans ursprung har engagerat människor i alla tider. Nu växer kunskaperna om evolutionen av organismvärlden. Det är den snabba utvecklingen av metoder för att analysera dels fossilt DNA, dels allt DNA man kan finna i en viss miljö som möjliggör detta. I del fem handlar det om forskning kring ursprunget till de enklaste celltyperna, om bakterier, arkéer och enkla eukaryota celler, och i del sex om människans evolution.

Vi människor är beroende av mikroorganismer, för vår överlevnad och för att vi ska må bra, men vi påverkas också negativt av vissa mikroorganismer. Del sju handlar om mikroorganismer som är till skada för oss, om spridning av smitta och om smittspårning. I del åtta beskrivs i stället mikroorganismer som lever i vår kropp och har stor betydelse för vårt välbefinnande.

Stort tack

Ett stort tack till alla forskare och övriga medverkande som bidragit med texter och bildmaterial och som vänligt svarat på våra frågor.

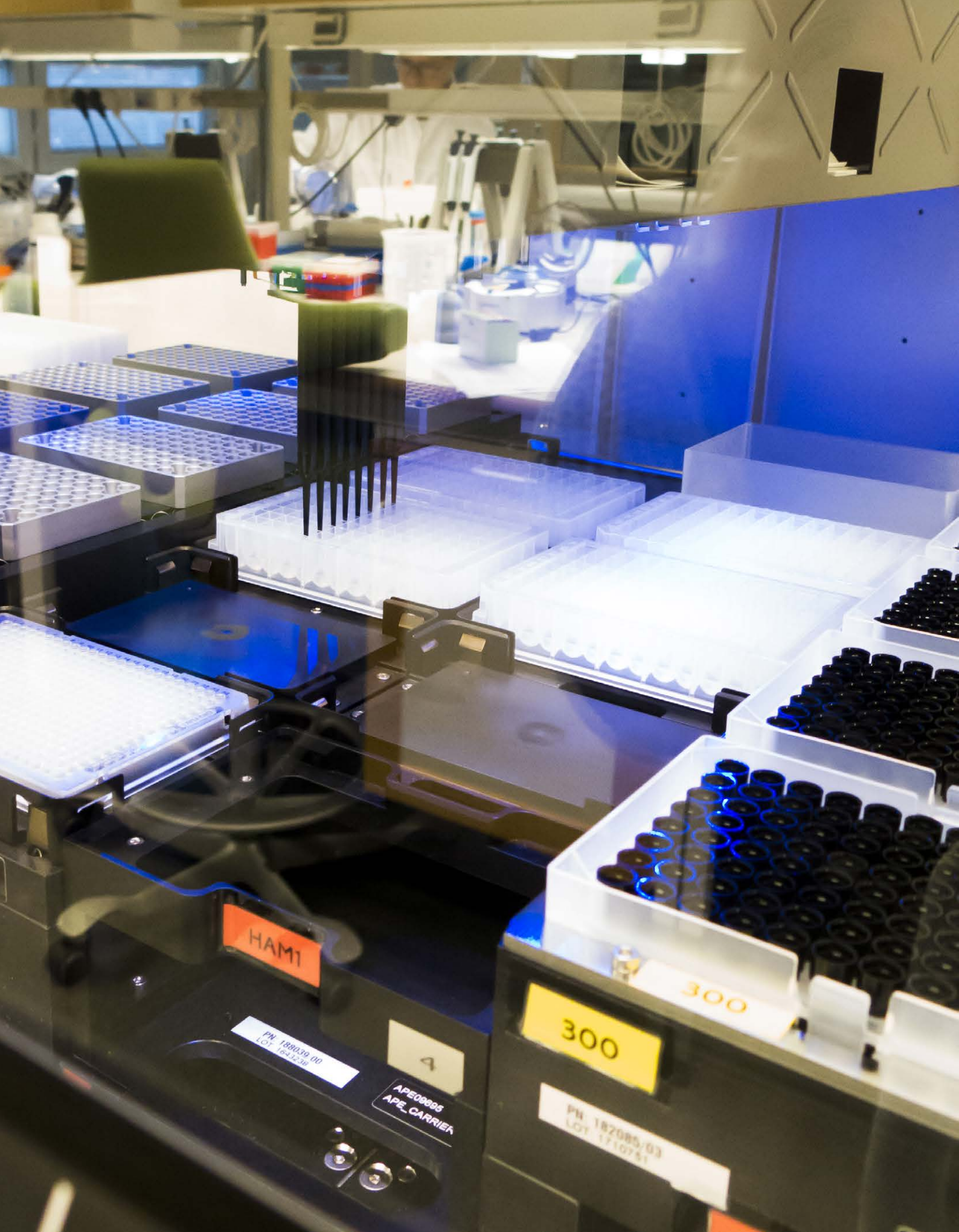
Vi vill också tacka för det bidrag från Tage Swahns stiftelse för Undervisning och Forskning, som gjort det möjligt för oss att ge ut detta magasin.

Trevlig läsning!

Vi hoppas att innehållet i magasinet väcker intresse och nyfikenhet att veta mer om aktuell forskning inom området cell- och molekylärbio­logi.



Britt-Marie Lidesten, föreståndare
Nationellt resurscentrum för biologi och bioteknik
Uppsala universitet



HAM1

PH 188039/00
LOT 1643236

4

APE00005
APE_CARRIER

300

PH 182085/03
LOT 1710751

300



Genetisk modifiering

De senaste årtiondena har utvecklingen inom genteknikområdet gått med en hastighet som kan jämföras med utvecklingen inom IT, med betydelsefulla tillämpningar inom bland annat växtförädling och medicin.

Första gången forskare förde in en isolerad gen i en organisms arvsmassa var 1972. Det var en bakterie som fick sitt DNA modifierat och det väckte upståndelse i forskarvärlden. Det ledde till ett upprop i den vetenskapliga tidskriften Science där en rad forskare föreslog att allt arbete med så kallat rekombinant DNA skulle upphöra till dess riktlinjer var på plats. Riktlinjerna arbetades fram och det hölls tre konferenser mellan åren 1973 och 1975.

Den första produkten från genmodifierade bakterier som lanserades var insulin 1982. Idag produceras en rad läkemedel och andra produkter av genmodifierade mikroorganismer. Ett exempel är enzymet kymosin som kan användas vid tillverkning av ost istället för löpe från kalvmagar. I löpe är det just kymosin som gör att mjölken koagulerar.

Under 1974 lyckades forskare genetiskt modifiera det första djuret, en mus. Drygt 40 år senare godkändes laxen Aqua Advantage som det första genmodifierade djuret att användas som livsmedel, 2015 i USA och 2016 i Kanada. Laxen har modifierats för att växa snabbare.

Figur 1. På bilden syns en stor transgen silverlax (*Oncorhynchus kisutch*) och framför den en liten icke-transgen silverlax som båda är cirka ett år gamla och har vuxit upp i fiskodlingsmiljö. De transgena fiskarna har tagits fram av Robert Devlin vid kanadensiska Fisheries and Oceans, West Vancouver.

Foto: Fredrik Sundström och Mare Löhms

Bilden till vänster är tagen på SNP&SEQ-teknologiplattformen på ScilifeLab i Uppsala där storskalig DNA-sekvensering och genotypning utförs.

Genmodifiering av växter

Knappt tio år efter att det första djuret modifierats publicerades tre vetenskapliga artiklar där forskare visade att man även kunde modifiera växter. De tre forskargrupperna använde samma metod för att föra in en isolerad gen i växtens arvsmassa, naturens egen genmodifierare, bakterien *Agrobacterium tumefaciens*. Bakterien orsakar krongallsjuka, en sjukdom som yttar sig som tumörartade utväxter på vissa växtarter. Det bakterien gör i naturen är att föra in gener i växtens arvsmassa för tillväxthormon och för ämnen som kallas opiner. Generna för tillväxthormon gör att de celler som bakterien modifierat delar sig okontrollerat och opiner ger bakterierna näring. Genom att genmodifiera växten har bakterien skaffat sig ett eget skafferi. Det forskarna gjorde var att byta ut de gener bakterien förde över till växten mot gener av intresse vid växtförädling och låta bakterien sköta arbetet. Sedan dess har andra tekniker för att modifiera växter utvecklats, men forskare använder fortfarande i stor utsträckning naturens egen genmodifierare.



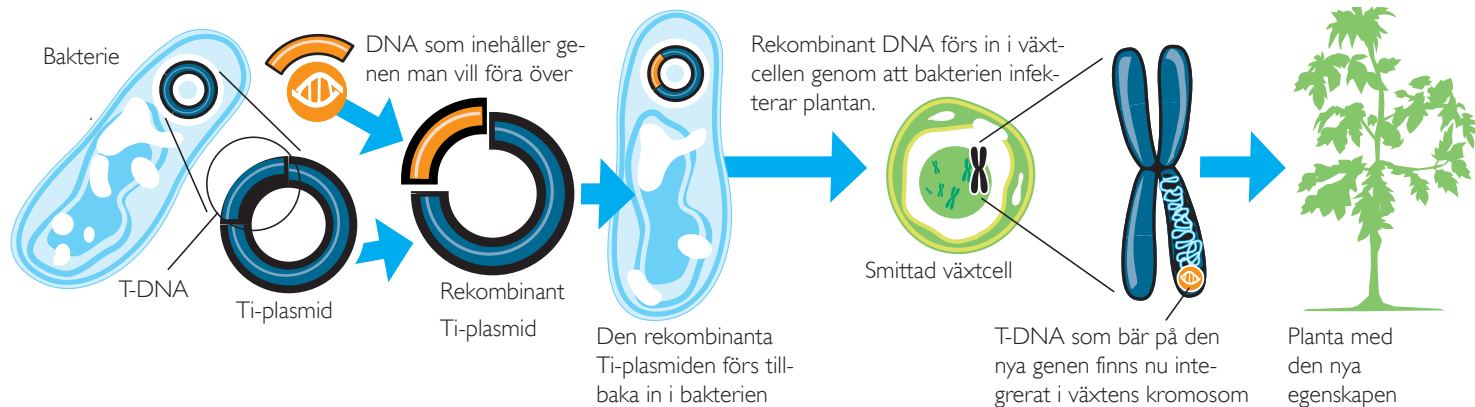
Texten är skriven av

Marie Nyman

Kanslichef vid Gentekniknämnden

Hon har disputerat i växtfysiologi vid Uppsala universitet och bedrivit forskning vid Sveriges lantbruksuniversitet, SLU, där hon även var programstudierektor för bioteknologiprogrammet. Sedan 2007 är hon verksam vid Gentekniknämnden.





Figur 2. Den vanligaste metoden för genetisk transformering av växter är att utnyttja jordbakterien *Agrobacterium tumefaciens* förmåga att överföra DNA. Bakterien har en plasmid som bär på tumörinducerande (Ti) gener som, tillsammans med andra gener, fogas in i DNA:t hos den infekterade växten. Ti-generna kan ersättas av en eller flera gener som förädlaren valt.

Illustration och bildtext från Framtidens mat – om husdjursavel och växtförädlning, MISTRA Biotech, SLU. Illustration: Fredrik Saarkoppel

Marknadsgodkännande – tillstånd att använda kommersiellt

Lipoproteinlipasbrist – en sällsynt sjukdom som bland annat kan ge akut och mycket smärtsam inflammation i bukspottkörteln

Tidslinjen visar exempel på hur gentekniken utvecklats från 1972 till 2017. Årtalen har inte placerats med jämna tidsintervall.

År 1994 godkändes den första växten som livsmedel, en tomat med fördröjd mognad. Sedan dess har arealerna med genmodifierade grödor stadigt ökat, från 1,7 miljoner hektar under 1996 till 190 miljoner hektar 2017. Det är cirka 12 procent av jordens odlingsbara mark.

För att en genetiskt modifierad gröda ska **marknadsgodkännas** inom EU krävs att medlemsstaterna, vid en omröstning, når så kallad kvalificerad majoritet. Det innebär minst 55 procent av medlemsstaterna och minst 65 procent av EU:s befolkning. Medlemsstaterna har inte lyckats nå kvalificerad majoritet varken för ja eller nej sedan 1998, då en fodermjäs med motståndskraft mot bland annat majsrott godkändes för odling. Det är den enda genmodifierade gröda vi odlar inom EU och den odlades 2016 på cirka 130000 hektar, den största delen i Spanien.

Genterapi

Genetisk modifiering används även inom medicinen i form av bland annat genterapi. Genterapi är en behandlingsform som innebär att en korrekt gen förs in i vissa av patientens celler för att kompensera för motsvarande muterad gen. Det kan liknas vid en transplantation där man överför en gen i stället för ett organ.

De första försöken med genterapi genomfördes 1990. De två patienter som behandlades hade båda en allvarlig immunbristsjukdom, men försöken gav inte de resultat man hoppats på. Nio år senare avled en patient till följd av en genterapi-behandling, vilket var ett stort slag mot hela genterapiområdet.

De senaste åren har dock genterapin fått ett uppsving. En rad kliniska försök har genomförts med lyckade resultat och under 2017 godkände USA den första genterapin i landet. Det är en behandling avsedd för patienter med en grupp ögonsjukdomar som drabbar näthinnan. Inom EU har två genterapibehandlingar godkänts. Den ena är för behandling av den sällsynta sjukdomen familjär **lipoproteinlipasbrist** som godkändes 2012. Företaget kommer dock inte att ansöka om förnyat marknadsgodkännande när tillståndet löper ut. Anledningen är inte att det inte fungerar eller är säkert för patienten, utan för att behandlingen är för kostsam, nästan en miljon amerikanska dollar per behandling. Den andra genterapibehandlingen är mot svår kombinerad immunbrist, ett samlingsnamn för de allvarligaste formerna av medfödda immunbrister. Först ut att godkänna en genterapibehandling var dock Kina. Där marknadsgodkändes redan 2003



en behandling för patienter med epitelcells-carcinom i huvudet och i nacken.

En variant av genterapi är immunterapi för behandling av cancer. Immunförsvaret känner igen och angriper det som är främmande för kroppen som exempelvis förkylningsvirus och bakterier. Cancerceller kan också ses som främmande för kroppen eftersom de avviker från normala celler, men immunförsvaret är inte så effektivt när det gäller att oskadliggöra dem. En form av immunterapi vid behandling av cancer innebär att T-celler (en del av immunförsvaret) genomodifieras så att de blir bättre på att hitta och döda cancerceller. Vanligtvis används patientens egna T-celler. Cellerna tas ut ur kroppen, modifieras och förökas upp till miljarder. Därefter förs cellerna tillbaka in i patienten.

I april 2012 blev en flicka från USA den första patienten i världen att behandlas med genomodifierade T-celler. Den cancerform hon hade var akut lymfatisk leukemi (en form av blodcancer) och hon svarade inte på standardbehandlingar. Sedan immunterapibehandlingen har flickan varit fri från sin sjukdom. I EU marknadsgodkändes två immunterapibehandlingar 2018, en för behandling av akut lymfoblastisk leukemi, den andra mot vissa varianter av B-cellslymfom.

Gensaxarna

Med genomredigering går det att göra riktade förändringar i arvsmassan. Man kan därmed ändra en egenskap utan att nytt DNA tillförs. De tekniker som används kallas populärt för gensaxar. De första började användas redan på 1990-talet, men det var först i och med CRISPR/Cas9 som användningen av gensaxar tog ordentlig fart (se sidorna 16–25).

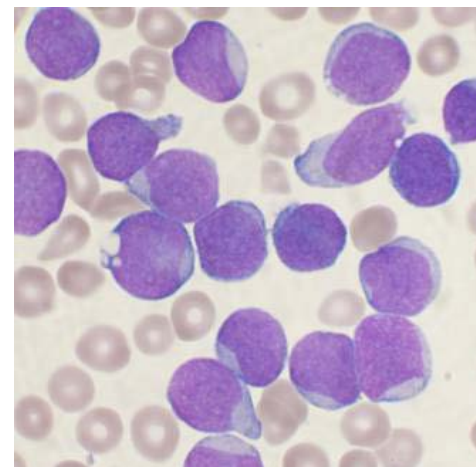
Teknikerna kan exempelvis användas för att skapa en mutation på en förutbestämd plats i arvsmassan så att proteinproduktionen

från en viss gen hämmas. Sedan 1930-talet har man inom växtförädlingen använt strålning eller mutationsframkallande ämnen för att öka den genetiska variationen och på så vis få växter med nya egenskaper. Till skillnad från genomredigering, där man på förhand kan bestämma var i arvsmassan mutationen ska hamna, är den traditionella mutationsförädlingen slumpmässig och förädlaren får i efterhand analysera om någon av alla de mutationer som uppstått lett till en för människan viktig egenskap.

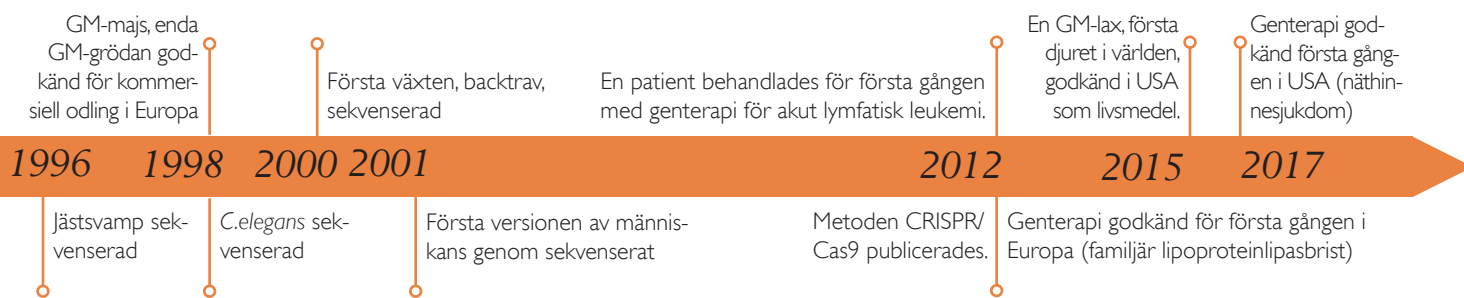
På växter har gensaxar använts för att till exempel ta fram mjöldaggsresistenta tomater, torktålig majs, champinjoner som inte mörknar när de utsätts för stötar och potatis med en förändrad stärkelsekvalitet. Den sistnämnda är svensk och odlades i fältförsök 2017–2018.

När det gäller djur har man med hjälp av genomredigering avlat fram bland annat hornlösa kor, getter med fler och längre kashmirfibrer och grisar med motståndskraft mot vissa virussjukdomar.

Inom EU har man länge diskuterat om riktade mutationer som skapats med hjälp av en gensax leder till att det bildas en genetiskt modifierad organism eller ej. Enligt ett direktiv från 2001 (2001/18 om avsiktlig utsättning av genetiskt modifierade organismer i miljön) leder mutationer som åstadkommit med strålning och mutagena ämnen till en genetiskt modifierad organism, men ska trots det inte regleras som en sådan. I juli 2018 yttrande sig EU-domstolen i frågan och slog fast att undantag från reglerna som gäller genetiskt modifierade organismer endast kan göras för växter som tagits fram med de äldre mutationsteknikerna. Växter som förädlats med hjälp av till exempel gensaxen CRISPR/Cas9 ska däremot regleras som en genetiskt modifierad organism.



Figur 3. Benmärgsprov från en patient med många omogna B-celler (en typ av vita blodkroppar), vilket visar på en form av leukemi. Infärgningen har gjorts med Wrights färglösning.





Figur 4. Den nordamerikanska arten *Elysia chlorotica*, sammetssnigeln, är grön eftersom den tagit upp kloroplaster från sin föda, den gulgröna algen *Vaucheria litorea*. Det överförs även gener från kloroplasterna till sammetssnigelns cellkärna. En naturligt genmodifierad organism har bildats som som kan fotosyntetisera på egen hand!

Bildkälla: Pelletreau et al. 2014

Immunterapi med gensax

Gensaxar har även använts inom immunterapi. Under 2015 behandlades två brittiska barn som led av akut lymfatisk leukemi med genmodifierade och genomredigerade T-celler. Det ena barnet fick sin diagnos vid 14 veckors ålder och behandlades med immunterapi vid 11 månaders ålder, det andra diagnosticerades med blodcancer vid fyra veckors ålder och behandlades vid 16 månaders ålder. Båda barnen hade fått återfall efter gängse cancerbehandling.

Vanligtvis används patientens egna T-celler, men barnen hade inte tillräckligt många friska T-celler. Av den anledningen användes T-celler från en donator. För att minska risken för avstötning inaktiverades vissa gener i donatorns T-celler med gensaxen TALEN. Knappt en månad efter behandlingen fanns inga spår av cancer-celler i varken blod eller benmärg.

Sekvensbestämning

Redan 1976 sekvensbestämdes arvsmassan hos en bakteriofag (ett virus som infekterar bakterier), men det kom att dröja nästan 10 år innan en bakteries arvs massa kartlades. Det var *Haemophilus influenzae*, en bakterie som kan orsaka olika infektioner i de övre luftvägarna. Året efter, 1996, var det dags för den första eukaryota organismen, jästsvampen, och 1998 en rundmask. Första växten sekvensbestämdes år 2000. Det rörde sig om backtrav, en modellorganism som är växtforskarnas motsvarighet till medicinarnas mus. Den första versionen av den mänskliga arvs massan presenterades 2001. Det hade då tagit över tio år och uppskattningsvis kostat 2,7 miljarder dollar. Idag sekvensbestäms arvs massor på löpande band och kostnaden är bara en bråkdel av vad den var 2001.

Horisontell genöverföring

När genetiskt material överförs mellan obesläktade arter kallas det horisontell genöverföring. Den här typen av genöverföring är ett välkänt fenomen bland encelliga organismer som till exempel bakterier. Länge var det oklart i vilken grad horison-

tell genöverföring skedde i flercelliga organismer. I och med att allt fler arvs massor sekvensbestämts har det dock visat sig att det är långt vanligare än man tidigare trott. Man har till exempel visat att sötpotatis bär på aktiva bakteriegeneter och att en lus som lever på ärtväxter integrerat svampgener i sin arvs massa.

Redan på 1970-talet upptäckte forskare att sammetssnigeln *Elysia chlorotica* var grön för att den tagit upp kloroplasterna från sin föda, den gulgröna algen *Vaucheria litorea*. Hur det kommer sig att snigeln kan fotosyntetisera så pass länge med hjälp av de "stulna" kloroplasterna har studerats intensivt, men det var först för några år sedan som man fick svar på frågan. Det visade sig att sammetssnigel inte bara stulit kloroplasterna utan även en gen från den gulgröna algen.

Snabb utveckling

När den första versionen av det humana genomet presenterades höll dåvarande president Bill Clinton presskonferens i Vita huset. Storbritanniens premiärminister Tony Blair var med via satellit och Bill Clinton avslutade det hela med orden, "This is a great day". Idag är sekvensbestämning rutin.

Under 2013 fick genomredigerings-tekniken CRISPR/Cas9 ett sällan skådat genomslag i forskarvärlden. Gentekniknämnden följer och rapporterar om forskning och utveckling inom genteknikområdet och 2013 fick tekniken en egen rubrik i den årliga rapporten *Genteknikens utveckling*. Idag är det bara de allra intressantaste resultaten som tas upp i rapporten och ytterligare tekniker, som bygger på samma princip, har utvecklats sedan dess.

När det gäller odling av genetiskt modifierade grödor har arealen ökat dramatiskt under de senaste 20 åren och omfattade 2017 190 miljoner hektar.

Inom den medicinska forskningen har genterapi fått ett uppsving de senaste åren. Immunterapi för behandling av cancer utsågs av den vetenskapliga tidskriften *Science* till "Breakthrough of the year" 2013. Under 2018 marknads godkändes två immunterapi-behandlingar i EU.

Arvsmassans innehåll

Under de senaste tio åren har metoderna för att analysera DNA utvecklats snabbt, vilket har gett omfattande kunskap om såväl människans som andra organismers arvsmassor. Det har gjort det möjligt att studera hur olika organismer har anpassat sig till sina respektive miljöer, förändra egenskaper hos djur och växter, samt hitta mutationer som kan leda till sjukdom.

Aven om Gregor Mendel redan 1865 studerade hur arvsanlag nedärvdes hos ärtor, dröjde det till 1953 innan Francis Crick och James Watson upptäckte DNA-molekylens tredimensionella struktur. Nya metoder för att sekvensera, det vill säga läsa ordningen på basparen i en individs arvsmassa, möjliggjorde först studier av mikroorganismer och enstaka gener hos människan. Vid slutet av 1900-talet arbetade sedan ett stort antal forskningslaboratorier världen över med att sekvensera människans arvsmassa och en första version publicerades 2001. För att åstadkomma detta användes, under mer än ett decennium, en strategi där de olika laboratorierna arbetade på olika delar av arvsmassan. Därefter satte man ihop dessa delar till en hel arvsmassa. Samtidigt sekvenserade Craig Venter sin egen arvsmassa genom att slumpvis sekvensera korta regioner (totalt drygt fem gånger per baspar) och sedan sätta ihop hela pusslet med hjälp av överlappande sekvenser.

Detta blev starten på ett omfattande arbete att sekvensera arvsmassan för olika däggdjur, andra organismer och fler människor. Nya effektiva och mindre kostsamma sekvenseringsmetoder har utvecklats vartefter, vilket har möjliggjort omfattande studier av genetiken bakom sjukdomar hos både människor och andra däggdjur.

Vad innehåller arvsmassan?

Vid studier av bananflugors arvsmassa tog man fram den så kallade centrala dogmen.

Denna säger att dubbelsträngat DNA ger upphov till enkelsträngat mRNA som i sin tur kodar för proteiner. Även om den centrala dogmen är korrekt har förloppet med tiden visat sig vara mer komplicerat än så.

En första fråga som det tagit tid att besvara är hur många gener det finns i människans arvsmassa. Innan den kartlagts gissade man att människan var så komplex att vi nog behövde cirka 100 000 gener. När den första sekvenseringen var gjord kunde man se att det som mest kunde röra sig om 40 000 proteinkodande gener. Sedan dess har noggrannare jämförelser med andra däggdjur som mus, hund och råtta lett till att man ytterligare minskat antalet till drygt 20 000 proteinkodande gener.

Av den cirka tre miljarder baspar stora arvsmassan tar de proteinkodande generna bara upp cirka 1,5 procent. När man jämför däggdjurs arvsmassor kan man se att närmare 10 procent av arvsmassorna är mycket lika, vilket tyder på att de är funktionella. Dessa funktionella regioner kan vara reglerelement (så kallade enhancers, promotorer, isolatorer), som avgör hur mycket av ett visst protein som ska bildas i en viss vävnad vid en viss tidpunkt. Till detta kommer olika signaler som gör att DNA:t öppnas och modifieras med hjälp av **epigenetik**, samt bildar olika typer av RNA-molekyler. Förutom rRNA och tRNA som länge varit kända för sin roll i proteinsyntesen, har nya studier identifierat både små och stora icke-kodande RNA-molekyler (olika storlekar har olika



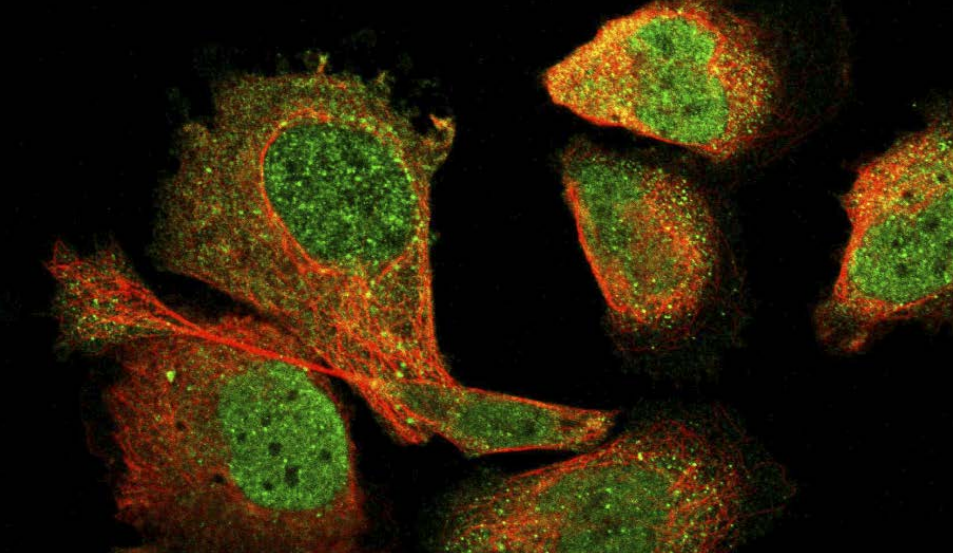
Texten är skriven av:

Kerstin Lindblad-Toh

Professor i komparativ genomik vid Institutionen för medicinsk biokemi och mikrobiologi, Uppsala universitet

Hennes forskningsgrupp använder hunden som en modell för folksjukdomar och kartlägger exempelvis cancer, autoimmuna sjukdomar, hjärt- och kärlsjukdomar samt neurologiska sjukdomar. Sammantaget arbetar de med 20 sjukdomar.

Epigenetik – se sidorna 26–35.



Figur 5. Celler där grön färg visar att genen *Superoxide dismutase 1 (SOD1)* är aktiv. Genen har betydelse för utveckling av ALS (amyotrofisk lateral skleros), en sjukdom där hjärnans nervceller bryts ner.

Källa: The Human Protein Atlas

Annoterad sekvens – DNA- eller proteinsekvens tillsammans med upplysningar och kommentarer om funktioner.

Linkage-studier – testar om genetiska varianter kan kopplas till sjukdomar eller egenskaper.

namn) som tros reglera andra mRNA-molekyler stabilitet och därmed påverka hur mycket protein som bildas. Se figur nedan.

När man söker efter vilka funktioner arvsmassan har kallas detta för att **annotera**. Informationen kan exempelvis visa i vilka celler vissa DNA-sekvenser används, vilka proteiner som binder till dem och vilka regioner i arvsmassan som arbetar ihop i olika vävnader. Bland annat har man sett att **SOD1**-genen, som kan ge **amyotrofisk lateral skleros (ALS)**, uttrycks olika mycket i olika vävnader, till exempel mycket i hjärna och lever, men lite i bukspottskörteln (se bild ovan).

Cirka 50 procent av däggdjurs arvsmassor innehåller repetitivt DNA – ofta kallat "skräp-DNA". Dessa sekvenser, som kan föröka sig själva, kan vara just skräp och inte ha någon direkt funktion i arvsmassan, men

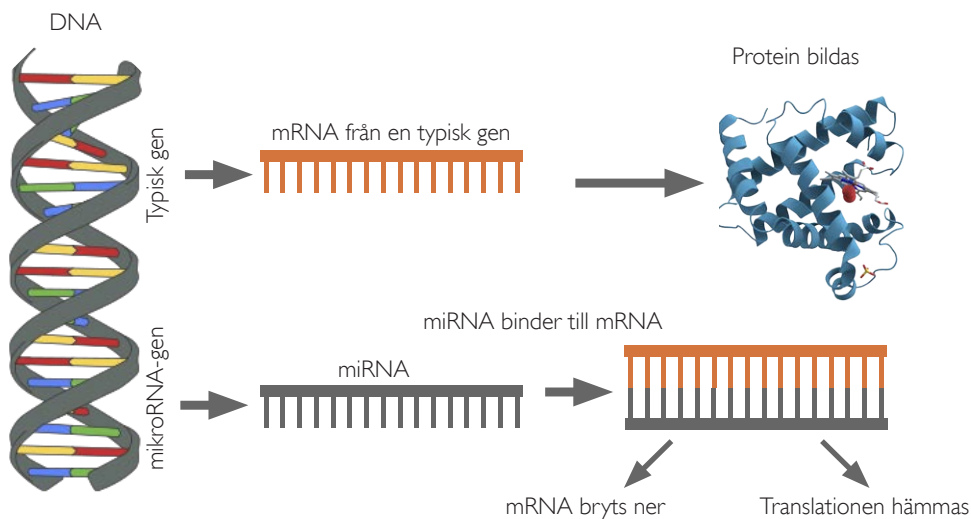
i vissa fall kan de slumpvis ge upphov till nya reglersignaler. Även om man inte noggrant mätt hur stor effekt skräp-DNA egentligen haft för innovationer i människor eller vissa däggdjur, är det tydligt att de i vissa fall ändrat proteinuttryck.

Hur letar man sjukdomsgener

Redan innan människans arvs massa var färdigsekvenserad använde man så kallade **linkage-studier** för att hitta sjukdomsgener som var enkelt nedärvda (det vill säga berodde på ett dominant eller recessivt anlag). Goda exempel är till exempel sicklecellanemi och vissa ögonsjukdomar. Till detta använde man markörer, så kallade SSLPs (simple sequence length polymorphism) och såg om en viss variant av en markör följde sjukdomen inom en eller flera stora familjer.

Många av våra folksjukdomar beror både på arv och miljö och kan orsakas av en kombination av olika förändringar i många olika gener. För att leta efter dessa sjukdomsgener behövde man först kartlägga de varianter (så kallade single nukleotid polymorfier, SNPs), som gör att cirka var tusende baspar skiljer mellan en individs två kromosomer. När man väl hittat miljontals markörer genom att sekvensera arvs massan hos olika människor i olika länder kan man leta sjukdomsgener genom att se om sjuka individer har en högre frekvens av vissa markörvarianter

Figur 6. Övre delen av figuren visar mRNA som ger upphov till ett protein. Nedre delen av figuren visar hur miRNA kan reglera proteinsyntesen på två sätt. Antingen kan translationen stoppas eller också kan mRNA brytas ner: miRNA är korta, enkelsträngade RNA-molekyler, med cirka 22 nukleotider.



än friska individer. Till detta används ofta många tusentals patienter och friska kontrollpersoner. Eftersom det finns så många sjukdomsmutationer är det ibland inte så lätt att bevisa deras roll och förklara hur de leder till sjukdom, men det är ändå möjligt att närma sig de biologiska mekanismer som inte fungerar ordentligt, till exempel **synapsers stabilitet vid tvångssyndrom**.

Denna typ av analys kallas **genomvid association** och har tillämpats på många hjärtkärlsjukdomar samt immunologiska och psykiatriska sjukdomar. För vissa sjukdomar har det även varit effektivt att sekvensera hela arvsmassan hos patienten för att hitta ovanliga eller nya mutationer.

Djuren hjälper oss

Hur hjälper oss djuren att förstå arvsmassan och genetiken bakom sjukdomar? De delar av arvsmassan som fyller viktiga funktioner och kodar för proteiner, ickekodande RNA eller enhancers (regler-element som ger mer protein) kommer oftast att se lika ut i alla däggdjur. De cirka 5400 olika däggdjuren har bildats under cirka 100 miljoner år och viktiga DNA-bitar har hållits likadana genom naturligt urval. I andra fall förändras arvsmassan så att olika däggdjur kan adaptera till nya miljöer. Till exempel har både jättepandan och röd panda utvecklat en andra tumme som gör det lättare att hålla fast bambuskotten som båda arterna lever av – denna

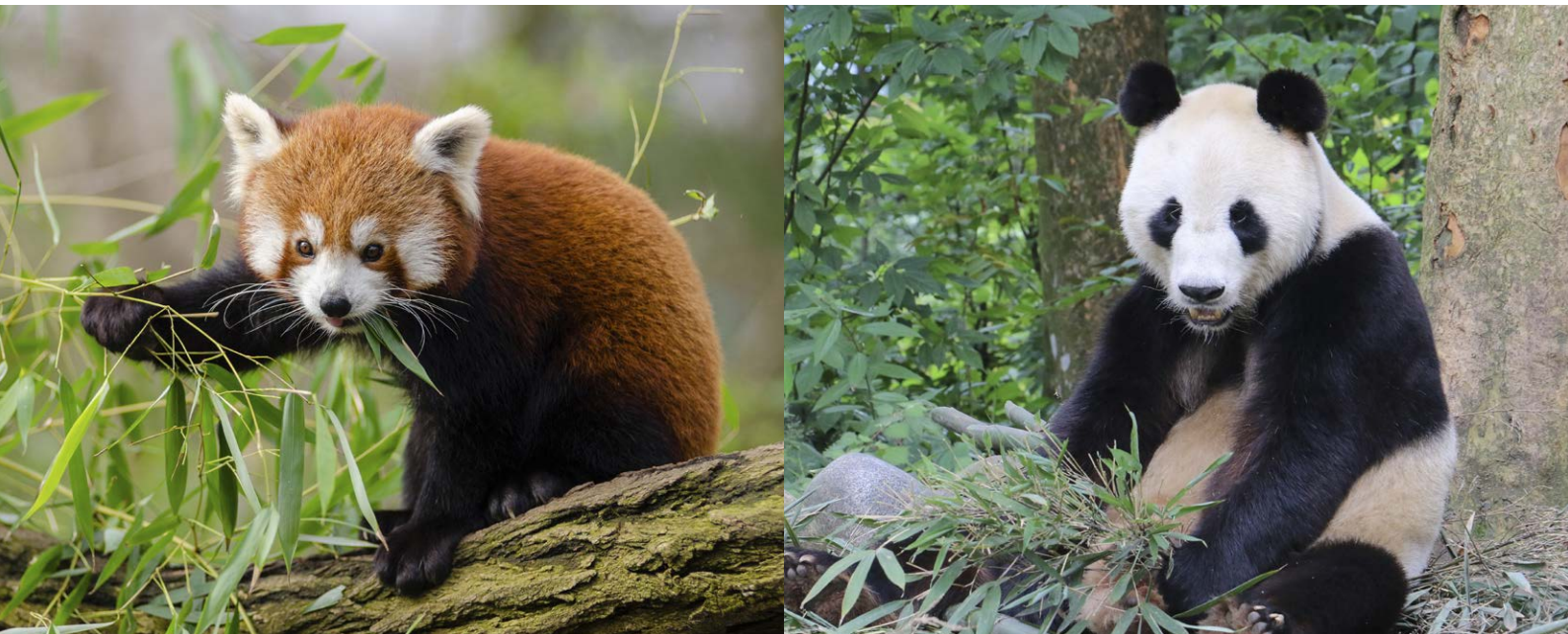
har utvecklats trots att de inte alls är nära släkt (se nedan och nästa sida). En tidigare studie med 29 olika arter av däggdjur hittade många viktiga reglerelement i människans arvsmassa. En pågående studie av 250 däggdjur kommer att ge mer kunskap om människans och olika djurs arvsmassa, och vilka mutationer som kan vara kopplade till sjukdom eller adaptation. Dessa kunskaper kan också utnyttjas i arbetet att bevara utrotningshotade djur.

För att förstå sjukdomar och testa behandlingsmöjligheter används ibland möss som försöksdjur. Musens arvsmassa kartlades strax efter människans och många studier har gjorts sedan dess av likheter och skillnader mellan arvsmassorna hos människor och möss, samt av anlag som varierar mellan olika musstammar. Även om möss används mycket, har de inte samma naturliga variation och lever inte i samma miljö som vi människor. Hundar, däremot, delar vår miljö och lider av ungefär samma sjukdomar som människor, inklusive cancer och immunologiska sjukdomar. Vissa raser får ofta vissa specifika sjukdomar och det gör att det blir lättare att hitta dessa sjukdomsanlag. Genom att ta blodprov på såväl sjuka som friska familjehundar och sedan leta sjukdomsgener hoppas man kunna skapa bättre behandlingar för både hundar och människor. Till exempel får engelsk springer spaniel ofta tumörer i bröstkörtlarna medan schäferhundar får eksem.

Synapsers stabilitet – har till exempel betydelse vid tvångssyndrom som innebär att beteenden upprepas ett stort antal gånger. Tvångssyndrom finns både hos människor och exempelvis hos hundar. Hundar som slickar sig oupphörligt eller hela tiden jagar sin svans visar tecken på tvångssyndrom. Den forskargrupp som Kerstin Lindbald-Toh leder har studerat förändringar i både proteinkodande och reglerande gener hos hundar och människor som har tvångssyndrom.

Genomvid association – innebär att man söker efter varianter i nukleotidsekvensen hos ett stort antal personer. Därefter undersöker man om sjuka individer har en högre frekvens av vissa av dessa varianter än friska.

Röd panda nederst till vänster (figur 7) och jättepanda till höger (figur 8) lever båda av bambu. De har båda en extra, falsk tumme, som underlättar när de håller i bambuskotten. Den extra tummen har inte samma evolutionära ursprung, vilket visas av släktrådet på nästa sida.



Hjälp till sjuka

Hur kan genetisk information användas för att hjälpa sjuka? Den kan vara både lätt och svår att tolka. Vid Down's syndrom har individen trisomi 21 (tre istället för två exemplar av kromosom 21). Denna information kan ge både en diagnos och en möjlighet att avbryta graviditeter om så önskas. I andra fall kan en tydlig diagnos möjliggöra tidig behandling, innan ett problem hunnit drabba patienten. Ett exempel är det PKU-test som alla nyfödda i Sverige genomgår. Om patienten har en defekt i fenylalaninmetabolismen på grund av en mutation i genen *fenylalaninhydroxylas*, kan detta behandlas med födotillskott. Utan behandling utvecklar barn med PKU en allvarlig hjärnskada.

För komplexa sjukdomar är det inte framför allt en diagnos som kan fås med hjälp av genetiska studier. Istället får man en biologisk förståelse för hur en sjukdom uppkommer eller hur den kan ta sig olika uttryck hos olika patienter. Detta kan i sin tur ge möjlighet att dela in individer med en viss sjukdom i olika grupper, och eventuellt kan det även indikera vilka behandlingsmetoder som kan lyckas.

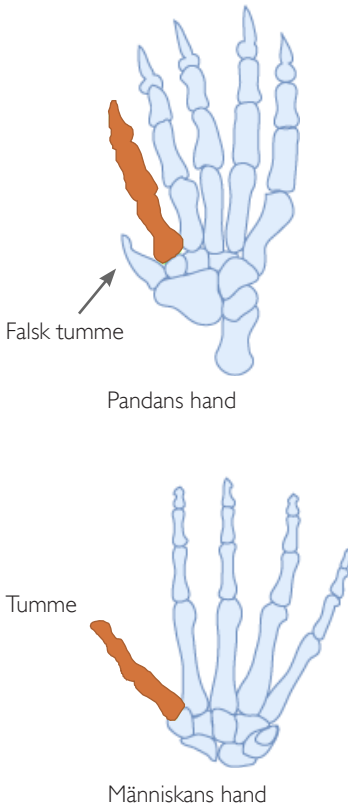
Cancer beror både på nedärvda riskfaktorer och spontana mutationer, som upp-

står i en vävnad i kroppen. När en cancer-cell fått tillräckligt många mutationer kan den undgå de vanliga kontrollsystemen (till exempel immunförsvaret) som förhindrar att celler växer obehindrat. Cancerceller kan ofta få stora genetiska förändringar och kunskap om dessa kan leda till att man väljer olika behandlingsmetoder såsom kirurgi, strålning, kemoterapi och/eller immunterapi av olika slag (se Nobelpriset i fysiologi eller medicin 2018).

Kan vi förändra DNA?

Under de senaste åren har nya metoder att förändra en cell eller organisms DNA utvecklats. Dessa tekniker kallas CRISPR (gensaxar) och kan användas på olika vis. I första hand kan man på ett laboratorium editera arvsmassan i celler så att man kan förstå vad olika mutationer betyder för cellens funktion. Dessutom drömmer många om att kunna använda dessa metoder för att korrigera sjukdomsframkallande mutationer hos människor. Detta kan dock inte göras innan man vet mer om hur förändringarna påverkar hela människan.

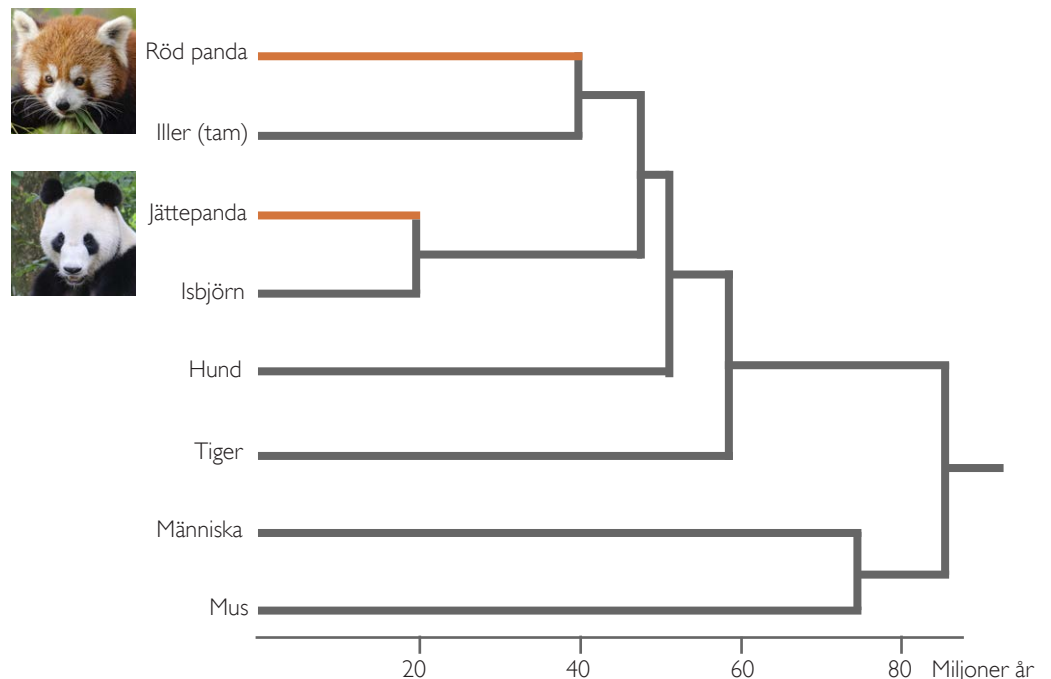
Sammanfattningsvis kan studier av både människors och djurs arvs massa ge ny kunskap om evolution och sjukdom.



Figur 9. Både röd panda och jättepanda har en extra "tumme". Men om man jämför skelettbenen med människans hand ser man att den extra tummen inte motsvaras av vår tumme. Den bildas i stället som ett utskott på ett av benen i handloven. Den extra tummen hos pandor och vår tumme är alltså analoga strukturer.

Källa: Understanding Evolution, University of California Museum of Paleontology

Figur 10. Släkträdet visar att den extra tummen bör ha uppstått vid två tillfällen oberoende av varandra under evolutionen.



Diskutera genteknik

Varför är det så viktigt att diskutera den gentekniska utvecklingen och ha regler för den? De nya gentekniska tillämpningarna utmanar vår syn på vad det innebär att vara människa.

Det har varit en dramatisk utveckling inom genteknikområdet under det senaste decenniet. Det stora tekniska genombrottet för att ändra, redigera, gener kom 2012 med det biologiska gensaxsystemet CRISPR/Cas9. Människors cirka 20000 gener, arvsanlag, kan testas snabbt, enkelt och till allt lägre kostnader. Både genter och utrustning för att själv klippa och klistra i gener säljs på nätet. Ny teknik gör det möjligt att göra **stamceller** av hudceller och tillverka celler av ny typ, vävnader och kanske också organ. Det forskas på att odla mänskliga organ i djur för att få fler organ till transplantationer.

Möjligheter, osäkerhet, risker

Den gentekniska utvecklingen ger oss kunskap om vilken betydelse generna har för hälsa och sjukdomar. Det kan bidra till att allvarliga ärftliga sjukdomar förebyggs, behandlas och till och med botas. Det finns stora förhoppningar om att det ska leda till förbättrad hälsa och funktionsförmåga, till längre och friskare liv. Samtidigt finns det stora kunskapsbrister. Det gäller särskilt ärftliga genförändringar som kommer att påverka framtida generationer. Idag är det förbjudet i Sverige, liksom i de flesta andra länder, att göra genförändringar som kan gå i arv.

Det behövs en etisk debatt

Kunskapen om människors anlag för sjukdomar och vissa egenskaper kan påverka vår syn på människor och deras värde, och vilka möjligheter och villkor de får. Det har skildrats i många böcker och filmer. Det kan leda till en jakt på det perfekta barnet, den perfekta partnern, den perfekta människan. Information om människors gener kan riskera att leda till att människor behandlas olika. Vilka per-

soner kommer arbetsgivare att vilja anställa och satsa på? Vilka kan teckna en försäkring och med vilka villkor?

Det handlar om oss människor, om vilket samhälle vi vill ha och vilket ansvar vi tar för framtida generationer. Därför diskuteras frågor om genteknik i många länder just nu. Människor är mer än sina gener. Utvecklingen rör grundläggande etiska frågor. Framtida konsekvenser, möjligheter och hot, nytta och risker, integritet och självbestämmande samt effekterna på människosyn och mänskliga värden behöver diskuteras och vägas mot varandra. Hur kan vi bejaka och dra nytta av de gentekniska framstegen så att de på ett etiskt hållbart sätt bidrar till människors hälsa, funktionsförmåga och livskvalitet? Hur ska vi få ett etiskt välvägt regelverk och en ansvarsfull utveckling?

Lagstiftning att se över

Det finns lagstiftning och internationella överenskommelser för det gentekniska området. Genetiska uppgifter räknas till känsliga personuppgifter enligt EU:s nya dataskyddsförordning. Men den snabba utvecklingen utmanar regelverket. I Sverige regleras genteknikområdet genom många olika lagar. Den mest grundläggande är lagen om genetisk integritet med mera, som trädde i kraft den 1 juli 2006. Det har hänt mycket på genteknikområdet sedan dess. Smer har därför skrivit till regeringen om att det behövs en översyn av regelverket ur ett etiskt perspektiv.

Det snabbt växande området genetiska självtester regleras inte av lagen om genetisk integritet. Särskilt angelä-



Texten är skriven av:

Karin Mossler

Tidigare t.f. huvudsekreterare på Smer, Statens medicinsk-etiska råd
Hon har även varit verksam som forskningssamordnare på Socialdepartementet i flera år, där hon bland annat ägnade sig åt life science-frågor. Innan dess arbetade hon på Socialstyrelsen.

Stamceller – ospecialiserade celler som kan genomgå ett obegränsat antal celledningar och har förmågan att utvecklas till olika celltyper

SMER

Statens medicinsk-etiska råd, Smer, är tillsatt av regeringen. Smer har i uppgift att belysa medicinsk-etiska frågor ur ett övergripande samhällsperspektiv och bedöma konsekvenser för människovärdet och den mänskliga integriteten i samband med medicinsk forskning, diagnostik och behandling. Rådet ska stimulera till debatt och ställningstaganden. I rådet ingår en ordförande, företrädare för de politiska partierna i riksdagen och elva sakkunniga.

get är det att se över området fertilitet och graviditet: genetiska tester när man planerar graviditet, analyser i samband med provrörsbefruktning samt helt nya metoder för fosterdiagnostik, där hela genuppsättningen kan kartläggas. Andra viktiga frågor rör hur genetiska undersökningar används i hälso- och sjukvården och om

artblandning djur – människa behöver regleras. Det behövs även ett etiskt regelverk för stamcellsområdet och lagens bestämmelser för användning av genetisk information på försäkringsområdet bör ses över bland annat utifrån Europarådets rekommendation om hälsoinformation i försäkringssammanhang.

Några frågor att diskutera

VAD ÄR VIKTIGAST?

Utifrån den tekniska utvecklingen inom genteknikområdet, och de möjligheter och risker den innebär, vad tycker du är det viktigaste att diskutera och reglera utifrån ett etiskt perspektiv? Varför?

KARTLÄGGA SJUKDOMSANLAG?

Med gentester kan du få reda på om du har anlag för ärftliga sjukdomar som kanske eller säkert bryter ut. En del av dessa kan förebyggas, lindras eller botas. Du kan få information om en eventuellt förhöjd risk att drabbas av till exempel en aggressiv form av bröstcancer i unga år eller att få schizofreni.

Vilka för- och nackdelar tycker du att det finns med att få information om sina, sin partners eller fosters anlag för sjukdom och kanske vissa egenskaper?

Skulle du vilja testa dig för att få veta om du riskerar att drabbas av en lindrig eller allvarlig, kanske till och med dödlig, sjukdom? Är ditt svar beroende av om den kan förebyggas, behandlas eller botas eller om man inte kan göra något åt den? Hur tror du det skulle påverka dig att få veta?

Skulle du berätta om testresultatet för dina vänner? För dina föräldrar och syskon, eller för andra släktingar som kanske också har anlaget men inte vet om det? Hur tror du att de skulle reagera?

Du får höra att din partner har köpt ett gentest på nätet. Skulle du vilja veta resultatet? Hur skulle det påverka dig om du får veta att han eller hon har anlag för en sjukdom som säkert eller bara kanske bryter ut eller har anlag för vissa egenskaper som du tycker är positiva eller negativa?

Hur tror du att du skulle påverkas av att få reda på om ditt barn har en förhöjd risk att få en allvarlig sjukdom i unga år eller dö en för tidig död?

FÖRÄNDRA ARVSANLAG?

Med mer kunskap om människors anlag och utveckling av den nya genredigeringstekniken skulle man kunna redigera bort allvarliga, dödliga sjukdomsanlag. Den nya tekniken skulle också kunna tillämpas för att förbättra normala arvsanlag i olika avseenden, så kallad enhancement. Det kan till exempel gälla gener som har betydelse för IQ, för fysiska egenskaper eller motståndskraft mot sjukdomar som HIV, malaria eller blodsjukdom. En del har lite spekulativt menat att det kunde vara bra om vi förbättrade människor, kanske gjorde dem mer samarbetsvilliga, snällare och smartare. Det väcker många etiska frågeställningar och behöver – liksom andra ärftliga genetiska förändringar – diskuteras.

Vilka möjligheter och risker tycker du att det kan finnas med att ändra människors arvsanlag för att kunna bota allvarliga sjukdomar? Med andra förändringar, kanske till och med av normala anlag? När ska tekniken få användas?

När det blir möjligt att utrota svåra släktsjukdomar, finns det då anledning att se över nuvarande förbud mot att göra genförändringar som kan gå i arv?

ODLA ORGAN HOS DJUR?

Fler mänskliga organ behövs till transplantationer, men det finns kunskapsbrister och olika säkerhetsaspekter att ta hänsyn till om de ska odlas hos djur. Hur ser du på odling av mänskliga organ i exempelvis i grisar? Vilka etiska aspekter finns?

Uppgifter till Genteknikens utveckling



Övningar och laborationer i denna del visar hur kunskapen om celler och ärftlighet efterhand har byggts upp. Spåren leder från de första trevande försöken att förstå cellernas byggnad och funktion, samt hur ärftlighet fungerar, fram till dagens kunskaper med tillämpningar inom dessa områden. Här vill vi även visa på den naturvetenskapliga arbetsmetoden genom att exemplifiera med kunskapsutvecklingen inom cell- och molekylärbioologi.

Förutom nedanstående uppgifter finns intressanta etiska frågor på motstående sida att diskutera kring genteknikens tillämpningar.

TIDSLINJE

På sidorna 6–7 finns en tidslinje som främst visar utvecklingen inom genteknik. Komplettera tidslinjen med exempel på viktiga upptäckter som gjordes innan 1972 och har betydelse för förståelsen av ärftlighetens mekanismer.

Komplettera även tidslinjen med aktuella forskningsresultat inom cell- och molekylärbioologi som nu väcker uppmärksamhet i media.

KUNSKAPSUTVECKLING

Uppgifterna nedan handlar om att beskriva några linjer som exemplifierar utvecklingen inom cell- och molekylärbioologi och därmed ge förståelse för att ny forskning alltid bygger på äldre resultat. Men man finner också att forskningsresultat behöver prövas på nytt och ibland förkastas som felaktiga.

- Hur växte kunskapen fram om vilka strukturer i cellen som är bärare av ärftligheten? När upptäckte man kromosomerna och förstod att de hade något med de ärftliga egenskaperna att göra? När visste man att det var DNA-innehållet i kromosomerna som var det mest väsentliga för ärftligheten och inte proteinerna?
- Följande forskare har alla bidragit till förståelsen av DNA-molekylens struktur och funktion. Beskriv kortfattat deras forskningsinsatser. Friedrich Miescher, Francis Crick, James Watson, Maurice Wilkins, Rosalind Franklin, Robert W. Holley, Har Gobind Khorana och Marshall W. Nirenberg.

- Vilka kunskaper om DNA-molekylens byggnad var en förutsättning för att James Watson och Francis Crick skulle kunna beskriva en korrekt struktur av DNA-molekylen?
- Hur förstår vi den genetiska koden? Förklara hur en sekvens i en DNA-molekyl översätts till en aminosyrasekvens. Hur gick forskarna till väga för att ta reda på hur DNA-koden skulle tolkas?
- Ge exempel på hur kunskapen om befruktning har växt fram. När iakttog man för första gången spermier och äggceller i mikroskop? När förstod man hur befruktning gick till? Hur utvecklades metoden in vitro-fertilisering?

NYTT PERSPEKTIV PÅ MENDELS FÖRSÖK

I grundläggande genetikundervisning brukar man uppmärksamma Gregor Mendels korsningsförsök med ärtor och studera nedärvningen av olika egenskaper som exempelvis ger skrynkliga eller släta ärtor. Men vad ligger bakom de fenotypiska variationerna?

Flera praktiska undersökningar bildar tillsammans en helhet, men laborationerna går också att genomföra var för sig. Syftet är att eleverna ska reflektera över resultaten från morfologiska och genetiska undersökningar av olika sorts ärtor och dra slutsatser om de molekylärbiologiska skillnaderna.

I de praktiska undersökningarna används två sorts ärtor: mörklärt och spritärt. Frågor som aktualiseras i laborationerna är:

- Finns det tydliga morfologiska skillnader som gör att man kan särskilja de båda sorterna makroskopiskt och mikroskopiskt?
- Vilken är den genetiska bakgrunden till skillnaderna? Här görs en amplifiering av genen *sbe1*. För en av ärtsorterna har genen skadats av en transposon vilket innebär att stärkelsesyntesen inte fungerar normalt. De amplifierade DNA-sekvenserna får därmed olika längd och de båda ärtsorterna kan identifieras med gelelektrofores. En alternativ möjlighet att studera denna skillnad är en bioinformatisk övning där man jämför längden på sekvenserna.

Ta reda på!

Se Bioresurs hemsida för fullständiga beskrivningar och länkar: www.bioresurs.uu.se





Gensaxar ändrar DNA

På 70-talet lyckades forskare tillverka de första genmodifierade bakterierna och sedan dess har utvecklingen gått snabbt. Mycket uppmärksamhet under de senaste åren har gensaxen CRISPR fått, en teknik som innebär att man kan göra exakta förändringar i DNA. Etiska frågor kring genteknikens möjligheter och risker diskuteras även livligt.

Diabetes, den form som drabbar barn och unga, är fortfarande en sjukdom som kräver noggrann kontroll och tillförsel av insulin. Idag är inte tillgången på insulin ett problem, så som det var i början av 1900-talet. Barn som drabbades av diabetes innan det fanns insulin att tillgå överlevde inte mer än ett par år. De tvingades hålla en sträng diet med mycket fett och så lite kolhydrater som möjligt, men dog snart av svält.

Insulinet upptäcktes i början av 1920-talet och inom något år hade man utvecklat en behandlingsmetod för diabetespatienter. Behovet av insulin var stort och tillverkning i större skala med utgångspunkt i slaktavfall kom snart igång. Inom några få år spreds behandlingsmetoden till allt fler länder och tidigare dödsjuka patienter fick nytt liv. Redan 1923 kunde patienter i Sverige behandlas kontinuerligt med insulin. Frederick Grant Banting och John Macleod vid universitetet i Toronto, Kanada, tilldelades Nobelpriset i fysiologi eller medicin 1923 för forskning kring insulin.

Nästa stora framsteg inom diabetesbehandlingen kom när tillverkning av insulin med hjälp av genmodifierade jästceller godkändes 1982. Det innebar att man inte längre var beroende av bukspottkörtlar från slaktavfall för insulinproduktion och att patienterna fick mänskligt insulin i stället för insulin från gris. Aktivt insulin från gris respektive från människa skiljer sig åt beträffande en aminosyra i insulinets aminosyrasekvens. Insulinet var det första läkemedlet som tillverkades med hjälp av en genmodifierad organism och som kom i kommersiell produktion.

Forskare berättar

När metoden CRISPR/Cas9 presenterades 2012 innebar det en revolution inom gentekniken. Förhoppningar knyts nu till att metoden ska kunna tillämpas inom många områden. I den följande artikeln beskrivs hur CRISPR-tekniken fungerar och exempel från växtförädling presenteras. Metoden kan också användas vid genterapi på människor, vilket beskrivs i den andra artikeln.

Genteknik i skolan

Styrdokumentet för biologi tar upp etiska frågor i samband med genteknikens användningsområden. Etiska frågor är viktiga att diskutera, men elever behöver också grundläggande kunskaper om genteknikens metoder, möjligheter och begränsningar för att kunna föra en initierad diskussion. Det gäller för elever på både grundskola och gymnasium. Öppna för samtal i skolan där åsikter beläggs med fakta och där fördelar och nackdelar vägs mot varandra på ett insiktsfullt sätt. Det är även viktigt att laborera för att elever ska få praktisk och konkret erfarenhet av att arbeta med gentekniska metoder. Försök med transformation av bakterier, PCR-reaktioner och separation av DNA-sekvenser med gelelektrofores är exempel på laborationer som kan genomföras, men som självklart kräver utrustning och erfarenhet. Omfattande databaser med DNA-sekvenser, proteiner och hela genom, samt bioinformatiska verktyg är fritt tillgängliga och gör det möjligt för elever att arbeta med intressanta frågeställningar. Några frågor och diskussionsämnen som kan aktualiseras utifrån den här delen:

- Vilka länder odlar en hög andel genmodifierade grödor och vilka grödor gäller det?
- I Sverige genomförs årligen fältförsök med genmodifierade grödor (se Jordbruksverkets hemsida). Vilka växter har man testat och vilka speciella egenskaper har de?
- Sommaren 2018 fattade man beslut inom EU om att växter som förändrats med hjälp av CRISPR-tekniker ska betraktas som genmodifierade. Vilka restriktioner finns för att odla genmodifierade växter inom EU? Hur ser länder i andra delar av världen på frågan?
- Det är inte tillåtet att åstadkomma genetiska förändringar hos människa som går i arv till kommande generationer, men hur blir det i framtiden? Förklara skillnaden mellan genetiska förändringar av kroppsceller respektive könsceller. Diskutera de etiska konsekvenserna för de båda fallen.

CRISPR

– introduktion till en mycket uppmärksammas metod

CRISPR är en genteknik som introducerar mutationer i DNA. Tekniken slog igenom bland forskare under 2013 och har snabbt kommit till användning inom både medicinsk och biologisk forskning. Många tror att forskarna bakom CRISPR kan komma att belönas med Nobelpriset i kemi. Men hur får tekniken användas? Lagstiftningen skiljer sig åt mellan länder.



Texten är skriven av:

Jens Sundström

Docent i växtfysiologi och samverkanslektor vid Institutionen för växtbiologi, Sveriges lantbruksuniversitet (SLU) i Uppsala. Hans forskning är fokuserad på växternas reproduktiva utveckling, det vill säga kottsättning i barrträd och blomning i grödor och gömfröiga modellsystem. Inom ramen för sitt lektorat bedriver han även samverkan inriktad mot ämnet bioteknik och dess tillämpningar inom skog- och lantbruk.

Jenny Carlsson

Agronomie doktor i växtförädling och genetik, anställd av företaget Academy. Hon undervisar idag blivande konsulter inom läkemedelsbranschen i cellbiologi. Tidigare arbetade hon på den statliga myndigheten Gentekniknämnden, där hon följde utvecklingen inom genteknik. Dessförinnan ägnade hon sig åt växtforskning.



Förändringar av DNA i form av mutationer uppstår spontant i naturen. Dessa förändringar skapar till exempel olika varianter av gener. Mutationer är en av grundförutsättningarna för evolutionen. Mutationerna kan vara tysta, det vill säga den nya varianten bidrar inte med någon förändring av egenskapen. De kan i enstaka fall introducera positiva eller negativa förändringar.

Under historiens gång har vi människor på olika sätt utnyttjat uppkomsten av mutationer i växtförädling och djuravel. Till att börja med valde vi människor ut växter och djur som passade oss. Genom årtusendena blev urvalen allt mer systematiska, för att under 1800-talet utvecklas till urvalsförädling, och det som vi idag känner igen som växtförädling och djuravel.

Under 1900-talet började forskare ta fram metoder för att introducera mutationer för att slippa vänta på att de skulle uppstå spontant i naturen. Man använder sig av bland annat mutagenes, det vill säga kemikalier (som etylmetansulfonat, EMS) och strålning (som radioaktiv strålning) för att introducera förändringar av DNA. En annan teknik är genmodifiering. Alla dessa tekniker används fortfarande i djuravel och förädling av växter världen över. Numera tillhör också CRISPR en av dessa tekniker.

Försvar mot virus

CRISPR, som är en förkortning av engelskans "Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats", förekommer i naturen och är ett av flera sätt för bakterier att skydda sig mot virus. Med hjälp av CRISPR-systemet kan bakterier känna igen virus som tidigare har infekterat cel-

len, och på ett effektivt sätt bryta ner dessa. Systemet kan jämföras med det immunförsvar som vi människor har.

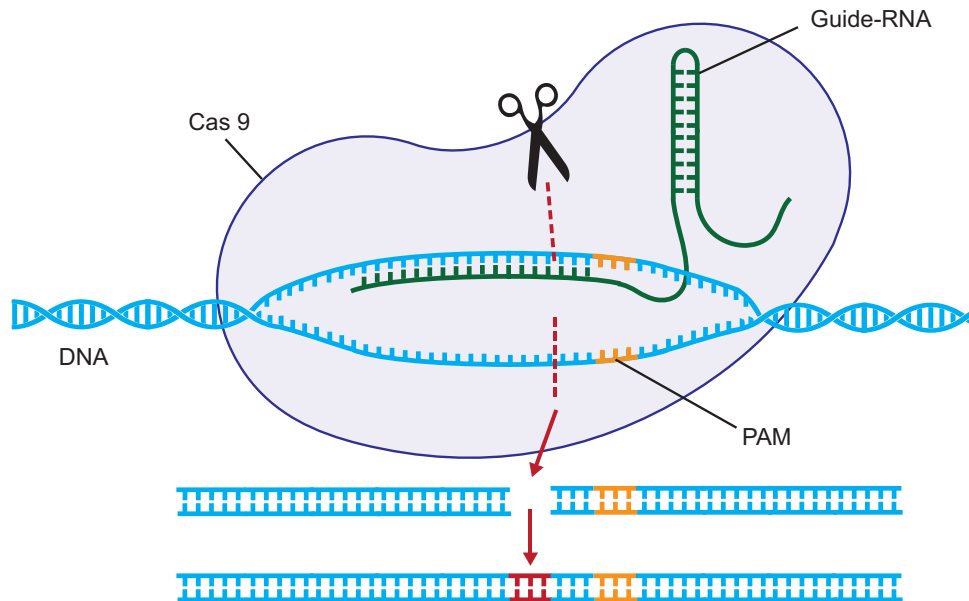
Forskare har anpassat CRISPR till andra organismer och tekniken används för att introducera mutationer hos till exempel djur och växter. Detta kallas genom-editering. På engelska kan man se namnet site-directed mutagenesis (SDM). Andra namn för CRISPR är genkniv och gensax. Många tror att utvecklingen av CRISPR-tekniken kan resultera i Nobelpriset i kemi. Blir det ett Nobelpris går det förmodligen till Emmanuelle Charpentier, Jennifer Doudna och Feng Zhang.

Introducerar mutationer

CRISPR tillhör en grupp tekniker där ett protein eller ett RNA känner igen en specifik DNA-sekvens och ett nukleas klipper av DNA-strängen vid denna sekvens (se figur bredvid). Nukleas är enzymer som klipper av nukleinsyror (det vill säga DNA och RNA). Brottet i DNA-kedjan som uppstår lagas av cellens eget reparationssystem. I vissa fall blir det fel när DNA-kedjan ska lagas och mindre förändringar kan uppstå. Ibland byts en nukleotid ut mot en annan eller också kan ett fåtal nya nukleotider föras in, eller så kan det försvinna nukleotider. Förutom CRISPR och dess Cas9-enzym så finns det andra nukleaser, exempelvis TALEN och ZFN, som på ett liknande sätt kan användas för att klippa av DNA. TALEN (Transcription Activator-Like Effector Nucleases) och ZFN (Zinc-Finger Nucleases) har precis som CRISPR biologiska funktioner i organismer.

Vad kan vi göra nu?

CRISPR-tekniken slog igenom 2013 men redan nu kan vi se kommande tillämpningar. Forskare vid SLU i Alnarp har tagit fram en potatis med förändrad stärkelsesammansättning med hjälp av CRISPR-tekniken. I vanlig potatis finns stärkelsen i två former, amylos och amylopektin. För att kunna använda sådan stärkelse för industriella ändamål måste man först stabilisera stärkelsen med kemiska metoder. Genom att introducera en mutation i en gen



Figur 1.

Illustration: Cajsa Lithell, Red Cap Design

SÅ FUNGERAR CRISPR-TEKNIKEN

CRISPR kan till exempel användas för att introducera riktade mutationer där en viss gen stängs av eller för att på ett precist sätt ändra några enstaka baspar. Ett guide-RNA designas för att binda in till en specifik plats i arvsmassan och föra med sig Cas9-enzymet till DNA-strängen. Cas9-enzymet klipper av DNA-strängen där guide-RNA:t bundit in. För att Cas9-enzymet ska kunna klippa krävs även att det finns en så kallad PAM-sekvens i närheten av den plats där guide-RNA:t bundit in. När Cas9-enzymet klippt i DNA-strängen lagar cellens eget reparationssystem skadan. Lagningen blir inte alltid exakt, utan med en viss frekvens kan några få baspar försvinna eller läggas till och då skapas det en mutation (punkt 1 nedan). Det går även att föra in en DNA-sekvens i cellen tillsammans med Cas9-enzymet och guide-RNA:t. Detta DNA fungerar då som en mall när cellens reparationssystem ska laga skadan (punkt 2 nedan). (Det finns fler enzymer än Cas9 som kan användas inom CRISPR.)

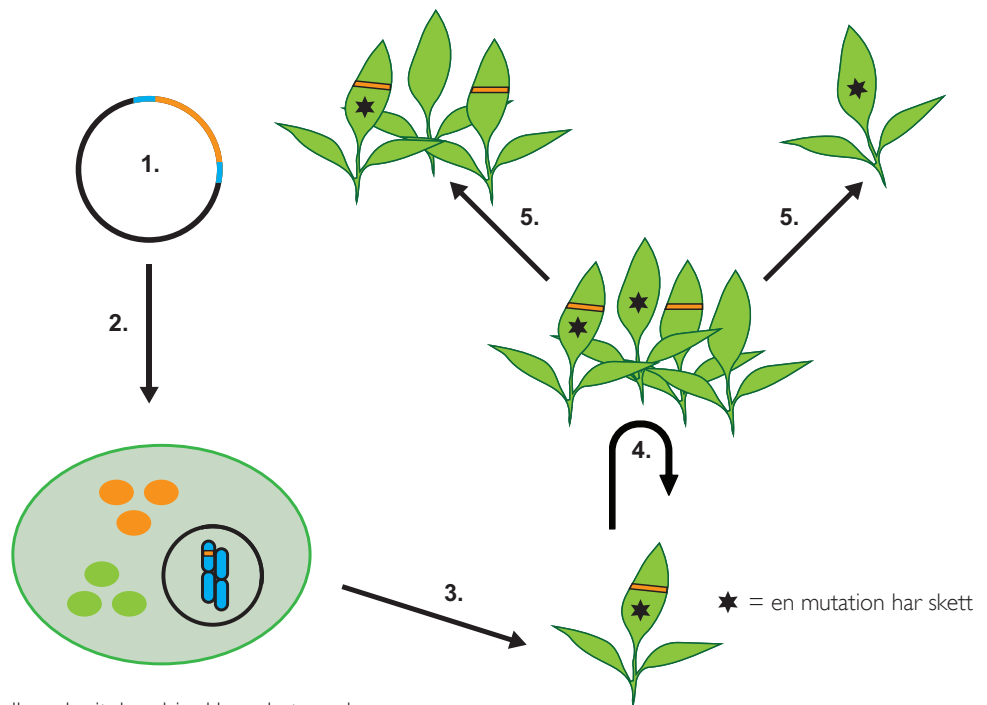
Två olika sätt att skapa mutationer:

1. CRISPR kan användas för att klippa av DNA på ett visst ställe, för att sedan låta cellen reparera brottet. Därefter studerar man om och vilka punktmutationer som har uppstått. Detta har man gjort för att stänga av genen som gör amylos i potatis. Resultatet har gett en potatis som i huvudsak producerar amylopektin, vilket är av värde för stärkelseindustrin. Med hjälp av TALEN har man stängt av genen som ger nötkreatur horn. På detta sätt har man fått fram kalvar utan horn. Hornlösa nötkreatur minskar risken för skador på djur och människor.
2. CRISPR kan också användas för att klippa av DNA på ett visst ställe, föra in en mall och låta cellen laga brottet med hjälp av mallen. På så sätt kan man rätta till en skadlig mutation eller föra in en specifik mutation för att få önskade egenskaper. Detta har man gjort i mänskliga blodstamceller för att rätta den mutation som leder till blodsjukdomen sickelcellanemi. De muterade cellinjerna fördes in i möss som led av sjukdomen. Mössen kunde efter behandlingen tillverka tillräckligt många normala röda blodkroppar för att må bättre.

TILLÄMPNING

CRISPR-konstruktionen kan föras in i växt- eller djurceller på samma sätt som när man gör en transgen växt eller ett transgent djur, det vill säga som när man får en genetiskt modifierade organism (GMO). När generna som kodar för Cas9-enzymet och guide-RNA uttrycks kommer genomediteringen av DNA att ske, och den planerade förändringen eller mutationen uppstår. I detta exempel modifieras en växt.

1. Gör en DNA-plasmid som kodar för Cas9-enzymet och guide-RNA (orange färg).
2. För in DNA-plasmiden i växtcellen. Sekvensen som kodar för Cas9-enzymet och guide-RNA förs över från plasmiden till cellens kromosomer. En genmodifierad eller transgen cell har bildats.
3. Låt de genmodifierade växtcellerna växa upp till nya genmodifierade plantor. Varje cell ger en planta.
4. Kors plantorna med sådana som inte modifierats. Detta resulterar i fyra typer av plantor: plantor med en CRISPR-konstruktion, plantor med en mutation, plantor med både CRISPR-konstruktion och mutation, samt plantor utan vare sig det ena eller det andra.
5. Välj ut plantor som bär på mutationen, men som saknar CRISPR-konstruktionen. Spara dessa plantor och kasta övriga. Man vill inte ha med Cas9-proteinet och guide-RNA:t i de plantor man väljer att spara eftersom de över tid kan ackumulera oförutsedda mutationer.



Växtcell med mitokondrier, kloroplaster och cellkärna med två kromosomer. En av kromosomerna bär på en CRISPR-konstruktion.

Figur 2.

Illustration: Cajsa Lithell, Red Cap Design

som styr vilken sorts stärkelse som bildas har man tagit fram en potatis som endast producerar amylopektin. En sådan stärkelse är stabil i sig själv och behöver inte behandlas kemiskt för att kunna användas inom industrin. Med en stärkelsepotatis som endast producerar en form av stärkelse kan man därmed minska användningen av kemikalier.

CRISPR-tekniken kan användas för att domesticera nya grödor. Det finns ett behov att utöka mångfalden av de arter vi odlar och använder som föda, men många vilda arter lämpar sig inte att odla. Forskare i USA har använt CRISPR-tekniken för att påverka egenskaper i en vild släkting till dagens odlade tomat. Bland annat har man använt tekniken för att påverka plantans tillväxt, blomningen och fruktens storlek. Förhoppningen är att detta ska ge en ökad diversitet och nya tomatorter med förbättrad motståndskraft mot skadeinsekter och sjukdomar som samtidigt ger en bra skörd.

Vad säger lagstiftningen?

Räknas en växt eller ett djur där man introducerat en mutation med hjälp av CRISPR-som en genetiskt modifierad organism (GMO)?

Traditionellt har man ansett att GMO är organismer där man tillfört nytt DNA på annat sätt än genom korsningar eller naturlig rekombination. Metoder för att introducera mutationer med hjälp av radioaktiv strålning och mutagena kemikalier har varit undantagna från reglering.

Sommaren 2018 avgjorde Europadomstolen ett rättsfall där frågan gällde om grödor som tagits fram med den nya CRISPR-tekniken ska regleras som GMO eller om de ska jämföras med grödor som tagits fram med hjälp av radioaktiv strålning eller mutagena kemikalier. Enligt Europadomstolens beslut ska grödor som tagits fram med den nya CRISPR-tekniken regleras som GMO.

Myndigheter i bland annat USA, Japan och flera länder i Sydamerika har gjort en annan bedömning och jämför CRISPR-tekniken med andra tekniker för mutationsförädling. En växt eller ett djur där man introducerat en mutation med hjälp av CRISPR räknas därmed som en GMO i Europa men inte i stora delar av övriga världen. Europadomstolens beslut kan därmed komma att få konsekvenser både för forskningen och växtförädlingen här i Europa, samt vår handel med övriga delar av världen.



Blir det ett Nobelpris går det förmodligen till Emmanuelle Charpentier, Jennifer Doudna och Feng Zhang.

CRISPR mot Alzheimers sjukdom?

Omkring 50 miljoner människor i världen och ungefär 85 000 i Sverige tros vara drabbade av den vanligaste demenssjukdomen av alla – Alzheimers sjukdom. I sällsynta fall är orsaken en mutation i en av tre gener. Nu pågår forskning där CRISPR/Cas9 används för att förstöra den muterade genen, i syfte att bota sjukdomen.

Alzheimers sjukdom leder till att nervceller dör och hjärnvävnad försvinner, vilket bland annat ger problem med minnet och andra kognitiva funktioner. Sjukdomen tros bero på att det börjar bildas och lagras så kallade plack och nystan i hjärnbarken, av proteinerna amyloid- β och tau.

Genetiska orsaker

I sällsynta fall kan neurodegenerativa sjukdomar, det vill säga sjukdomar där nervceller förstörs, orsakas av mutationer i vissa gener. För Alzheimers sjukdom har tre sådana gener beskrivits: *APP*, *PSEN1* och *PSEN2*. Mutationer i dessa gener leder till dominant nedärvda sjukdomsvarianter. Det innebär att om en förälder bär på en av dessa muterade gener, har barnen 50 procents risk att insjukna, vilket vanligtvis sker redan mellan 40 och 60 års ålder. Sjukdomsbilden vid dessa tidiga, ärftliga former av sjukdomen är dock lik den man ser vid högre åldrar.

Orsaken till att man drabbas av sjukdomen så tidigt i livet är att de genetiska störningarna leder till en ökad bildning av proteinet amyloid- β .

Patienter som bär på en Alzheimersmutation utgör en minoritet av alla Alzheimerspatienter. Men genom att undersöka dem får vi en tydlig molekylär förklaring till sjukdomen och kan därmed identifiera olika sätt att behandla den. Förhoppningen är att denna kunskap även ska komma till nytta för den stora majoritet av patienter som inte har den ovanliga sjukdomsvarianten.

Behovet av nya behandlingsmetoder är stort, eftersom de två nuvarande typerna av läkemedel mot Alzheimers sjukdom inte angriper själva sjukdomsorsakerna.

Dels används så kallade acetylkolinerterashämmare, som ökar mängden av signalsubstansen acetylkolin, som finns i vissa nervceller. Därmed förstärks kommunikationen mellan de nervceller som finns kvar.

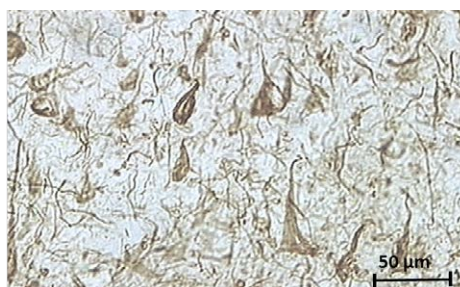
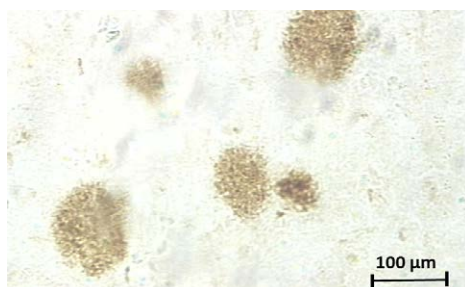


Texten är skriven av:

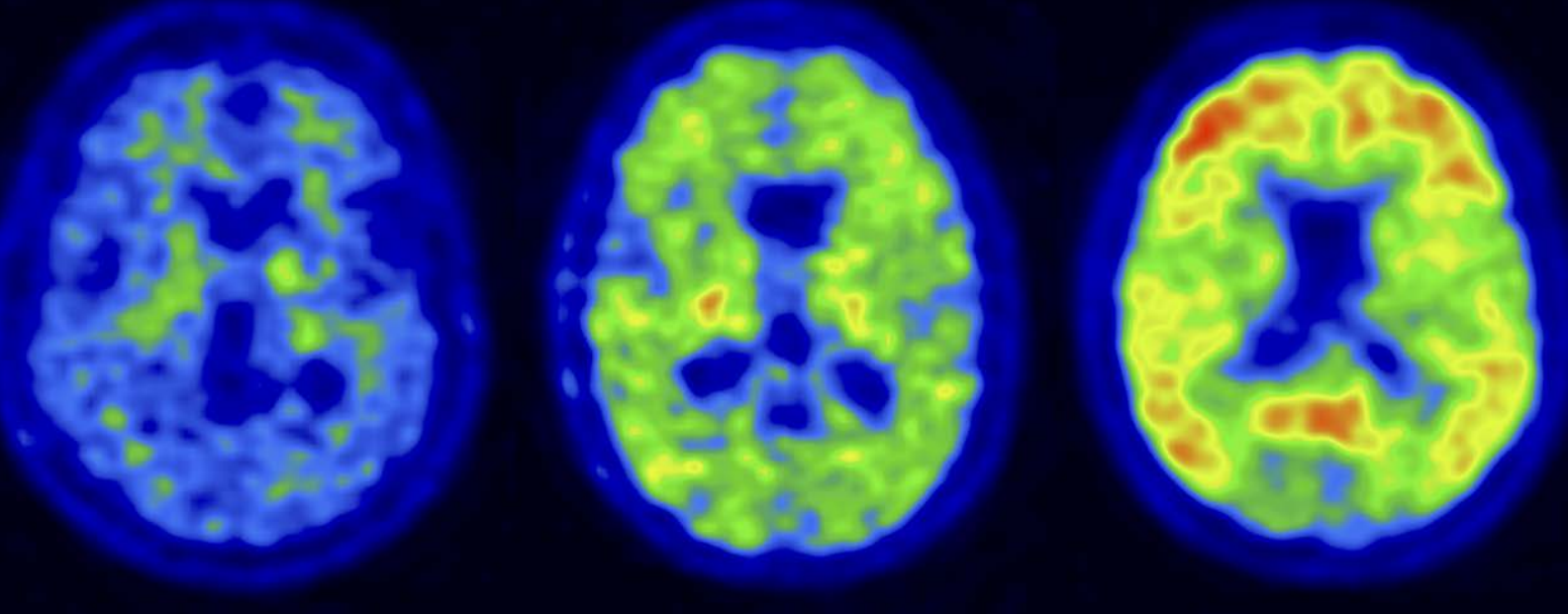
Martin Ingelsson

Professor i geriatrik vid Institutionen för folkhälso- och vårdvetenskap vid Uppsala universitet samt överläkare vid Akademiska sjukhuset

Hans forskargrupp är intresserad av att bättre förstå de molekylära processerna vid Alzheimers sjukdom och Parkinsons sjukdom, eftersom en ökad kunskap kring de underliggande sjukdomsmekanismerna är en nödvändig förutsättning för att kunna utveckla ny framtida behandling och diagnostik.



Plack, till vänster (figur 3), och nystan, till höger (figur 4), i vävnadssnitt från en hjärna drabbad av Alzheimers sjukdom.



Figur 5. Tre hjärnor undersökta med positronemissionstomografi (PET) i syfte att avgöra om individen är drabbad av Alzheimers sjukdom. I detta fall har man använt den så kallade PIB-liganden, som binder till amyloid- β . Den vänstra bilden tyder på frånvaro av plack medan de två bilderna till höger påvisar varierande grader av amyloid- β -inlagring hos patienter med sjukdomen. Bilderna är tagna vid sektionen för molekylär diagnostik/BFC, vid Akademiska sjukhuset i Uppsala.

Positronemissionstomografi (PET) – en medicinsk avbildningsteknik där kroppen tillförs ett radioaktivt spårämne, oftast via ett blodkärl. Upptag och fördelning av ämnet i kroppens celler eller organ kan sedan observeras.

Lipoproteinlipasbrist – en sällsynt sjukdom som bland annat kan ge akut och mycket smärtsam inflammation i bukspottkörteln.

CAR-terapi – innebär att T-celler, som är en del av immunförsvaret, tas ut, vanligtvis från patienten själv. Därefter modifieras de genetiskt för att bli effektivare på att hitta och döda tumörceller och återförs sedan till patienten.

Spinal muskeltrofi – en ärftlig sjukdom där nervceller bryts ner, vilket leder till muskelsvaghet och muskelförtvining.

Dels används så kallade NMDA-receptorantagonister. NMDA står för N-metyld-aspartat och är en av flera receptorer som aminosyran glutamat verkar genom. Enligt en teori utövar glutamat en skadlig effekt på nervceller vid Alzheimers sjukdom och genom att blockera dessa receptorer kan man motverka de skadliga effekterna.

Immunterapi mot sjukdomen

Den behandlingsmetod som hittills sett mest lovande ut, och som det fortfarande ställs stora förhoppningar till, utgörs av immunterapi. När antikroppar som binder till amyloid- β används på musmodeller för sjukdomen har man kunnat visa att de sjukdomsrelaterade förändringarna i hjärnan bromsas effektivt. Ett flertal studier har genomförts, medan vissa fortfarande pågår, även på människor. De största utmaningarna har varit att inkludera patienterna tillräckligt tidigt, innan det uppstått alltför stor skada i hjärnan, samt att säkerställa att endast patienter med Alzheimerförändringar ingår i studierna. Med hjälp av nya tekniker, som gör det möjligt att avbilda förändringarna i hjärnan med **positronemissionstomografi (PET)**, har man i en rad pågående studier kunnat utesluta att patienter utan Alzhei-

merförändringar i hjärnan blir inkluderade i studierna.

Utveckling av genterapi

Alltsedan 1980-talet har det funnits stora förhoppningar om att genterapi ska kunna användas mot en rad olika sjukdomar. Men det är först under de allra senaste åren som denna utveckling har börjat bära frukt.

I Europa godkändes 2012 det första genterapeutiska preparatet, Glybera, som används mot den ovanliga sjukdomen **lipoproteinlipasbrist**. Detta preparat har följts av framgångsrika behandlingsmetoder mot framför allt olika typer av leukemier, så kallad **CAR-terapi**, och sedan 2017 finns även en fungerande genterapi, Spinraza, mot den neurologiska sjukdomen **spinal muskeltrofi**. Ovan angivna exempel är baserade på att man antingen

- ersätter det som cellerna lider brist på, så kallad substitutionsterapi (Glybera),
- tillför en markör som gör cellerna mer benägna att bekämpa tumörer (CAR-terapi) eller
- med små RNA-molekyler påverkar genernas proteinproduktion (Spinraza).

En ytterligare möjlighet utgörs av genditering, en metod där molekyler utnytt-

jas för att åstadkomma exakta dubbelsträngade brott i DNA-kedjan och därmed förhindra produktion av protein.

Tre sådana tekniker har utvecklats, zinkfingernukleaser, TALEN och CRISPR/Cas9. Det amerikanska företaget Sangamo Therapeutics har initierat ett flertal kliniska studier mot sjukdomar som HIV och Huntingtons sjukdom där zinkfingernukleaser används. På senare tid har CRISPR/Cas9 kommit att få mycket uppmärksamhet för sin potential att utnyttjas för generapeutiska syften.

Utvecklingen av CRISPR/Cas9 som generterapi befinner sig ännu i sin linda. De allra första kliniska prövningarna har startat i Kina och olika läkemedelsföretag förbereder ytterligare studier på amerikanska patienter. Hittills har det handlat om att ta ut patienternas egna blodbaserade stamceller och förändra dem för att sedan återföra dem till patienten. Förhoppningen är att de ska etablera sig och bilda nya friska kloner av celler som ska motverka fortsatta sjukdomseffekter.

För att kunna utnyttja CRISPR/Cas9 som behandling även mot hjärnans sjukdomar, det vill säga där man inte har möjlighet att behandla cellerna utanför kroppen, behöver man utveckla metoder för att

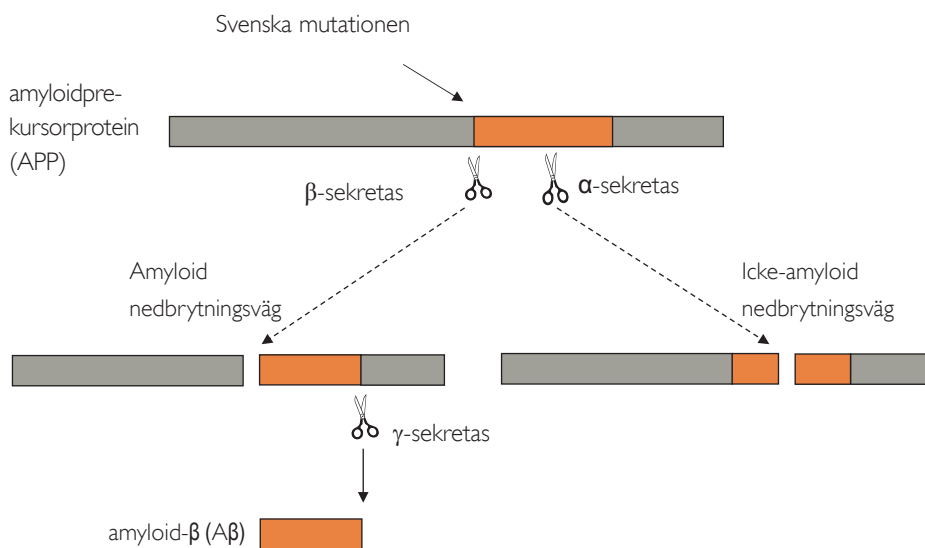
transportera behandlingsmolekylerna till centrala nervsystemet (CNS). Detta kan åstadkommas med hjälp av specialutvecklade viruspartiklar, som utnyttjas som bärare av genetisk information men som berövs sina infektiösa egenskaper. Framför allt adenoassocierat virus (AAV) används redan som bärare av DNA för olika terapeutiska molekyler i ett antal kliniska prövningar.

CRISPR och Alzheimers

I en nyligen publicerad studie kunde vi visa att CRISPR/Cas9-systemet även kan utnyttjas för att selektivt oskadliggöra den så kallade svenska mutationen i *APP*-genen – en ny tänkbar strategi att behandla denna form av Alzheimers sjukdom. Genom att odla bindvävsceller (fibroblaster) från patienter med mutationen och sedan tillföra dem guide-RNA och Cas9-DNA-vektorer kunde vi med hög precision inducera dubbelsträngt brott i muterat DNA. Patientens friska genkopia lämnades opåverkad.

Förutom att åstadkomma den genetiska förändringen kunde vi även påvisa att cellernas halter av amyloid- β sänktes markant. Genom att mäta mängderna av amyloid- β i tillväxtmediet från cellkulturerna kunde vi konstatera att nivåerna motsvarade de man

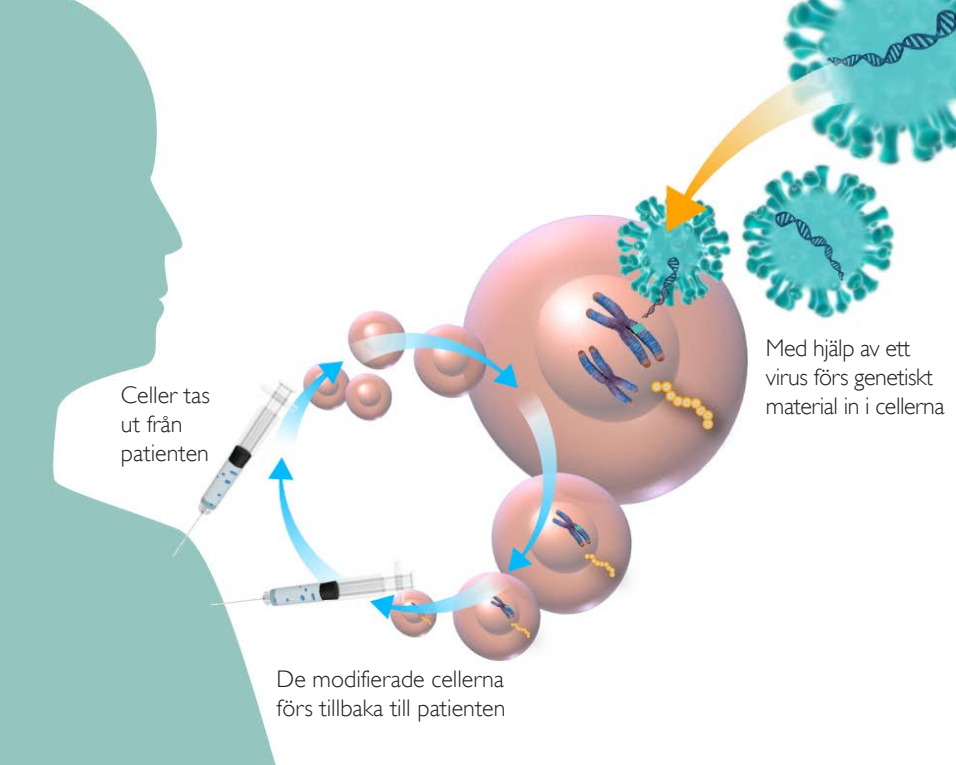
BILDNING AV AMYLOID- β UR AMYLOIDPREKURSORPROTEINET (APP)



Figur 6. Även i den friska hjärnan sker enzymatisk nedbrytning av amyloidprekursorproteinet, APP, via både en amyloidbildande och en icke-amyloidbildande process.

Genom klyvning med enzymerna β - och γ -sekretas bildas amyloid- β , A β , medan inget A β kan bildas vid α -sekretas-klyvning.

Vid den ärftliga formen av Alzheimers sjukdom som orsakas av den svenska mutationen i APP, ökar klyvningen med β -sekretas, vilket leder till ökad bildning av A β .



Figur 7. Vid genterapi kan virus användas för att föra in genetiskt material i cellerna. På bilden tas cellerna först ut ur patienten och justeras sedan genetiskt utanför kroppen innan de förs tillbaka. Detta är dock inte möjligt vid behandling av nervcellerna i hjärnan.

Martin Ingelsson och hans forskargrupp studerar därför effekterna av att injicera viruspartiklar direkt i hjärnan på en musmodell för Alzheimers sjukdom, för att kunna behandla nervcellerna med CRISPR/Cas9-teknik.

Illustration: Gunilla Elam

MER FAKTA

Information om Alzheimers sjukdom tillhandahålls till exempel av Alzheimerfonden, Demenscentrum, Demensförbundet och Hjärnfonden.

kunde förvänta sig från den kvarvarande friska genkopians uttryck.

I nästa steg genererade vi AAV-partiklar (virus som kan användas för att transportera genetiskt material in i celler) som innehöll samma guide-RNA och Cas9-molekyler. Vi valde dels AAV1, en form av AAV som fungerar bra på odlade nervceller, dels AAV9, en form vars egenskaper är särskilt lämpade för CNS hos levande möss. Tidigare studier på möss har visat att AAV9 leder till ett högt genuttryck i hjärnans celler efter att man tillfört DNA med AAV9-vektorer i musens svansven eller bukhåla.

I syfte att undersöka möjligheten att överföra vår behandlingsstrategi till CNS på en levande organism utnyttjade vi en musmodell för Alzheimers sjukdom. Dessa möss är transgent förändrade att uttrycka just den svenska mutationen och var således en lämplig modell att testa behandlingsprincipen på.

Till att börja med odlade vi nervceller från embryon till dessa möss och förde in AAV9-partiklarna i dessa. Efter DNA-analys kunde vi konstatera att *APP*-genen med den svenska mutationen kunde klippas sönder även i dessa celler med hög precision. Därefter använde vi samma musmodell för att även undersöka om sjukdomsgenen

kunde påverkas i nervceller i levande möss. För att optimera chanserna injicerade vi AAV-partiklarna direkt i hjärnan på mössen. Vi valde hippocampus, ett område i hjärnan som är centralt i utvecklingen av Alzheimers sjukdom. Fem möss behandlades och efter sex veckor avlivades de. DNA-analys av hjärnvävnaden visade på effekt i upp till drygt två procent av det totala DNA:t. Denna andel kan synas låg, men kan förklaras av det faktum att dessa transgena djur har en mycket kraftig överproduktion av muterat humant APP.

Framtida studier

I denna första studie på musmodell för Alzheimers sjukdom analyserades varken amyloid- β -nivåer eller effekter på beteende eller kognition. För att bättre kunna undersöka sådana effekter behöver man använda en annan musmodell, där man i stället för ett kraftigt överuttryck av genen ersätter musens egen gen med den mänskliga varianten (i muterad form). En sådan så kallad knock-in musmodell kommer att användas i planerade studier för att undersöka om vår behandlingsstrategi kan leda till gynnsamma effekter även på proteinnivåer och beteende hos mössen.

Sammantaget utgör CRISPR/Cas9 en ny intressant möjlighet till genterapi. Dock befinner vi oss ännu bara i början på en lång väg mot en fungerande behandling mot denna form av Alzheimers sjukdom och andra ärftliga hjärnsjukdomar. Ytterligare arbete återstår innan vi kan starta de första läkemedelsprövningarna.

Framför allt finns en befogad oro för att även oavsiktliga DNA-skador kan uppkomma till följd av behandlingen. Sådana effekter på andra gener är troligen mestadels ofarliga men kan sannolikt även ge upphov till genetiska förändringar som kan öka risken för till exempel cancersjukdomar. Forskare inom området är nu sysselsatta med att utveckla metoder som på förhand ska kunna avgöra vilka sådana skador som kan förväntas uppstå vid en specifik behandling. För att denna genetiska ingenjörskonst ska bli allmänt accepterad hos befolkningen krävs att sådana metoder blir tillförlitliga.

Uppgifter till avsnittet om CRISPR-teknik



GM-WEBBEN PÅ BIORESURS HEMSIDA

I Bioresurs hemsida ingår GM-webben, som handlar om genmodifierade växter. En av delarna innehåller temasidor om sex genmodifierade växter. Dessa kan fungera som exempel för elevarbeten. Lärarhandledningen är omfattande och ger förslag på hur man kan arbeta med elever kring kontroversiella frågor i ett samhällsperspektiv.

PRAKTISKA FÖRSÖK

Laborationer som anknyter till genteknik finns på vår hemsida, exempelvis *Extraktion av DNA* från kindceller eller vetegroddar, *Genteknik med enkla medel* och *DIS80 – en genetisk markör*. Se även försök med Mendels ärtor i föregående del.

SYNTETISK BIOLOGI

Inom det område som kallas för syntetisk biologi arbetar man med färdiga DNA-sekvenser, som enkelt kan beställas, för att genmodifiera organismer. DNA-sekvenserna kallas Biobricks eller "bioklossar". Målet är att tillföra nya egenskaper till organismer såsom uttrycket av färg, ändrad ämnesomsättning och tillverkning av olika nya proteinprodukter. Förhoppningen är att i framtiden kunna använda den här metoden för att tillverka läkemedel, miljövänliga bränslen och mat.

I denna övning används legobitar som modeller för bioklossar för att bygga olika genvarianter. Som exempel på vad eleverna ska konstruera är "en bakterie som producerar plast, men som dör om den skulle bli utsläppt i naturen" eller "en växt som signalerar när den kommer i kontakt med miljögifter som tungmetaller".

Förutom att uppgiften ger en inblick i området syntetisk biologi är också ett syfte med denna övning att få en bättre förståelse för hur våra gener är uppbyggda och hur proteinsyntesen påverkas av olika signaler.

GENDRIVARE

CRISPR/Cas9-tekniken har på kort tid fått enormt genomslag i forskarvärlden eftersom den förenklar processen att modifiera DNA. För att få en bättre förståelse för hur metoden fungerar kan man titta på animeringar, se länkar på vår hemsida. Med denna teknik har det bland annat blivit möjligt att konstruera gendrivare, något som testats på exempelvis malariamyggor.

Enligt de mendelska ärftlighetslagarna kommer en viss allel att föras vidare till 50 procent av avkomman. Men vissa DNA-sekvenser har utvecklat en förmåga att öka sina chanser till nedärvning. Gendrivare är den term som används för alla processer, naturliga eller designade, som resulterar i att en viss allel i en organism ärvs i större utsträckning än förväntat. En gendrivare har förmågan att sätta in en kopia av sig själv på en vald plats i genomet och på det viset sprida sig genom många generationer till alla individer i en population.

Bioresurs har tagit fram en övning som illustrerar hur nedärvningen förändras av en gendrivare och hur den skiljer sig från mendelsk nedärvning. Övningen kan användas för att ge elever förståelse för nedärvning men den kan också vävas in i ett större sammanhang, där man diskuterar exempelvis invasiva arter som påverkar ekosystem eller allvarliga smittsamma sjukdomar som sprids av sexuellt reproducerande arter.

ÖVNINGAR I BIOINFORMATIK

Molekylärbiologins snabba utveckling har genererat stora mängder biologiska data i form av till exempel DNA- och aminosyrasekvenser, som samlats i databaser. Bioinformatiken ger verktyg att hantera dessa omfattande datamängder. Många databaser är fritt tillgängliga och kan användas i skolan. På Bioresurs hemsida har vi flera exempel på övningar i bioinformatik med jämförelse och tolkning av DNA- eller aminosyrasekvenser.

Några exempel på övningar är att studera släktskap mellan olika arter och skapa fylogenetiska träd eller att ta reda på mer om människans genom och jämföra kromosomernas innehåll med andra närbesläktade arter. Bioinformatik kan också användas för att jämföra fungerande gener med varianter som orsakar sjukdomar. I uppgifterna *Alexanders sjukdom* och *Tay-Sachs sjukdom* får eleverna jämföra olika gensekvenser och leta efter eventuella skillnader.

FÖRDJUPNINGSUPPGIFTER

Ta reda på mer om genmodifierade djur och växter, som exempelvis: Var står forskningen idag? Vad finns på marknaden – är det möjligt att köpa livsmedel i Sverige som tillverkats av genmodifierade organismer? Hur skiljer sig lagstiftningen mellan Europa och andra länder som exempelvis USA?

Ta reda på!

Se Bioresurs hemsida för fullständiga beskrivningar och länkar: www.bioresurs.uu.se





Arv + miljö

Diskussionen gäller inte längre om individers egenskaper beror på antingen arv eller miljö, i de flesta fall handlar det om en inverkan av både arv och miljö. Epigenetiken knyter samman arv och miljö och öppnar för biologiska förklaringar av hur miljöfaktorer som miljögifter och livsstil påverkar en individ.

Längs väggkanten växte ett stort bestånd med gulsporre. Blomstänglarna var översållade med nyss utslagna blommor, men vid lite närmare granskning såg några blommor annorlunda ut jämfört med de övriga. Normalt är gulsporrrens blommor bilaterala med läppformad krona och en sporre, men de avvikande blommorna var tubformade och närmast radiärsymmetriska med flera sporrar. (Se foto nedan på gulsporre med en avvikande blomman längst ner till vänster.)

Carl von Linné beskrev den här varianten av gulsporre redan 1744 i skriften *Dissertatio botanica de Peloria* och kallade den peloria, ett monster. Idag vet vi att blommans form beror på en epigenetisk förändring av en reglerande DNA-sekvens som påverkar genen *Lcyc*. Genen är normalt aktiv och ger blomman en bilateral form, men om metylgrupper fäster på den reglerande sekvensen inaktiveras genen och det bildas en blomma med annorlunda form.

Detta är ett exempel bland många på hur epigenetiken påverkar organismer. Så nästa gång du hittar gulsporre kolla om det är en peloria!

Tvillingstudier

Ett sätt att förstå betydelsen av epigenetiska förändringar hos människor är att studera tvillingar. Sverige har världens största register över tvillingar med cirka 180 000 individer.

Vid tvillingstudier kan man exempelvis jämföra enäggstvillingar som växt upp i samma familj med enäggstvillingar som växt upp i olika familjer beträffande en viss egenskap. Eftersom enäggstvillingar har samma genetiska uppsättning ger det en uppfattning om i vilken grad egenskapen är ärftlig. Om ärftligheten är 0 procent beror egenskapen helt på miljön och om ärftligheten är 100 procent beror egenskapen helt på arv, men oftast samverkar arv och miljö.

Forskare berättar

I denna del beskriver forskare hur livsstilsfaktorer, hormonstörande ämnen och vissa metaller påverkar epigenomet och

i förlängningen våra egenskaper. Molekylärbiologiska förklaringar av vad epigenetiska förändringar av genomet innebär ges även.

Den första artikeln tar specifikt upp betydelsen av att elever får del av ny kunskap kring epigenetik med tanke på att livsstilen påverkar genernas aktivitet.

Epigenetik i skolan

I läromedel för skolan brukar ingå en del där man diskuterar egenskaper som beror mest på arv respektive mest på miljöfaktorer. Viktigt i detta sammanhang är att få förståelse för att arv och miljö samverkar och inse att den förenklade bild som ges av det centrala dogmat behöver kompletteras.

Epigenetik blir ett begrepp utan substans om man inte förstår hur gener regleras och hur sambandet gen – protein – egenskap ser ut. Elever behöver därför få grundläggande kunskaper i molekylärgenetik tidigare i skolan för att nå en djupare och bredare förståelse för aktuell kunskap inom området.

Att diskutera betydelsen av livsstilsfaktorer är en viktig del i biologiundervisningen. Det handlar bland annat om hälsa, sjukdom, sömn, kost och motion. När man nu börjar förstå mer om den biologiska bakgrunden till hur arv och miljö samverkar blir det allt viktigare att fundera över den egna livsstilen.

Kunskaper i epigenetik ger också en ökad förståelse för att det är viktigt att arbeta för att begränsa miljöfarliga ämnen, inte minst sådana som verkar hormonstörande.



Epigenetik

– biologins nya guldrusch?

Ett forskningsområde som växer allt starkare är epigenetik. Allt är inte förutbestämt av våra gener; miljöns inverkan och hur vi lever har stor betydelse för hur generna uttrycks. Och självklart är detta viktigt att uppmärksamma i biologiundervisningen.

Har du hört talas om epigenetik? Ordet dyker upp då och då i samhällsdebatten och i populärvetenskapliga program. Att det har något med genetik att göra är inte så svårt att förstå, men på vilket sätt? "Epi" är grekiska och betyder på/över, och epigenetik kan förstås som att något är lagt som ett lager på/över genetik. Vad består detta lager av? Det utgörs av specifika molekyler som binder

till DNA och/eller de proteiner som DNA är vinklade runt, histonerna. Mest fokus har lagts på metylgruppen, som binder till kvävebasen cytosin i DNA. Således är epigenetik något som försiggår utan att DNA-sekvensen förändras. Epigenetiska förändringar är inte mutationer.

Differentieringen påverkas

Varför är detta så intressant? Att metylgrupper binder till specifika cytosinbaser

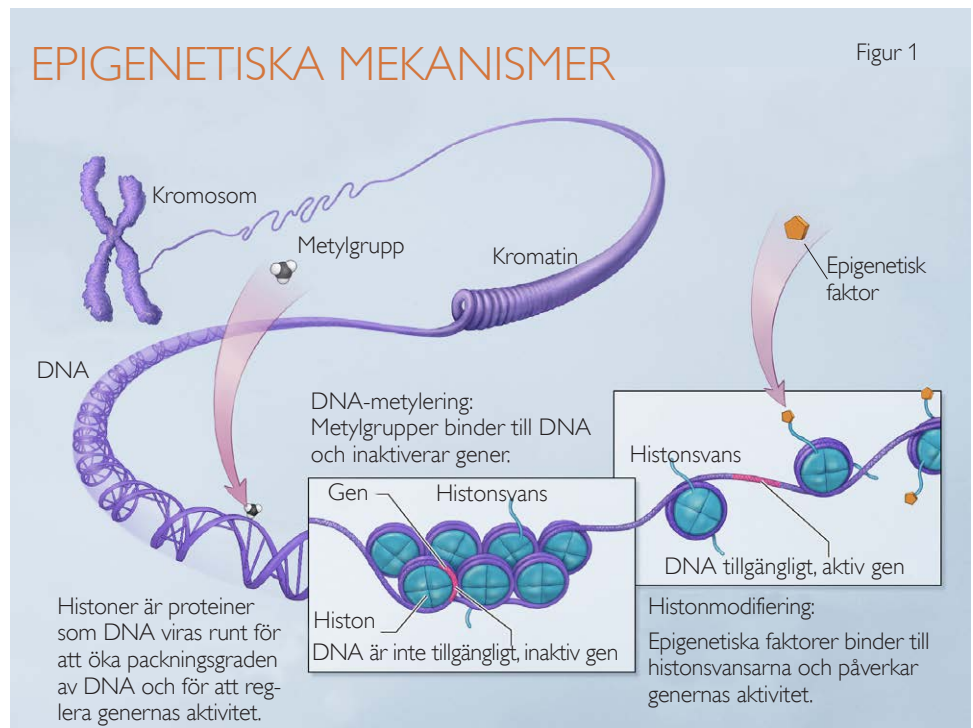


Texten är skriven av:

Birgitta Mc Ewen

Docent i naturvetenskapernas didaktik med hemvist i den didaktiska forskargruppen SMEER vid Karlstads universitet

Birgitta har i sin forskning kopplat olika aspekter av epigenetik till skolans arbete. Hon deltar just nu i en studie som undersöker epigenetik som allmänbildning och del av skolans biologiundervisning.



i DNA verkar kanske inte vara så viktigt, men det är det. Metylgrupperna påverkar processer som reglerar hur aktiva generna är, vilket är grunden för vad som händer i cellerna och därmed i hela organismen. Metylering av DNA leder till att gener tystas. Det är bland annat beroende på denna process som en befruktad äggcell kan utvecklas till ett litet barn under de nio månader fostret befinner sig i mammans livmoder. De epigenetiska processerna är delaktiga i vad som händer under **differentieringen**, det vill säga när celler utvecklas på olika sätt och får olika uppgifter i organismen. Biologer har länge funderat på hur differentieringen går till. Nu har de fått ett nytt redskap för att förstå processerna mera i detalj, även om allt ännu inte är klarlagt.

Miljön påverkar

Ytterligare fascination infann sig när man förstod att miljöfaktorer kan påverka epigenetiska processer. Det betyder att gener är aktiva eller passiva beroende på hur olika miljöfaktorer påverkar händelseförloppet i cellerna och organismen. Det innebär

också att debatten om arv och miljö har förändrats: arvet är inte längre åtskilt miljö, utan miljöfaktorer kan påverka olika gens aktivitetsgrad. Forskningen har därmed gett oss en molekylär förklaringsmodell till hur miljön kan påverka genuttrycket. Den klassiska debatten "arv eller miljö" kan nu bättre beskrivas och sammanfattas som "arv och miljö". Det **centrala dogmat**, det vill säga DNA – mRNA – protein – funktion, har också fått sig en törn: information går inte bara från DNA till ribosomernas "proteinfabriker", utan information kan också gå i omvänd riktning till DNA utifrån vad som händer i cellmiljön.

Epigenetiken växer fram

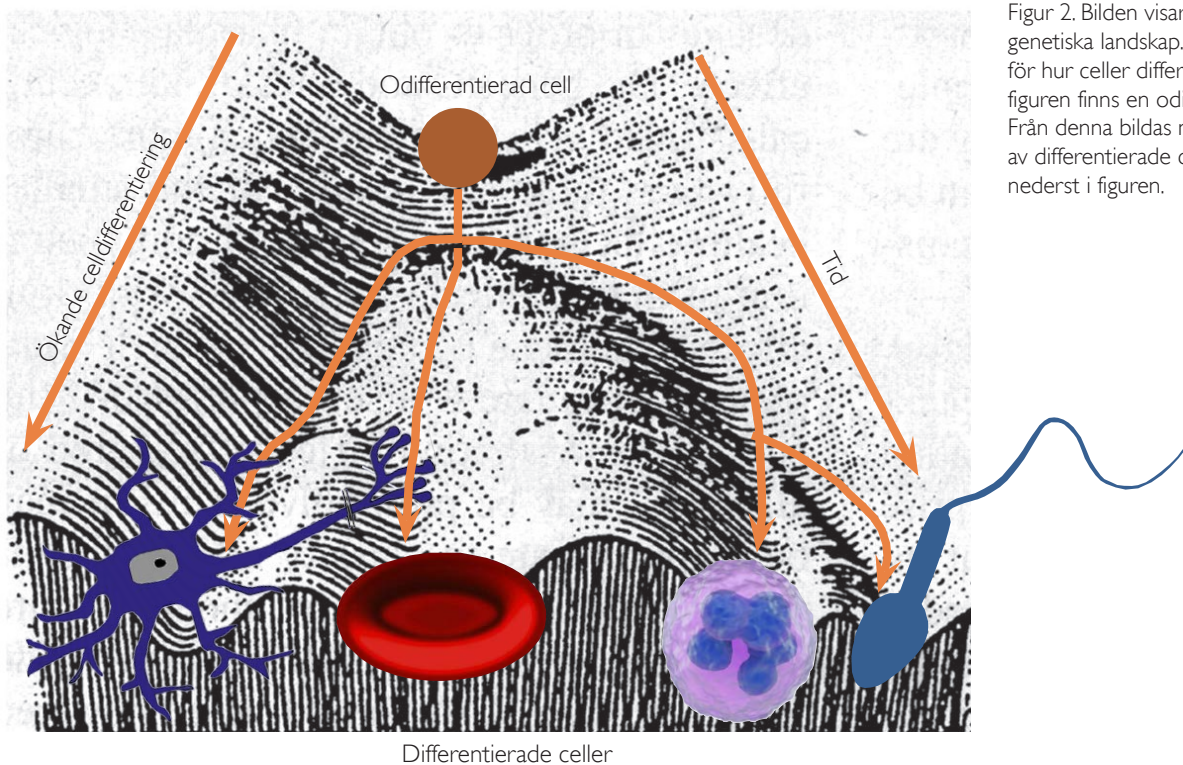
Det område inom biologin som ledde fram till konceptet epigenetik har sitt ursprung i **embryologi** och cellfysiologi. Från 1800-talets slut och framåt diskuteras hur en befruktad äggcell kan differentieras till alla olika typer av celler som finns i en individ.

I mitten av 1900-talet myntades begreppet epigenetik av den brittiske bio

Differentiering – celler utvecklas på olika sätt och får olika uppgifter i organismen.

Centrala dogmat – beskriver processen från DNA via mRNA till en aminosyrasekvens

Embryologi – handlar om den tidiga utvecklingen av en organism från en befruktad äggcell



Figur 2. Bilden visar Waddingtons epigenetiska landskap. Det är en modell för hur celler differentieras. Överst i figuren finns en odifferentierad stamcell. Från denna bildas med tiden olika slag av differentierade celler som man ser nederst i figuren.

logen Conrad Waddington. År 1957 beskrev han det han kallade det epigenetiska landskapet. I en berömd teckning visar han en boll som rullar nerför ett vågigt plan med möjlighet att välja olika dalar eller fack. Bollen symboliserar en cell och var Waddingtons sätt att beskriva differentiering av celler. Han förstod inte mekanismerna bakom differentieringen, men det spelade ingen roll; forskarna började tänka i nya banor tack vare Waddington. Från hans figur kan man lätt förstå att det är svårt för en boll att rulla uppåt igen eller att ta sig över till en annan dal. Detta är en modell som visar att när en cell väl har differentierats är det svårt att ändra dess egenskaper.

Molekylära mekanismer

Efter hand som molekylärbiologer fick insikter i DNA-molekylens uppbyggnad och ökade kunskaper om cellens fysiologi, började även de epigenetiska processerna kartläggas.

Även andra mekanismer, utöver metylering av DNA och modifiering av histoner, räknas till dessa processer, bland annat modifieringar kopplade till RNA. Det pågår nu ett intensivt forskningsarbete för att klarlägga de epigenetiska processerna. Man kan betrakta genomet med dess DNA-sekvenser som hårddisken, och de epigenetiska mekanismerna som mjukvaran.

Epigenetik har stor betydelse

Kunskap om epigenetik är viktig eftersom den kommer att få stor betydelse för vår förståelse av en rad olika områden. Epigenetik handlar om grundläggande cellmekanismer och det medför att alla kunskapsområden påverkas som på något vis har med levande celler att göra. Exempel är medicin, farmakologi, psykologi, pedagogik, miljövard och agrikultur.

Forskarna har kommit olika långt inom olika områden, men längst inom medicin. Exempelvis uppvisar cancerceller ofta förändrade epigenetiska mönster. DNA-metylering kan ibland reverseras, och genom att förstå reverseringsmekanismerna, skulle cancersjukdomar kunna

botas. Läkemedel som kan förändra epigenetiska mönster testas redan.

Många biologer talar idag om kunskapen om epigenetik som avgörande för många forskningsområden. Dock stödjer inte alla forskare denna tanke. Framtiden får utvisa vem som har rätt, men onekligen lutar det hela åt fördel till de som förespråkar epigenetikens stora betydelse.

Epigenetik i skolan

Elever bör få kännedom om epigenetik, eftersom denna kunskap har så stor betydelse för deras eget liv. Var och en kan själv påverka sitt epigenetiska mönster genom att välja livsstil. Vilket liv du lever påverkar alltså de epigenetiska markörerna på ditt DNA.

Försök har visat att epigenetiska mönster ändras på tusentals platser i ditt DNA när du tränar. Epigenetiska mönster ändras också när du lär dig nya saker och förändras beroende på vad du äter. Kort sagt kan du själv styra över hur ditt epigenetiska mönster ser ut och på längre sikt har det betydelse för din hälsa.

Undervisning om epigenetik bör komma in i genetikundervisningen, men även i andra områden som hälsoundervisning. Nedan ges några diskussionsfrågor att använda i klassrummet.

DISKUTERA

Epigenetiken har lärt oss att miljön påverkar hur gener uttrycks. Det betyder att allt inte är förutbestämt beroende på vilka gener du har, utan att du själv har möjlighet att påverka din egen fysiologi mer än man tidigare trott.

Det kan till exempel handla om att mer fysisk aktivitet och stress ser ut att påverka lärandet genom epigenetiska processer.

Påverkar kunskaper i epigenetik ditt sätt att leva? Bli du mer motiverad att till exempel träna eller att i övrigt påverka din livsstil när du vet att egna beslut påverkar mer än man tidigare trott?

Finns det någon fara i att mer ansvar läggs på individen utifrån resonemanget ovan?

Epigenetiken påverkas av miljön

Epigenetik är ett nytt forskningsområde som på allvar bröt igenom för cirka tio år sedan. Epigenetiken kan förklara hur den genetiska koden reagerar på miljön. Vissa epigenetiska processer kan ärvas från cell till cell men det är mycket mer osäkert om de kan ärvas från föräldrar till barn över flera generationer (även om det ofta i pressen tolkas så men för vilket det ännu inte finns konkreta bevis för hos människan). Epigenetik kan förklara vitt skilda fenomen som:

- Hur kan våra celler se så olika ut och ha helt olika funktioner trots att de alla bär samma DNA?
- Hur kan kvinnor ha en hel extra kromosom X, en av våra största kromosomer som saknas hos män, medan skillnaderna mellan män och kvinnor är förhållandevis små (jämför med att ha en extra av den lilla kromosom 21 som ger Downs syndrom)?
- Hur kan vi få cancer av miljön trots att många cancerframkallande ämnen inte ger mutationer?
- Hur kan miljön i mammans mage påverka barnets utveckling långt senare i livet?

Förklaringen är att epigenetiska modifieringar, exempelvis metylering av DNA, gör att DNA-proteinstrukturen (så kallat kromatin) är mer öppen eller stängd, vilket bestämmer om DNA:t kan läsas av till RNA eller ej. DNA-metylering påverkar exempelvis generna i en hudcell så att de gener som har med hudcellens funktion framförallt uttrycks. DNA-metylering inverkar också på kvinnors extra X-kromosom så att den nästan inte uttrycks alls. DNA-metylering gör även så att gener som kan öka risken för cancer inte uttrycks. DNA-metylering som uppstår tidigt i livet kan ärvas från cell till cell och göra att bar-

net programmeras så att risken ökar att senare få vissa sjukdomar.

Metallpartiklar och sot

I min forskning försöker vi förstå samspelet mellan epigenetik och miljö. Vi arbetar med att klargöra om miljön på arbetsplatsen ger epigenetiska förändringar som i sin tur kan leda till cancer. Det är nämligen känt att vissa yrkesgrupper, såsom svetsare och sotare, vilka är exponerade för metallpartiklar respektive för sot, har högre risk för cancer framförallt i lungan. Men det är oklart om det fortfarande finns cancer-risker för dagens arbetare. Vi har nu visat att icke-rökande svetsare och sotare har epigenetiska förändringar i blodet i form av lägre DNA-metylering i en specifik gen (*F2RL3*), jämfört med kontroller. Denna lägre metylering har i andra studier visat ge ökad risk för lungcancer. Exponeringen för partiklar och sot hos svetsarna och sotarna i vår studie är under dagens gränsvärden – så våra resultat tyder på att gränsvärdena i arbetsmiljön bör ses över för att skydda arbetarna mot framtida cancer.

Kadmium och arsenik

Vi har även visat att metallerna kadmium och arsenik, som återfinns i mat och dricksvatten, påverkar DNA-metylering i blodet hos vuxna, men även hos barn som har blivit exponerade för dessa metaller under fosterstadiet. Sambanden mellan kadmium och DNA-metylering fann vi vid koncentrationer under dagens gränsvärde för kadmium i urin (ett mått på dosen i kroppen). Vi har emellertid hittills inte kunna peka ut specifika gener som förändras vid exponering för metaller. Vi försöker nu ta reda på om de epigenetiska förändringarna påverkar barnens utveckling senare i livet och om det leder till sjukdom.



Texten är skriven av:

Karin Broberg

Professor i miljömedicin vid Institutet för miljömedicin på Karolinska Institutet

Hon leder en forskargrupp som försöker ta reda på vilken betydelse genetik och epigenetik har för sjukdomar som orsakas av giftiga ämnen i miljön. Epidemiologiska studier utförs där individers exponering för giftiga ämnen, samt molekylära biomarkörer hos individerna, som indikerar hur de påverkats av exponeringen, analyseras.



Vi arbetar med att klargöra om miljön på arbetsplatsen ger epigenetiska förändringar som i sin tur kan leda till cancer.

Epigenetiska effekter av

Hormonstörande ämnen



Texten är skriven av:

Joëlle Rüegg

Forskare och ledare av forskningsgruppen Epigenetisk toxicologi vid Institutet för Miljömedicin (IMM) på Karolinska Institutet

Frågeställning som berörs i forskningsprojektet:

Hur påverkas DNA-metylering av hormonstörande kemikalier?

Hur är epigenetiska förändringar som orsakats av hormonstörande kemikalier kopplade till nervcellernas differentiering och tillväxt?

Hur är sådana förändringar hos människan kopplade till exponering å ena sidan och till psykiatriska sjukdomar å den andra?

Omkring fem procent av svenska barn har diagnoser som autism och ADHD och ännu fler uppvisar tecken på kognitiva problem, till exempel störningar i språkutveckling och beteende. Vi vet att barnens genetiska bakgrund spelar en roll för att utveckla dessa problem, men det blir allt tydligare att miljön också har betydelse. Ett område som väckt ett allt större intresse är exponeringen för kemikalier, och i synnerhet kemikalier med hormonstörande egenskaper (Endocrine Disrupting Chemicals, EDCs). Detta är molekyler som kan interagera med människans egna hormonsystem, bland annat med de manliga och kvinnliga könshormonerna, redan vid mycket låga halter. Sådana kemikalier används till exempel som mjukgörare i plaster eller som bekämpningsmedel och finns därför i ett stort antal vanliga konsumtionsprodukter såsom i mat, leksaker, förpackningar, kosmetika med mera.

Finns i miljön och i oss

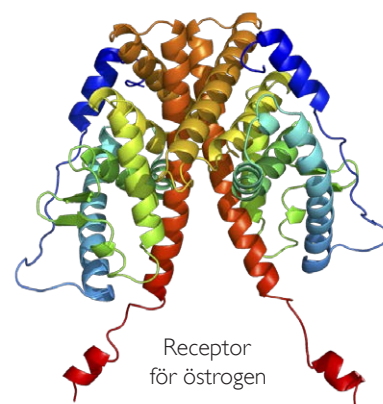
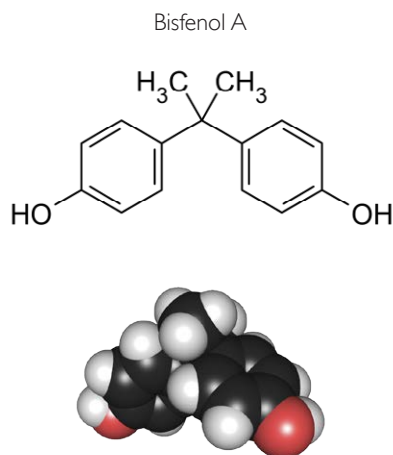
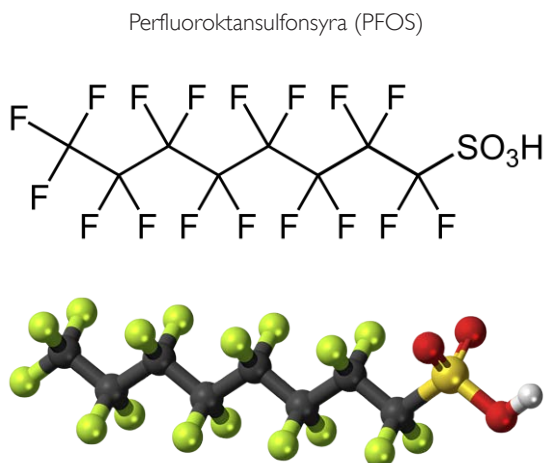
Hormonstörande ämnen delas in i olika kemiska klasser och har varierande egenskaper, till exempel gäller det hur länge de håller sig kvar i miljön. De mest persistenta, de så kallade "Persistent Organic Pollutants" (POPs), förbjöds 2004 i Stockholmskonventionen. Trots det kan man fortfarande mäta halterna, både i miljö och i människor, eftersom de håller sig kvar i århundraden.

Andra ämnen så som plastmjukgörarna **bisfenol A** och ftalater bryts snabbt ner i kroppen men eftersom de finns överallt i vår omgivning kan de ändå mätas i urin,

blod, bröstmjolk och även i fostervatten. Detta innebär att vi alla är exponerade, till och med foster och spädbarn som är de mest känsliga. Halterna är oftast lägre än gränsvärdena men eftersom gränsvärden är framtagna med förhållandevis gamla vetenskapliga metoder som inte tar hänsyn till exempelvis känsliga grupper (foster, spädbarn) eller effekter som beror på kombinationer av olika ämnen är det oklart om vi är tillräckligt skyddade. Ett ökande antal studier visar samband även mellan låga exponeringshalter och olika negativa hälsoutfall. Dessutom finns det fall, även i Sverige, där människor har utsatts för alldeles för höga halter av misstänkta hormonstörande ämnen. Till exempel upptäcktes det 2013 att höga halter av **perfluorerade ämnen (PFAS)** fanns i dricksvattnet i flera svenska kommuner. Dessa ämnen används som vattenavstötande kemikalier i till exempel brandsläckskum och höga halter hade uppmätts i närheten av militära anläggningar där många brandövningar hade förekommit.

Påverkan på foster?

Eftersom hormoner är viktiga redan under fosterutvecklingen kan exponering tidigt i utvecklingen leda till permanenta förändringar som i sin tur kan ligga bakom ökad benägenhet att utveckla neurologiska eller psykiatriska sjukdomar. Och det har blivit allt tydligare att epigenetiska mekanismer ligger bakom dessa permanenta förändringar. I både djur- och cellstudier har man sett att EDCs påverkar epigenetiska processer och att det i sin tur kan leda till långvariga



Figur 3-7

Bisfenol A används som mjukgörare i plaster. Det är ett hormonstörande ämne som liknar det kvinnliga köns-hormonet östrogen så mycket att både bisfenol A och östrogen binder till samma **receptor**. Det är därför inte så svårt att förstå att bisfenol A kan få olika effekter på kroppen. Djurstudier har visat att bisfenol A ger beteendeförändringar.

Perfluoroktansulfonsyra (PFOS) är ett av de mest vanliga **perfluorerade ämnena** (PFAS). Mätbara halter finns i naturen såväl som i våra kroppar. PFAS-ämnen är mycket svårnedbrytbara.

förändringar som i vissa fall till och med kan överföras till oexponerade generationer. Därför skulle epigenetiska förändringar kunna användas som markörer för att bedöma hälsoriskerna som utgörs av hormonstörande ämnen inom en eller över fler generationer.

Molekylära mekanismer

Min forskning syftar till att förstå de molekylära mekanismerna bakom EDCs påverkan på epigenetiska mönster. Hur denna påverkan hänger ihop med nervcellers differentiering och funktion, samt vilken inverkan dessa ämnen har på beteendet hos djur och människor. Vi använder ett tvärvetenskapligt angreppssätt som kombinerar experimentella och epidemiologiska studier för att uppnå detta.

Till exempel har vi i en molekylär studie kunnat visa att **receptorn** för det kvinnliga könshormonet östrogen reglerar epigenetiska mönster hos ett antal gener som bland annat är involverade i differentieringen av nerver. En av dessa gener kodar för en neurotransmittorreceptor och är därmed viktig för nervcellfunktionen. I en djurstudie kunde vi visa att tidig exponering för bisfenol A, ett ämne som stör östrogensignaleringen, leder till långvariga epigenetiska förändringar av denna gen. Nivåerna av genprodukten i hjärnan förändras därmed. Detta passar ihop med resultat från olika forskargrupper som visar att exponering för bisfenol A kan leda till beteendeförändringar hos djur.

Intressant är att vi även har hittat ett samband mellan exponering för bisfenol A innan födseln och epigenetiska förändringar av samma gen hos människa. Detta samband såg vi i en stor Värmländsk studie (SELMA) där över 2000 mödrar rekryterades när de var gravida. Barnen har sedan följts sedan födseln och är nu 7-9 år. När mammorna var gravida mättes över 50 kemikalier i deras blod och urin för att få en uppskattning av fostrens exponering. Dessutom finns det ett stort antal hälsundersökningar och prover från barnen.

Förbättra riskbedömningen

Med denna information kan vi nu forska vidare på om epigenetiska förändringar i denna och andra gener hänger ihop med exponering innan födseln för andra kemikalier utöver bisfenol A. Och om det även finns samband mellan sådana epigenetiska förändringar och hälsoproblem som rör beteende, kognition eller neurologiska funktioner.

Genom att länka ihop experimentella och epidemiologiska studier försöker vi identifiera epigenetiska mönster som fungerar som markörer för störningar i hjärnutvecklingen beroende på exponering för bisfenol A och andra hormonstörande ämnen.

Med sådana insikter kan vi bidra till att förbättra riskbedömningen av kemikalier för att bättre kunna skydda oss och våra barn från exponering som påverkar vår hälsa.



Vi alla är exponerade, till och med foster och spädbarn som är de mest känsliga.

Epigenetikens betydelse för hälsan



Texten är skriven av:

Åsa Johansson

Biträdande universitetslektor och forskare vid Institutionen för immunologi, genetik och patologi vid Uppsala universitet. Forskargruppen hon leder studerar om sällsynta och populations-specifika genetiska varianter bidrar till folksjukdomar; hur epigenetiken påverkar vår hälsa samt hur miljöfaktorer påverkar den epigenetiska regleringen av våra gener.



Rökning, tedrickande, svält och sömnbrist påverkar vår arvs massa via epigenetiska förändringar.

Det är väl känt att såväl kost, som miljö, livsstil och genetiska faktorer påverkar vår hälsa och risken att drabbas av sjukdomar såsom diabetes, hjärtinfarkt och cancer. I vår forskning undersöker vi hur livsstilsfaktorer påverkar vår arvs massa via epigenetiska förändringar, det vill säga kemiska förändringar av DNA:t som påverkar genernas aktivitet men är av annat slag än direkta genetiska mutationer. Förändringar sker som en naturlig del av utvecklingen och åldrandet, men kan även uppkomma på grund av miljö- och livsstilsfaktorer, eller på grund av infektion och sjukdom.

Nyligen har vi och andra forskare visat att rökning, tedrickande, svält och sömnbrist påverkar vår arvs massa via epigenetiska förändringar. Dessa förändringar reflekterar hur kroppen svarar på olika yttre faktorer och kan hjälpa oss att förstå hur olika livsstilsfaktorer kan kopplas till hälsoeffekter. Vi har till exempel sett att kvinnor som dricker mycket svart te får förändrad aktivitet hos gener som påverkar östrogennivåerna och gener som är viktiga i utvecklandet av cancer. Det kan vara en förklaring till varför tedrickande har visat sig kunna skydda mot cancer. För rökning ser vi i stället att det påverkar gener som spelar en viktig roll för insulin och glukos vilket kan vara en koppling till den ökade risk för diabetes som finns hos rökare. Vi vet även att en brist på till exempel folsyra och vitamin B12 har negativa effekter på den epigenetiska regleringen av våra gener, vilket kan få stora konsekvenser under fosterutvecklingen och leda till dålig tillväxt och högre risk för ryggmärgs-

bråck. Det är idag en generell rekommendation att ta tillskott av folsyra och B12 i samband med graviditet, däremot är det mindre känt att detta påverkar fostret via epigenetiska förändringar.

Exponeringar bevaras

Genom epigenetiska förändringar kan effekten av olika exponeringar bevaras i kroppen och påverka vår hälsa senare i livet. Man har hittat avvikande epigenetiska mönster i patienter med olika sjukdomar såsom schizofreni, reumatism och cancer och vi har sett att personer som har drabbats av en hjärtinfarkt har epigenetiska förändringar i gener som är viktiga för hjärtfunktionen. Det finns dock inga starka belegg för att det är de epigenetiska förändringarna som är orsaken till att sjukdomarna uppstår. Det är troligare att de epigenetiska förändringarna är ett svar på hur generna aktiveras för att bekämpa sjukdomen.

Epigenetiska förändringar är reversibla, vilket betyder att förändringar kan rättas till. De senaste åren har därför metoder för att introducera epigenetiska förändringar utvecklats. Till exempel kan man stänga av gener som är nödvändiga för att en tumör ska kunna växa och på så sätt hämma tumörens tillväxt. En större kunskap om hur epigenetiska förändringar uppstår, och hur dessa styr aktiviteten av våra gener, kan i framtiden leda till effektivare diagnostik samt till utvecklingen av nya läkemedel och behandlingsmetoder för många olika sjukdomar. Målet med vår forskning är därför att öka kunskapen om hur genetiska och epigenetiska faktorer, i samverkan med miljön, påverkar hälsan i befolkningen.

Uppgifter till Epigenetik

ETABLERAD KUNSKAP IFRÅGASÄTTS

I grundläggande biologiundervisning brukar man ange variationer i DNA-sekvenser som avgörande för de ärftliga egenskaperna. Förändrar nya kunskaper om epigenetiska faktorer traditionell kunskap? Det finns både snävare och bredare definitioner på epigenetik. Vilka förändringar kan räknas till de epigenetiska? Ge exempel på vilka konsekvenser kunskaper kring epigenetik kan få.

NY FORSKNING FÖRKLARAR

I det inledande avsnittet beskrivs hur en iakttagelse som Carl von Linné gjorde av en speciell variant av gulsporre, *Linaria vulgaris*, som han kallade peloria, nu kan förklaras av en epigenetisk förändring.

Linné ansåg från början att arterna var skapade av en gudomlig makt och sedan inte kunde förändras. Men genom fyndet av peloria tvingades han ifrågasätta sin ursprungliga uppfattning. Var placerade Linné den vanliga formen av gulsporre respektive peloria i sitt sexualsystem? Vilka slutsatser drog han från de båda varianternas utseende och placering i sexualsystemet?

KATTERS FÄRG OCH MÖNSTER

Hos däggdjuren har som bekant honorna två X-kromosomer och hanarna endast en. För att mängden proteiner inte ska bli den dubbla hos honorna stängs den ena X-kromosomen av (X-kromosominaktivering) och bildar en så kallad Barr-kropp. Vilken X-kromosom som inaktiveras sker slumpmässigt via en epigenetisk mekanism och varierar mellan olika celler i en individ.

Ett exempel på detta, som är lätt att iakta, är katters pälsfärg och mönster, som styrs av en kombination av flera gener. Katter har endast två sorts pigment, rött och svart, som kan bilda olika mönster, till exempel randigt eller fläckigt. Den röda färgen (som är dominant och betecknas O), är ett könsbundet anlag på X-kromosomen. Honan kan vara heterozygot och ha både ett anlag för röd färg (O) och ett anlag för svart färg (o). Resultatet blir en mosaikfärgad päls eftersom en av X-kromosomerna i varje cell är inaktiverad, vilket leder till att i vissa cellgrupper uttrycks den röda färgen, medan den svarta färgen uttrycks i andra.

I övningen *Katternas genetik* får eleverna fundera på hur generna styr pälsens färg och mönster och klura ut korsningsschema kring katters olika färg-

teckningar samt fundera på effekterna av anlag som ärvs från X-kromosomen.

LEARN GENETICS

För introduktion till området epigenetik är hemsidan *Learn genetics* användbar. Där finns ett flertal korta texter och filmklipp. På vår hemsida finns frågor som är kopplade till texterna. Eleverna kan antingen dela upp uppgifterna och sedan redovisa sina svar i tvärgrupper eller jobba i par och göra alla eller vissa utvalda moment. Nedan ges några exempel på frågor från *Learn genetics*:

- Varför är enäggtvillingar mer lika i början av livet än senare? Vilken skillnad är det mellan den genetiska koden och epigenetiska förändringar?
- Hur kan epigenetiska förändringar orsaka cancer?
- Hur fungerar *augoti*-genen hos möss? En dräktig mushona som ges metylrik kost får ungar som är normalviktiga och har brun päls. Detta beror på *augoti*-genen som i normalfallet är metylerad. När genen inte är metylerad blir mössen i stället överviktiga och får gul päls. Mammans kost är därmed en viktig faktor som påverkar uttrycket av *augoti*-genen, trots att gensekvensen är lika.
- Varför blir en liger större än sin mamma, som är en tiger, och sin pappa, som är ett lejon? Detta är kopplat till så kallad genetisk prägling. Förklara vad genetisk prägling innebär och vilka konsekvenser det kan få.

TVILLINGSTUDIER

Hemsidan från National Center for Case Study Teaching in Science, University at Buffalo, innehåller många övningar med utgångspunkt i fallbeskrivningar. Dessa är fritt tillgängliga, men för att få tillgång till lärarkommentarer behöver man betala en mindre årsavgift.

I en övning får man följa studenten Elise och hennes enäggtvilling som just diagnosticerats med schizofreni. Eleverna ska bland annat jämföra DNA-metyleringen mellan enäggtvillingar som är tre respektive 50 år gamla och ta reda på mer om sjukdomen schizofreni och genetikerna bakom, samt vilka faktorer i omgivningen som kan orsaka skillnader i epigenomet. Dessutom får eleverna tolka grafer som visar på epigenetiska skillnader i hjärnan mellan friska och personer som diagnosticerats med schizofreni.



Ta reda på!

Se Bioresurs hemsida för fullständiga beskrivningar och länkar: www.bioresurs.uu.se





Liten blir större

Tänk att vi alla en gång har varit så små som en befruktad äggcell. Och att det blev just vi med de egenskaper vi har och att inte någon annan äggcell eller spermie med andra egenskaper råkade träffa på varandra!

I den här delen beskrivs hur en befruktad äggcell delar sig. Av en cell blir det först 2, sedan 4, 8, 16, 32, 64, 128 celler och så vidare tills cirka 37 biljoner ($3,7 \times 10^{13}$) celler bildats, som enligt forskarnas senaste beräkningar finns hos en vuxen människa. Cellerna vandrar längs förutbestämda banor och bildar efterhand de olika celltyper, vävnader, organ och organsystem som bygger upp vår kropp. Och på så sätt blev vi en människa som även kan tänka och reflektera över vår egen utveckling.

Axolotln blir aldrig vuxen

En art som däremot aldrig blir riktigt vuxen är groddjuret axolotl. Utvecklingen stannar upp och om man jämför med andra groddjur ser det vuxna djuret ut som en larv med fransiga yttre gälar. Trots det kan den fortplanta sig. Att utvecklingen stannar på larvstadiet orsakas av brist på sköldkörtelhormon. Om djuret får tillskott av jod eller sköldkörtelhormon kommer det att utvecklas till en salamander med vuxet utseende.

Axolotln blir cirka 30 centimeter lång. Den lever hela sitt liv i vatten och andas med yttre gälar men har även funktionella lungor. Fortplantningen sker i vatten. Den lever i kanaler och mindre sjöar i närheten av Mexiko City och livsmiljöerna har minskat efterhand som stadsbebyggelsen breder ut sig vilket gör att axolotln blir alltmer sällsynt i sin naturliga miljö. Den finns däremot i många laboratorier och forskare har sedan 1800-talet fascinerats av djurets speciella egenskaper.

Axolotln har en fantastisk förmåga att återskapa förlorade kroppsdelar. Ben, stjärt, delar av ögon och hjärna kan återskapas och bli fullt funktionella. Även ett extra femte ben kan växa ut. För oss människor är det än så länge en dröm att kunna ersätta förlorade kroppsdelar genom att nya växer ut, men kanske kan vi lära oss av axolotln?

Figur 1. Axolotl, ett mexikanskt groddjur som aldrig blir vuxet. Lägga märke till de fransiga gälarna som sticker ut från huvudet. Det röda på bilden är mygglarver.

Bilden till vänster visar zebrafisk.

Foto: Roy Francis

Forskare berättar

Här skriver forskare med utgångspunkt i en annan modellorganism, zebrafisk. Vi får följa utvecklingen av ett embryo till vuxen individ. Den centrala frågan är hur det går till när celler som har exakt samma genom differentieras till olika celltyper som bygger upp vävnader och organ. I det här sammanhanget är stamceller, var de finns och hur de fungerar, intressant.

Embryologi i skolan

Embryologi knyter an till centrala och viktiga områden inom biologin, som bland annat handlar om

- befruktning, samt utveckling av ett embryo till en vuxen individ med färdigbildade organ och organsystem
- programmerad celldöd
- gener, som styr utvecklingen av embryot, till exempel HOX-gener som påverkar den grundläggande kroppsbyggnaden
- provrörsbefruktning och undersökning av embryon för att söka efter genetiska förändringar som orsakar svåra ärftliga sjukdomar, samt genetisk rådgivning kring ärftliga sjukdomar
- stamcellers betydelse under embryoutvecklingen och medicinsk användning av stamceller av olika slag, samt återskapande av förlorade kroppsdelar.



Utvecklingsbiologi

– komplexa processer när en ny individ blir till

Utvecklingsbiologiska frågeställningar är bland biologins mest grundläggande och samtidigt mest komplexa: Hur bestäms vilken roll en cell får i ett embryo? Hur organiseras celler till funktionsdugliga organ? Hur bildas könsceller? Hur regenereras skadade vävnader? Svaren är inte bara fascinerande i sig själva, utan har också stor betydelse vid studier av andra fält inom biologin, så som evolution, ekologi, fysiologi, beteende och sjukdomars uppkomst.



Texten är skriven av:

Tatjana Haitina

Forskare vid Institutionen för organismbiologi vid Uppsala universitet

Hennes forskargrupp studerar utveckling av skelettleder som byggs upp av neuralistceller; med zebrafisk som modellsystem. Genom att skapa genmodifierade zebrafiskar där celler i käkleder fluorescerar med en specifik färg, kan hon med hjälp av olika mikroskopitekniker filma celler i realtid under utvecklingen.



Johan Ledin

Forskare vid Institutionen för organismbiologi vid Uppsala universitet

Hans forskargrupp intresserar sig för reglering av transport av signalmolekyler mellan celler. Modellsystemet zebrafisk används för att skapa genmodifierade fiskar där olika extracellulära protein har slagits ut med CRISPR/Cas9-metodik. I zebrafiskens genomskinliga yngel kan effekterna av sådana förändringar följas med olika typer av mikroskopi kombinerat med reglerat uttryck av fluorescensproteiner.

Ett djurs utveckling karakteriseras av det befruktade äggets delning till de många specialiserade celltyper som bildar en kropp. Under djurets utveckling styrs **uttrycket** av tiotusentals olika gener till exakt rätt plats och tidpunkt för att bilda det vuxna djurets komplexa organ. Under utvecklingen, som består av processer som befruktning, celledelning, organbildning, **metamorfos**, **regenerering** och ålderdom, omvandlas genotyp till fenotyp.

Haeckels hypotes

På 1800-talet skapade biologen Ernst Haeckels en berömd bild av embryon som han menade visade att utvecklingsbiologiska processer återspeglar evolutionen av en art. Figur 2 visar embryon från olika arter i olika stadier av utveckling, men han överdriver likheterna och den moderna utvecklingsbiologin ger honom bara delvis rätt.

Detaljstudier av ett växande embryo berättar dock mycket om evolutionen av organen och att de har ett gemensamt ursprung. Exempelvis har nutida fåglar inga tänder, men under embryostadiet har fåglars munepitel förmågan att initiera bildande av tänder. Detta beror på att de äldsta fossila fåglarna hade tänder och i nutida fåglars DNA finns spåren av detta bevarat. Motsvarande gäller för till exempel valar och delfiner, som saknar bakre extremiteter men som under fostertiden bildar strukturer som är föregångare till dessa. Strukturerna utvecklas inte vidare men uppkommer eftersom valarnas föregångare hade bakben.

Cell-cell kommunikation

När man iakttar hur celler bygger ett embryo slås man av den enorma komplexiteten i processen. Myriader av celler koordi-

nerar nybildning av celler och förflyttning så att komplexa strukturer skapas till synes ur tomma intet. Hur kan celler som alla har samma genetiska material veta vad de förväntas göra?

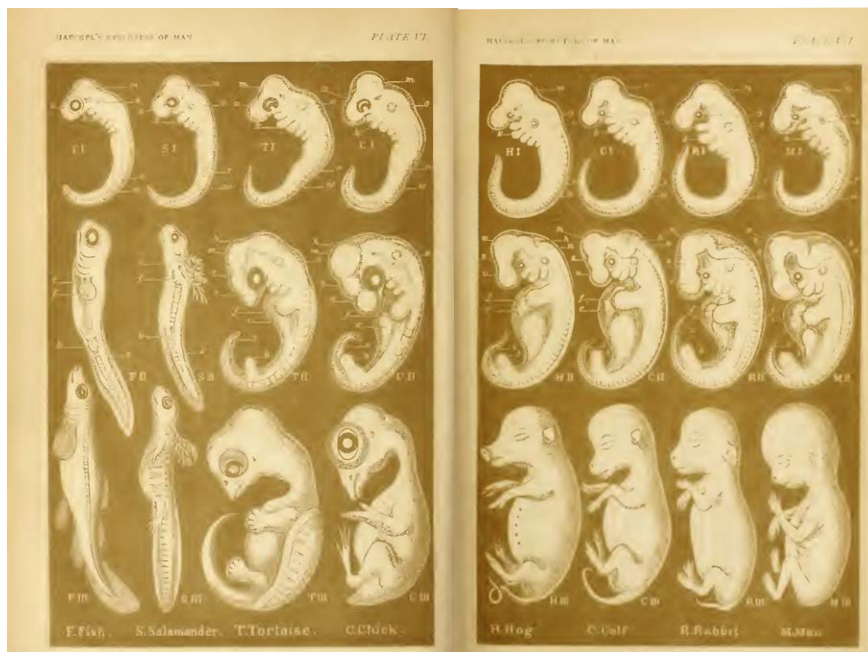
Celler fattar beslut om sin uppgift baserat på två huvudsakliga mekanismer. Den ena är förmågan hos embryots celler att ge och ta emot information från sin omgivning. En cell fångar upp signalmolekyler producerade av andra celler och registrerar från vilken riktning de kommer samtidigt som den detekterar vilken celltyp den har direktkontakt med. Den kombinerade informationen fungerar som en positionsangivelse för cellen och även som en instruktion gällande vilka proteiner den ska producera. Antalet signaler som används mellan celler är dock relativt begränsat vilket kan förfälla förvånande med tanke på den enorma komplexiteten hos en organism. En så komplicerad konstruktion borde väl kräva unika och detaljerade instruktioner?

Förklaringen finns i den andra grundläggande mekanismen: Trots det gemensamma ursprunget har cellerna på olika platser i embryot skilda egenskaper, det vill säga dotterceller tenderar att likna föräldraceller. De olika typerna av celler har olika receptorer för att ta emot signaler. Dessutom har signalvägarna som för informationen till cellkärnan olika egenskaper. Men cellerna har också strukturerat sitt genetiska material så att bara vissa gener kan uttryckas som ett resultat av de signaler cellen uppfattar. I figur 3 syns hur signalmolekylen *Fgf8a* uttrycks på många olika ställen samtidigt i ett zebrafiskembryo (de mörka partierna), men beroende på vilken celltyp som tar emot signalen

Figur 3. På bilden syns ett zebrafiskembryo med mörkfärgade partier som visar hur signalmolekylen *Fgf8a* bildas på många olika ställen samtidigt. Beroende på vilken celltyp som tar emot signalen kan informationen betyda en uppmaning till cellerna att förflytta sig, dela sig eller differentiera till en annan typ av cell med andra uppgifter.

Uttrycket av *fgf8a*-genen är detekterat med så kallad *in situ* hybridisering, vilket innebär att man tillsätter uppmärkta RNA-prober som binder specifikt till *fgf8a*-mRNA i cellerna.

Källa: ZFIN, the Zebrafish Model Organism Database



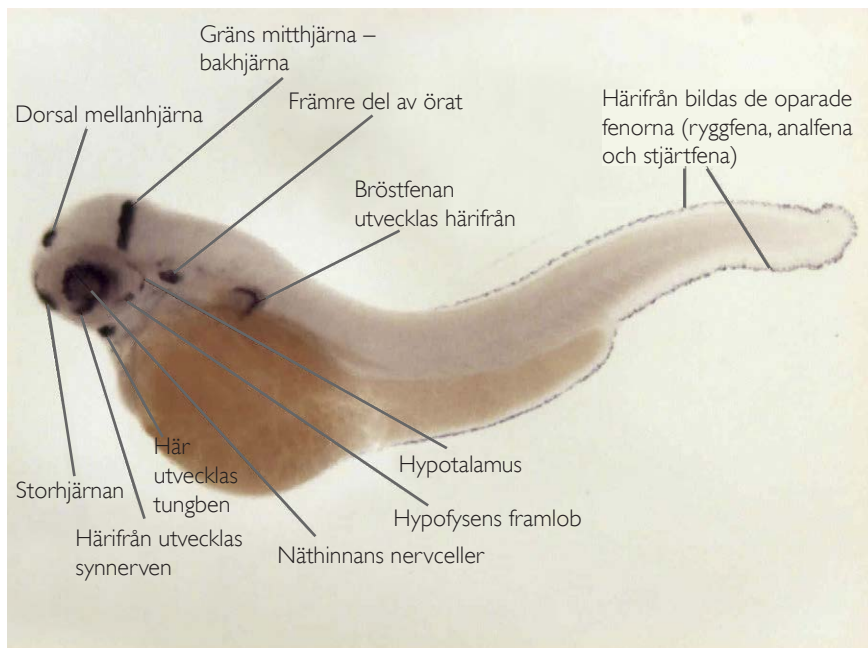
Figur 2. Planscherna visar embryonalutvecklingen hos fisk, salamander sköldpadda, kyckling, gris, kalv, kanin och människa. Likheterna är dock överdrivna.

Ur *The evolution of man: a popular exposition of the principal points of human ontogeny and phylogeny* av Ernst Haeckel, 1879

Genuttryck – den process som innebär att informationen i en gen omvandlas till protein eller RNA

Metamorfos – förändring av kroppsform

Regenerering – återbildning av förlorade vävnader eller kroppsdelar

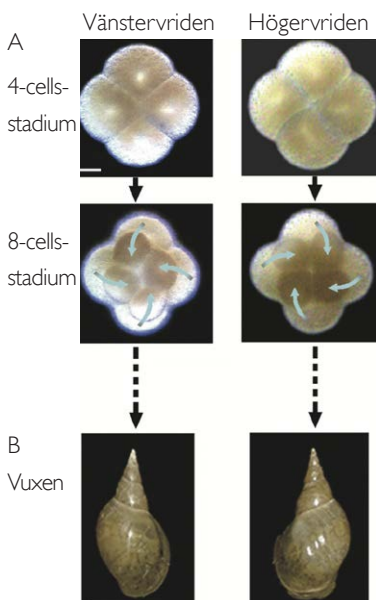
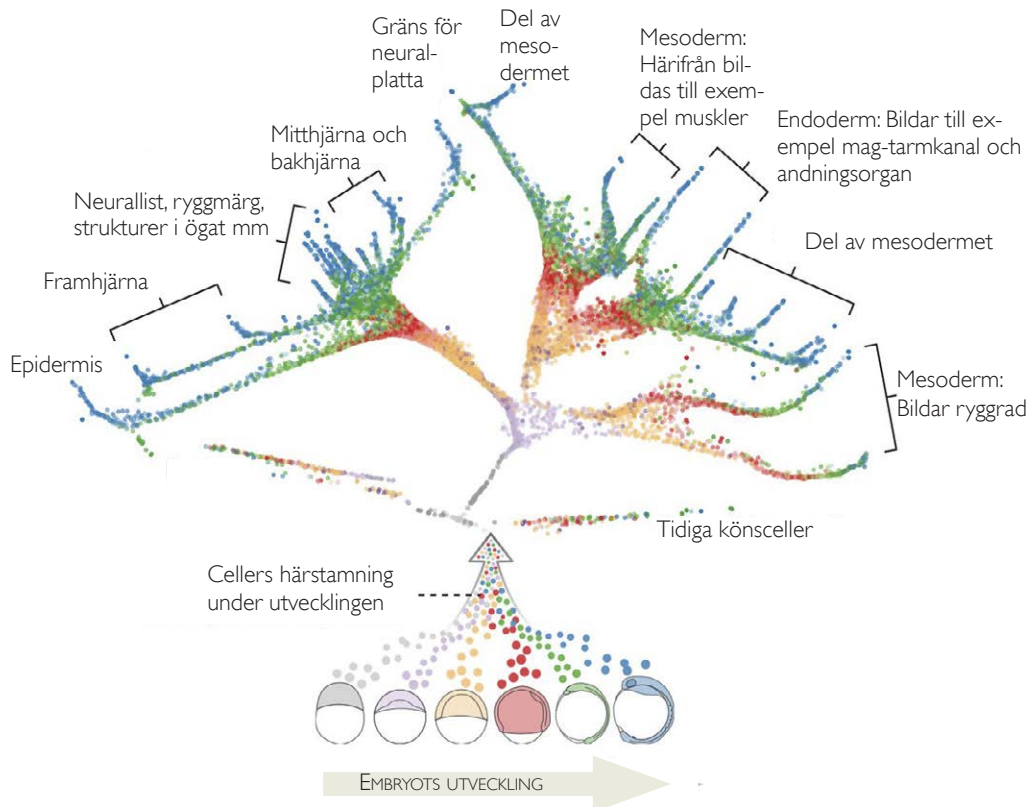


Figur 4. Figuren visar cellers härstamning under utvecklingen av embryot, i det här fallet ett embryo från zebrafisk.

Längst ner i figuren visas med teckningar den successiva utvecklingen från vänster till höger av ett embryo. Här syns också hur färgerna i figuren är kopplade till de olika utvecklingsstadierna.

Figuren är framtagen med hjälp av RNA-sekvensering av enskilda celler

Källa: Farrell et al. 2018. Publiceras med tillstånd från AAAS (American Association for the Advancement of Science). Se Bildreferenser; sidan 79.



Figur 5. Celldelning hos embryon av *Lymnaea stagnalis*, stor dammsnäcka. A. Mikroskopbilderna visar celldelning från fyra till åtta celler.

B. Från 8-cellesskeden till vuxen snäcka med vänstervridet och högervridet skal.

Källa: Shibazaki et al. 2004. Publiceras med tillstånd från Elsevier. Se Bildreferenser; sidan 79.

kan informationen betyda en uppmaning att migrera, dela sig eller differentiera till en annan typ av cell med andra uppgifter.

Utvecklingen går snabbt framåt för tekniker som samlar in stora mängder information från enskilda celler, till exempel vilka RNA-molekyler som finns i cellen. Genom att analysera dessa kan man få en bild av vilka gener som är aktiva i just den cellen. Tillämpningen av tekniker för att kartlägga genaktivitet i celler ("Single cell RNA sequencing") ökar därför just nu kraftigt i det utvecklingsbiologiska forskningsfältet.

En ny organism bildas

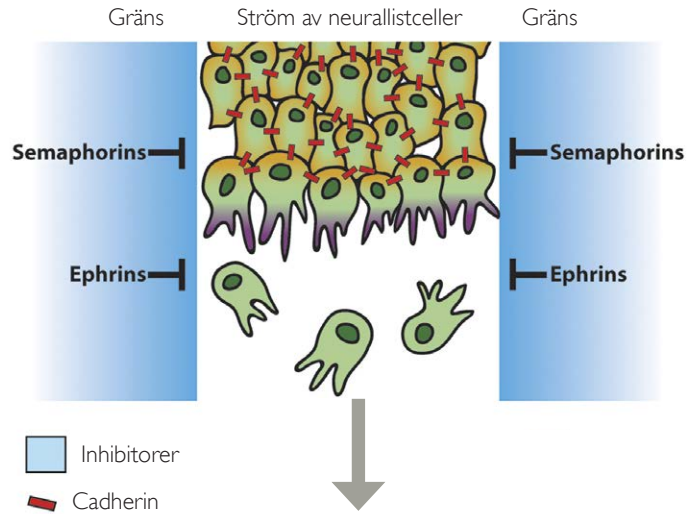
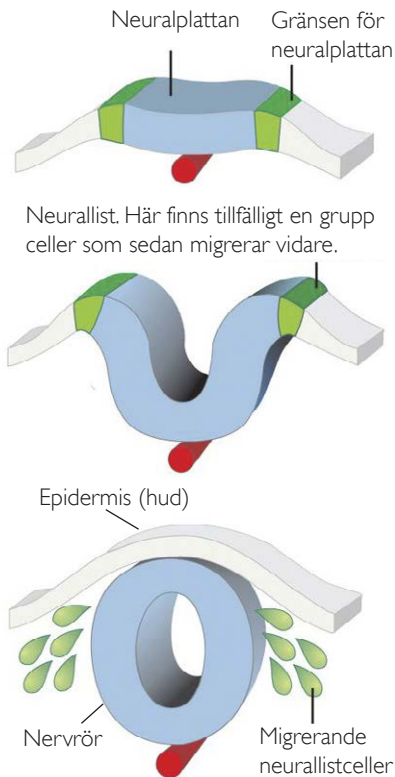
Embryoutveckling börjar med befruktning, när två gameter, en spermie och en äggcell, smälter samman. Inom en minut sker en förändring i membranet som stoppar andra spermier att ta sig in. Redan efter en timme sker första delningen av zygoten – det encelliga embryot. Under den första delningen kan spermien och äggcellens genetiska material hållas separerat, men under efterkommande delningar flyter den genetiska informationen samman. Under embryots första

tid sker vanligen en snabb delning av celler, första cellen delas i två, två celler blir till fyra och så vidare. Frukflugans embryo kan bilda 50000 celler på bara tolv timmar!

Med hjälp av moderna mikroskopitekniker kan man se hur delningen av celler sker och även se hur det genetiska materialet fördelas. De nya cellerna arrangeras på ett specifikt sätt, karakteristiskt för varje djurart. I mikroskopfotografierna till vänster ser vi att cellerna i ett embryo av stor dammsnäcka delas radially, så att varje ny cell vrids åt höger eller vänster, vilket i slutändan avgör om snäckans skal blir höger- eller vänstervridet.

Efter den snabba delningsperioden bildas en vätskefylld hålighets inuti embryot med celler samlade ytterst. Nu kallas embryot för blastula. Embryot går därefter in i en period då celler förflyttas och bildar tre groddlager. Det innebär en första differentiering av celler och avgör vilka celler som ska ingå i olika organ.

Ektodermet är det yttersta lagret, från detta bildas hud och nervsystem. Mesodermet är ett mellanliggande lager



Figur 6. Bilden till vänster: Bilderna visar i genomskärning och uppifrån och nedåt hur neuralröret sluts och neurallistceller migrerar. Nervröret kommer att bilda centrala nervsystemet med ryggmärg och hjärna.

Källa: Simões-Costa & Bronner 2015. Publiceras med tillstånd från Development. Se Bildreferenser, sidan 79.

Figur 7. Bilden till höger: Förflyttning av neurallistceller mellan barriärer av semaforin- och efrinmolekyler.

Källa: Shellard & Major 2016. Publiceras med tillstånd från Elsevier. Se Bildreferenser, sidan 79.

som bygger muskler, ben och blodkärllssystem. Cellerna i det innersta lagret, endodermet, bildar inre organ som till exempel lungor och magsäck. Cellerna i de tre groddlagren börjar uttrycka gener som är specifika för de vävnader de kommer att bilda. Den tidiga utvecklingsprocessen är därmed avslutad och nu börjar det skede som kallas organogenes när celler specialiseras och organiseras till olika vävnader.

Cellfästning och migration

Ett viktigt organ är nervsystemet som bildas från det yttersta groddlagret i embryot, ektodermet. Först bildas ett rör (nervrör) genom att cellagret vikts ner och därefter sluts. Röret täcks av celler som senare kommer att bilda huden (figur 6 ovan). Under denna process migrerar en del celler bort från nervröret när det sluts och byter från det yttersta till det mellersta groddlagret. Detta görs genom att cellerna slutar tillverka vidhäftningsprotein som håller dem samman. **Cytoskelettet** och dess interaktion med **extracellulär matrix** avgör formen på migrerande celler, så de kan flytta sig framåt. Dessa celler kall-

las neurallistceller och de söker sig till olika platser i embryot. Neurallistcellerna börjar sin resa från ryggdelen längs hela embryot och migrerar i strömmar nedåt. En del söker sig till ansiktet, där de bildar brosk, ben och muskelfästen. En del migrerar genom huden och blir pigmentceller, en del bildar nervkluster i exempelvis tarmkanalen. Det är viktigt att neurallistcellerna kommer till rätt plats vid rätt tidpunkt.

Speciella signalmolekyler som kallas semaforiner och efriner vägleder migrerande neurallistceller genom att binda till receptorer på deras cellyta. Cellerna tvingas därmed röra sig mellan två barriärer hela vägen fram till sin destination (figur 7). Cellmigrationen styrs av många olika molekyler och händelser och mycket kan gå fel. Om neurallistceller inte migrerar normalt på grund av mutationer i de styrande generna, kan det leda till sjukdom.

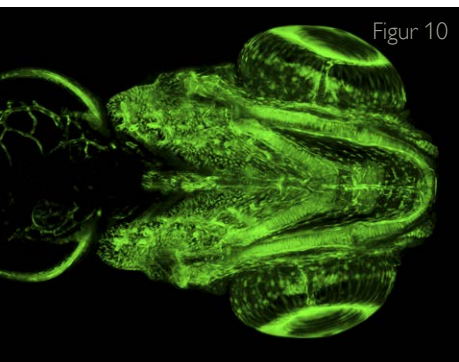
Ett exempel är DiGeorges syndrom, då neurallistceller i huvudet inte förflyttas normalt vilket leder till att bisköldkörtlarna inte fungerar, problem med hjärtat och missbildningar i ansiktet som gomspalt. Personer

Cytoskelett – cellens inre strukturer som ger form, stöd och bidrar till cellens inre organisation

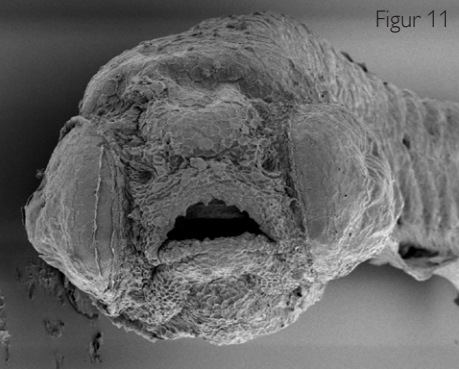
Extracellulär matrix – ett nätverk av proteiner och kolhydrater mellan cellerna, som främjar celledelning och har en stödjande funktion



Figur 8–9



Figur 10



Figur 11

Figur 8–12 visar zebrafisk i olika utvecklingsstadier.

Foto 8–9: Ghazal Aalavioon. Foto 10–12: Judith Habicher

8–9. Två embryon av zebrafisk. Huvudregion, stjärt och gulesäck urskiljs.

10. Ett fluorescerande protein är uttryckt i brosk och blodkärl.

11. En bild av ett embryo framifrån med mun och ögon synliga, tagen med elektronmikroskop.

12. Ett fem dagar gammalt zebrafisk-yngel, bild tagen med ljusmikroskop.

med Hirschsprungs sjukdom har inga tarmrörelser, eftersom nervkluster saknas som normalt bildas från neurallistceller. Neurallistceller som bildar hudens pigmentceller, melanocyter, kan genomgå slumpartad apoptos (celldöd) och det bildas pigmentlösa fläckar som till exempel hos dalmatinerhundar. Men om neurallistcellerna dör kan det också leda till hörselskador hos dalmatiner.

Metoden CRISPR/Cas9 kan användas för att åstadkomma genmutationer i modellorganismer som zebrafisk och mus. Forskare kan därmed i detalj undersöka processer som sker i organismen när en gen inte fungerar under utvecklingen.

Stamceller viktiga i alla åldrar

Hos människan ger den befruktade äggcellen upphov till mer än 10 biljoner celler ($>10^{13}$) i den vuxna individen. De flesta av dessa celler är starkt specialiserade och måste finnas i rätt antal och på rätt plats i varje vävnad.

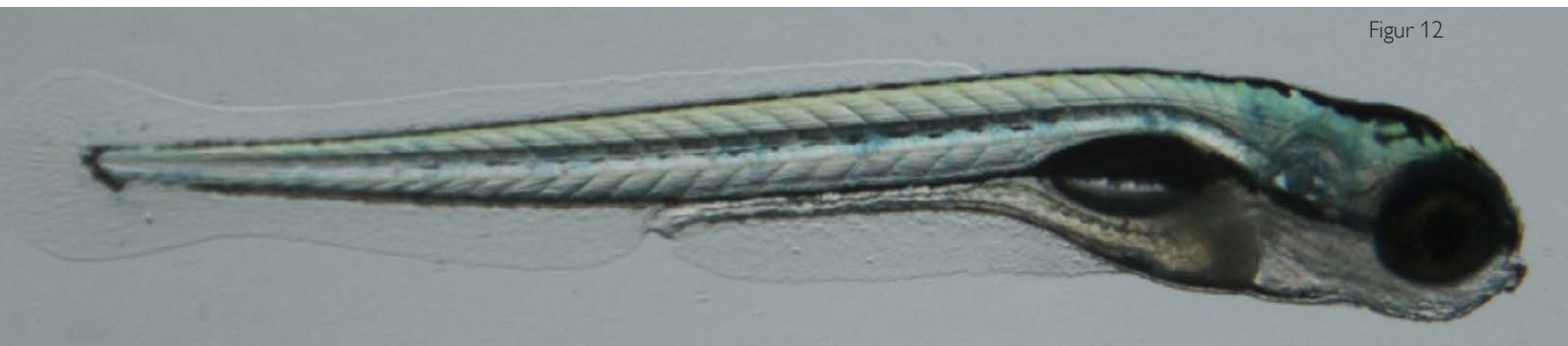
Stamceller kallas celler med förmåga att dela sig och både återskapa kopior av sig själva men också bilda dotterceller som är mer specialiserade. Man brukar karakterisera stamceller utifrån de celler de har möjlighet att producera. Hos däggdjur har varje cell under de första celldelningarna efter att ägget blivit befruktat förmågan att ge upphov till samtliga celltyper som behövs i ny organism. Dessa celler är därmed de mest potenta stamceller man kan finna och benämns totipotenta. En kort tid efter åttacellsstadiet kan celler i embryot fortfarande ge upphov till kroppens alla celltyper och benämns pluripotenta. När embryot utvecklas ytterligare kommer stamceller att bildas som har en allt mer begränsad förmåga att ge upphov

till olika celltyper och en ökande andel celler i individen kommer därför att bestå av slutgiltigt differentierade och specialiserade celler.

Stamceller i äldre foster och vuxna individer utgör en liten andel av det totala antalet celler i kroppen och finns på specifika platser i vävnader, så kallade nischer, där signaler från omgivningen reglerar huruvida stamcellen ska vila, dela sig eller differentiera.

Ett exempel på betydelsen av stamceller är nybildningen av epitelceller i tunntarmen. Tunntarmens struktur liknar ett miniatyrlandskap med bergstoppar och dalgångar bestående av millimeterlångt tarmludd täckt av tarmepitelceller som upptar näringsämnen från födan. Det är en tuff miljö och epitelceller på tarmluddet måste ersättas inom 2–3 dagar. Det sker från stamceller som finns i dalgångarna mellan tarmludden. I centrum av denna stamcellsnisch får nybildade dotterceller signaler från omgivande celler, genom direktkontakt och i form av lösliga signalmolekyler som binder till cellernas receptorer, att fortsätta vara stamceller. Dotterceller som istället hamnar i utkanten av nischen får andra signaler från omgivningen om att istället differentiera till tarmepitelceller och röra sig utåt på tarmluddet för att uppta näringsämnen.

Det pågår intensiv forskning för att förstå regleringen av stamceller i de många olika nischer som finns i olika organ. Trots att nischerna sällan är speciellt iögonfallande så är regleringen av deras funktion central för vävnaders bildande och funktion. En stor förhoppning är att vi i framtiden ska kunna förstå dessa processer så att vi kan ersätta sjuka eller skadade vävnader genom att inplantera olika typer av odlade stamceller i patienter.



Figur 12

Uppgifter till Utvecklingsbiologi



GRODDJURENS UTVECKLING

Grodor och paddor har yttre befruktning och lägger massor av ägg tidigt om våren. Äggen är genomskinliga vilket gör det enkelt att följa utvecklingen av den lilla svarta larven. Ta in några yngel av vanlig groda eller vanlig padda och studera hur de utvecklas. Hur bildas extremiteterna? Vilka delar av larvkroppen tillbakabildas genom programmerad celldöd? Det är tillåtet att under en begränsad tid hålla grodyngel i förvar inomhus om man sedan släpper ut dem igen. Se artikeln *Ägget – en smart förpackning*, Bi-lagan nr 2 2013.

Jämför embryoutvecklingen hos våra svenska groddjur med utvecklingen hos den mexikanska salamandern axolotl.

GISSA EMBRYOT

Ryggradsdjur liknar varandra i början av embryoutvecklingen.

- Följ utvecklingen hos fyra organismer via en animation och gissa vilket djur det är.
- Jämför embryoutvecklingen hos olika djurarter och hos människan. Länkar till filmer och animationer från Youtube finns på vår hemsida och visar utvecklingen hos olika djurarter, som zebrafisk, kyckling, bananflugor och människa.

EMOUSEATLAS

Webbsidan från emouseatlas är i första hand avsedd för forskare, men här finns mycket som är intressant för biologiundervisningen. Länken E-Learning innehåller animationer som visar utvecklingen av människa och olika djur. Exempelvis visas befruktning och de första delningsstadierna, samt bildning av blastula och gastrula. Även utvecklingen av olika organsystem illustreras. Välj nivå från mer översiktlig till fördjupad med omfattande faktainnehåll. Länken Mouse Anatomy Atlas visar foton och filmer på musens utvecklingsstadier.

GENERNA SOM STYR UTVECKLINGEN

Homeoboxgener (*Hox*) finns hos alla djur och är nödvändiga för att embryots grundläggande struktur ska utvecklas korrekt. Familjen med homeoboxgener innehåller uppskattningsvis 235 funktionella gener. Antalet gener och vilka gener som finns varierar mellan arter. Hos människa finns 39 gener, uppdelade i fyra grupper.

- Läs om hoxgener i texten *Homeotic Genes and Body Patterns* på webbsidan från Learn Genetics, University of Utah, och fundera över frågor i anslutning till texten.
- Ta reda på och beskriv kortfattat någon av de viktigaste funktionerna som dessa gener har. Vad kan hända om någon sådan gen hos bananflugor eller människor inte fungerar korrekt?

NOBELPRIS I FYSIOLOGI ELLER MEDICIN

Nobelprisen i fysiologi eller medicin åren 1995, 2002 och 2010 belönar forskning inom embryologi. Läs om upptäckterna och fundera över frågor som knyter an till forskning om:

- gener som styr utvecklingen i bananflugeembryon såväl som i mänskliga embryon.
- hur enskilda celler utvecklas hos nematoden *Caenorhabditis elegans*, med början i en befruktad äggcell tills en vuxen individ bildats.
- metodiken vid provrörsbefruktning.

DISKUTERA ETISKA FRÅGOR

Några exempel på komplexa etiska frågor tas upp nedan. För att kunna ta ställning behövs goda grundkunskaper och inblick i olika intressenters argumentation.

- Vid provrörsbefruktning kan man välja ut embryon med vissa egenskaper. Ska man kunna välja kön eller specifika egenskaper? Vilka genetiska avvikelser motiverar att man gör en provrörsbefruktning för att kunna välja ut embryon?
- Att barnlösa par tar hjälp av surrogatmödrar för att få ett barn förekommer. Vilka etiska aspekter aktualiserar detta?
- Vilka olika typer av stamceller finns och vilka egenskaper har de? Hur kan stamceller med olika mognadsgrad användas i medicinsk behandling? Hur kan man tänka kring genterapi på stamceller? Vilka etiska frågor är viktiga i sammanhanget? Se även artikeln *Rollspel om stamceller* i Bi-lagan nummer 3 2013.
- Bör man tillåta redigering av genomet i ett tidigt embryo, vilket innebär att förändringarna ärvs av kommande generationer? Detta är inte än så länge tillåtet.

Ta reda på!

Se Bioresurs hemsida för fullständiga beskrivningar och länkar: www.bioresurs.uu.se





Livets djupaste rötter

De stora frågorna om livets ursprung; hur, när och var allt började, kommer antagligen aldrig att kunna besvaras med säkerhet. Men forskare beskriver allt fler pusselbitar som fogas till varandra och hjälper oss att förstå vad som hände tidigt i livets utveckling.

Fortplantningsförmågan är förutsättningen för att liv ska kunna fortleva på jorden och för att arvsanlag ska kunna föras vidare i generation efter generation. Det var också något som det första livet måste uppfinna. Dagens organismer använder DNA för att lagra, kopiera och föra vidare arvsanlag till avkomman, samt för att styra de kemiska reaktionerna i cellen. Diskussionen pågår om de första organismerna saknade DNA och istället använde sig av RNA. En fungerande organism måste också kunna innesluta en värld av kemiska ämnen och strukturer inom ett hölje där kontrollerade kemiska reaktioner kan ske. Detta kräver någon form av avgränsat rum, en primitiv cell. Dagens celler omges av ett cellmembran av fosfolipider och vissa organismgrupper har även en cellvägg.

Vilka är de minsta och enklaste organismerna som finns idag? Biologer drar gränsen för levande organismer mellan virus och bakterier. Virus behöver en cell för ämnesomsättning och fortplantning och hör därför inte till de levande organismerna.

En form av jättevirus, Tupanvirus, har uppkallats efter den sydamerikanska åskguden Tupan eftersom representanter för gruppen lever i extrema miljöer som sodasjöar och på flera tusen meters djup i havet. De är lika stora som små bakterier och deras genom kan bestå av 1,5 miljoner baspar och upp till cirka 1 400 proteinkodande gener. Men jättevirusen saknar ribosomer och gener för att frigöra energi via cellandning och kan inte leva självständigt. Jämförelsevis har bakterien *Escherichia coli* betydligt fler baspar, cirka fem miljoner, och cirka 5 000 gener.

Forskare berättar

Genom att studera bakterier och arkéer som lever idag vill forskarna förstå mer av hur det tidiga livet utvecklades. Man

Lokes Slott, ett hydrotermalt djuphavsområde i nordatlanten på flera tusen meters djup. Det var här i närheten som Lokiarkéerna (se nästa uppslag) upptäcktes.

Foto: R.B. Pedersen, Senter for geobiologi, Universitetet i Bergen, Norge

samlar in prover från miljöer som har likheter med de förhållanden som fanns under jordens tidiga historia. Det kan exempelvis gälla miljöer som heta källor på land och i havsdjupen, sedimenten i de djupa delarna av havsbotten och ständigt frusna miljöer. Flertalet bakterier och arkéer kan inte odlas på labb, men numera finns andra metoder för att ta reda på vilka mikroorganismer som finns i en miljö. Det räcker med att forskare tar ett prov på exempelvis jord, vatten eller slam från den miljö man är intresserad av och sedan sekvenserar det totala DNA-innehållet i provet. DNA-sekvenserna används för att söka efter liknande sekvenser i de stora databaserna och dra slutsatser om släktskap.

Den här delen handlar om hur de tre huvudgrenarna i livets träd: bakterier, arkéer och eukaryoter har utvecklats. I den första artikeln vidgas perspektivet till astrobiologi och frågan ställs om livet på jorden är unikt.

Den andra artikeln handlar om eukaryoternas utveckling och övergången från encellighet till flercellighet.

Undervisa om livets tidiga utveckling

Evolutionära aspekter är centrala för förståelsen av de flesta områden inom biologin och bildar också grunden för skolans biologiundervisning. I styrdokumentet för biologi finns formuleringar som på olika sätt anknyter till evolutionen av de levande organismerna. Den här delen belyser centrala frågor i biologiundervisningen kring livets tidiga utveckling och berör bland annat:

- miljöfaktors betydelse för livet uppkomst och utveckling
- teorier om livets uppkomst och tidiga utveckling mot flercellighet
- uppkomsten av och egenskaper hos mikroorganismer (bakterier, arkéer och enkla eukaryoter)
- släkträd och indelning av organismvärlden i huvudgrupper
- experimentellt arbete med systematiska undersökningar, bland annat mikroskopstudier, sterilteknik och odling av encelliga organismer

Livet på jorden lär oss om livet på andra planeter

Den tidiga jorden var en väldigt annorlunda plats mot planeten vi bebor. Genom att studera hur levande varelser på jorden uppstod och utvecklades kan vi lära oss mer om villkoren för liv inte bara på vår planet utan överallt i universum.



Texten är skriven av:

Erik Pelve

Universitetsadjunkt vid Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi vid Sveriges lantbruksuniversitet, SLU

Som doktorand vid Uppsala universitet studerade han cellbiologi hos arkéer av släktet *Sulfolobus* från heta källor. Sedan dess har han bland annat varit verksam i USA och utforskade mikrobiell "mörk materia" i djuphavet. Han har också studerat arkéer och bakterier från sediment. På SLU förbereder han studier av relationen mellan djur och deras mikrobiom av associerade mikroorganismer.

Astrobiologi är läran om livet utanför jorden. På sätt och vis ett lugnt forskningsområde eftersom vi fortfarande inte har hittat något. Men i brist på direkt tillgång till studieobjektet söker forskare efter modeller som kan efterlikna det, och vi har ett lysande exempel på en exceptionellt märklig planet precis där vi befinner oss.

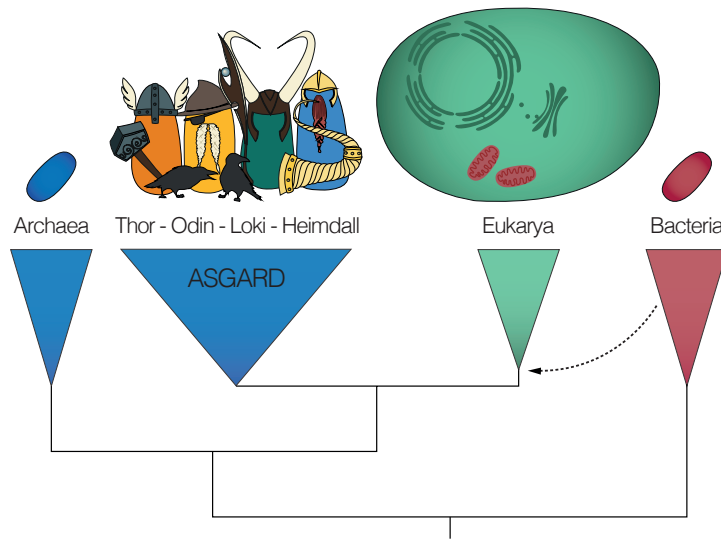
Låt oss i ett tankeexperiment starta om utvecklingen på jorden, från att den bildades och under dess 4,6 miljarder år av geologisk och biologisk utveckling. Låt oss köra simuleringar av vår planets utveckling gång på gång och se vad som händer. Hur ofta uppstår liv överhuvudtaget, och hur ofta bildas de mer komplexa, eukaryota cellerna som vi själva består av? Vi vill också veta i vilken grad de evolutionära stegen går att förutsäga. I vilken mån kan ett steg förklaras enbart av en ny evolutionär uppfinning, och i vilken mån banas vägen för dem av utomstående faktorer? Framförallt ska vi titta på den faktor som gör jorden till en på många sätt unik planet – syret.

Livets uppkomst

Hur länge har det funnits liv på jorden? Låt oss börja med en enklare fråga. Hur länge kan det ha funnits liv på jorden? En rimlig gräns för hur länge det kan ha funnits liv är omkring 3,9 miljarder år. Det är nämligen tidpunkten för *Det Sena Tunga Bombardemanget* (*Late Heavy Bombardment*), vilket

förutom att vara ett bra namn på ett rockband även var ett enormt meteorregn som anses ha gjort jorden obeboelig. 3,9 miljarder år är också den ungefärliga åldern på de äldsta bevarade bergarterna i världen. I dessa stenar har man hittat möjliga spår efter biologiska processer, till exempel *banded iron formations* som indikerar förekomsten av biologiskt producerad syrgas som kunde oxidera järn. Bland stenar i åldersspannet 3,4–3,9 miljarder år finns det också kandidater till mikrofossil, rester av blåsor och blobbar som kan tolkas som urtida celler. Det finns dock många problem med att försöka läsa de tidigaste spåren av liv i stenar som påverkats av geologiska processer under fyra miljarder år. Det är även långtifrån klart vad som är spår efter liv och vad som är spår efter abiotiska kemiska processer. I stenar yngre än 3,4 miljarder år börjar dock spåren efter liv bli så tydliga att det finns en hög grad av vetenskaplig samsyn att de faktiskt representerar biologiskt liv.

Vi kan alltså konstatera att förhållandet snart – som mest en halv miljard år – efter att livet *kunde* finnas, och att vi har möjlighet att *upptäcka* livet – så fanns det faktiskt levande varelser på jorden. Det ger oss skäl att tro att i våra tänkta simuleringar borde liv uppstå tidigt i planetens historia – och kanske också att det kan uppstå lika snabbt på andra planeter där förhållandena är gynnsamma.



Figur 1. Figuren visar domänerna Bacteria, Eukarya och Archaea med gruppen Asgårdarkéer; som tros vara de närmast levande släktingarna till dagens eukaryoter. Asagudarna Loke, Tor, Oden och Heimdall har fått ge namn åt grupper inom Asgårdarkéerna. Att man valt namn som refererar till asagudarna beror på att man funnit dessa arkéer i närheten av det hydrotermala djuphavsområdet Lokes Slott (se bild på sidan 44) i nordatlanten, mellan Svalbard och Island. Man har dock senare hittat dem i syrefria sediment i många andra miljöer. Illustration Eva Fernandez-Caceres

Hur snart efter det första livet bildades arkéer och bakterier – och vilka kom först? Det har vi väldigt svårt att veta. Namnet ”arké” syftar på den geologiska tidsåldern arkeikum som innefattar tiden för livets ursprung för omkring 4–2,5 miljarder år sedan. Namnet fick de eftersom de mest välstuderade arkéerna lever i miljöer som stämmer överens med de förhållanden man tror rådde vid livets ursprung – syrefritt, höga temperaturer, stora mängder frigjorda oorganiska näringsämnen – men det är också en vanlig miljö för bakterier, och det finns både bakterier och arkéer som är anpassade till ett liv utan syre. Till skillnad från djur, där det kan finnas välbevarade skelett, är det ofta svårt att koppla fossil av mikroorganismer till en speciell grupp, så det mesta vi kan säga om forntida mikroorganismers egenskaper måste extrapoleras från de organismer som lever nu. Därför är det svårt att säga om de tidigaste fossilen tillhörde bakterier, arkéer eller numera utdöda grupper.

Det senaste decenniet har inneburit en revolution för vår förmåga att studera mikroorganismer. De allra flesta bakterier och arkéer kan inte odlas i laboratorium, och fram tills nyligen visste vi väldigt lite om dem. Utvecklingen av DNA-sekvenseringsteknik har nu inneburit att vi kan studera organismerna direkt där de lever, utan att behöva gå steget via labbet. Tyvärr bevaras inte DNA lika länge som fossil, men genom

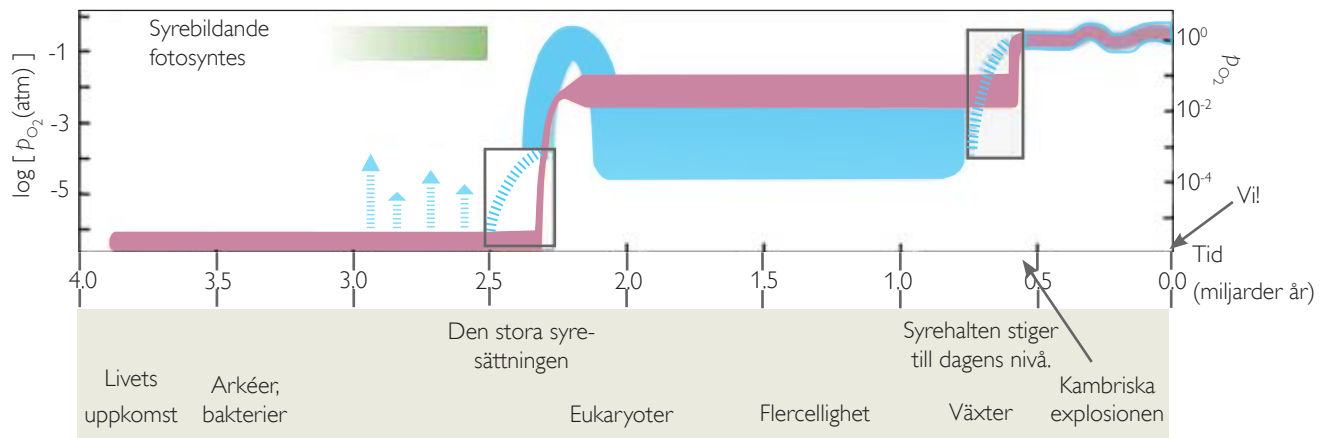
att använda tekniken för att studera nu levande arter vidgar vi vår förståelse för olika gruppers livsbetingelser och släktskap. Thijs Ettema, forskare vid Uppsala universitet, använder **metagenomiska tekniker** för att studera en grupp arkéer som lever i havsbotten, Asgårdarkéerna. De är de närmaste kända släktingarna till huvudpersonerna i nästa viktiga akt i livets drama, eukaryoterna.

Eukaryoternas uppkomst

I mer än en miljard år hade levande varelser, bakterier och arkéer, levt sina liv, tagit in metaboliter, utsöndrat avfallsprodukter och förökade sig i en ändlös kedja av celledelningar, när något nytt uppstod. Celler som hör till grupperna arkéer och bakterier ser likartade ut i mikroskop, och påminner också om de tidigaste mikrofossil vi känner till, men eukaryoter är annorlunda, med större celler och distinkta interna strukturer. Det gör att vi kan datera eukaryoternas uppkomst med större säkerhet än de två andra domänerna. De dyker upp i fossillagren för i storleksordningen två miljarder år sedan (med upp till en halv miljard års osäkerhet, för det är fortfarande hisnande evolutionära avstånd vi försöker förstå). Varför tog det så lång tid innan eukaryoterna, som vi känner dem idag, bildades?

Evolutionshistorien gestaltas ofta som ett träd där stammar, grenar och kvistar förgrenar sig i ständigt nya avknoppningar. Eukaryoterna däremot är en fusion. En arké

Metagenomiska tekniker – Prover tas från olika miljöer, som havsbotten, sjöar eller fast mark. Provernas totala innehåll av DNA, som härstammar från en mängd olika organismer; sekvenseras. De funna sekvenserna jämförs med sekvenser i en databas och därmed kan man identifiera vilka olika organismer som finns i en viss miljö. Det innebär att man inte behöver odla upp organismerna på labb, det räcker med att man analyserar DNA.



Figur 2. Den översiktliga tidslinjen visar jordens historia. Syrehalten i jordens atmosfär ökar markant i två steg. Det första, för mellan cirka 2,3 och 2,4 miljarder år sedan, brukar kallas *Great Oxidation Event* (Den stora syresättningen). Ytterligare en ökning av syrehalten till nuvarande nivå skedde för cirka 600 miljoner år sedan. Den modell för ökning av syrehalten som man hittills har antagit visas av den rosa kurvan. Den blå kurvan visar en modell som är under utveckling.

p_{O_2} anger partialtrycket för syrgas i atmosfären. Högra axeln anger syrgasens partialtryck i förhållande till nuvarande syrenivå i atmosfären. Vänstra axeln visar $\log p_{O_2}$. Blå pilar visar att det eventuellt har funnits syrgas i atmosfären innan den stora ökningen. De två rutorna markerar tidsperioder där det råder osäkerhet beträffande atmosfärens syrehalt.

Den nedre delen av figuren ger en ungefärlig uppfattning om livets utveckling i förhållande till tidsskalan.

Källa för övre delen av figuren: Lyons et al. 2014. Publiceras med tillstånd från Nature. Se Bildreferenser, sidan 79.

ASTROBIOLOGI I SVERIGE

Bland de som försöker förstå det tidiga livet och dess förutsättningar finns Thijs Ettemas forskargrupp vid Uppsala universitet som studerar den "mörka biologiska materien" – alla de mikroorganismer som vi tills nyligen inte hade metoder att studera – och de utvecklingslinjer som kom att bilda eukaryoterna. Bland de som försöker förstå förutsättningarna för liv utanför jorden finns Carina Perssons forskargrupp vid Chalmers tekniska högskola som undersöker exoplaneter, och Wolf Gepperts forskargrupp på Stockholms universitets astrobiolog centrum, som studerar hur biomolekyler formas.

tog upp en bakterie av gruppen alfaproteobakterier, anmoder till dagens mitokondrier. Många frågetecken återstår om hur det gick till – inte minst hur många andra "eukaryot-liknande" egenskaper arkén som tog upp den blivande mitokondriem redan hade. Var eukaryoternas uppkomst en så sällsynt evolutionär kombination av precis rätt betingelser att det tog mer än en miljard år från arkéernas och bakteriernas uppkomst tills två av dem lyckades fusera och bilda något nytt? Alternativt, var de första stegen av deras symbios i sig inte något ovanligt, men det var först för två miljarder år sedan som syrenivån var tillräckligt hög för att möjliggöra de nya eukaryoternas livstil med syreslukande mitokondrier som försörjer de mer energi-krävande, större cellerna?

Om tidpunkten för eukaryoternas uppkomst förutsatte ökande syrenivåer kan vi formulera en modell för vad som krävs av en planet för att utveckla komplexa celler. Syrgas är en reaktiv molekyl som inte fanns i jordens atmosfär då den bildades. Den finns inte heller i motsvaran-

de halter, jämfört med jordens nuvarande atmosfär, i atmosfären till någon annan planet vi känner till. Anledningen till att jordens atmosfär har så hög syrehalt är att levande organismer – först cyanobakterier, senare alger och växter – producerar syrgas som en biprodukt av fotosyntesen.

När de första syrgasproducerande organismerna uppstod konsumerades syrgasen direkt eftersom den reagerade med järn och andra reaktiva ämnen i jordskorpan. Det var inte förrän dessa reaktioner mätts som syrgasnivån i atmosfären kunde öka. Det var alltså planetens geologiska förutsättningar i samspel med de evolutionära uppfinningarna som satte tidtabellen för eukaryoternas uppkomst. Även nästa språng – då encelliga eukaryoter utvecklades till flercelliga växter, djur och svampar – kan kopplas till stigande syrenivåer. I våra upprepade simuleringar av jordens utveckling kan vi förvänta oss att komplexa eukaryoter som är beroende av mitokondrien för sin energi inte uppkommer förrän fotosyntetiska arkéer och bakterier har banat vägen. Hur länge det dröjer

innan eukaryoter bildas beror på när fotosyntesen först uppkommer. För andra planeter kan det gå fortare eller långsammare, beroende på geologiska faktorer vi har svårt att förutse. Däremot är hög syrenivå en möjlig indikator – inte bara för förekomsten av liv – utan också för komplexa celler.

Att använda atmosfären som prediktiv signal för liv är grundtesen i James Lovelocks Gaia-teori, där han postulerar att livet på en planet kommer att skapa och upprätthålla en balans av gaser i atmosfären som skiljer sig markant från den kemiska jämvikten. Skillnaden går att upptäcka på astronomiska avstånd och vi kan därför upptäcka liv i andra solsystem med våra teleskop.

Liv på andra planeter?

Antalet upptäckta **exoplaneter** ökar hela tiden, och det är bara en tidsfråga innan vi hittar en planet som har exakt rätt förutsättningar för liv – inte för varmt, inte för kallt, inte för mycket meteoriter, tillräckligt med vatten och rätt ämnessammansättning i jord-

skorpan. Vi skulle då kunna förvänta oss att hitta spår av liv. Troligen kommer vi att upptäcka en atmosfär i obalans, och om syrehalten är hög nog kan vi till och med förvänta oss komplext liv, analogt till våra eukaryoter och multicellulära organismer. Kanske kommer vi till och med att upptäcka radiosignaler, den heliga gralen för de som söker efter intelligent liv bortom jorden.

Vi har redan identifierat tusentals exoplaneter, och siffran stiger snabbt. Det är långt ifrån otroligt att det första livet kommer att hittas på en planet vi redan känner till med ett anspråkslöst namn som Gliese 581d eller HD75289b, som bara väntar på en grundlig analys av radiospektra och atmosfärens sammansättning. När det hänt kommer en av vetenskapshistoriens största upptäckter samtidigt att vara en av dess största källor till frustration – för när den första triumfen har klingat av, när vi har dechiffrerat radiosignaler och analyserat spektra, så kommer det att ta fruktansvärt lång tid att ta reda på exakt hur det upptäckta livet gestaltar sig.

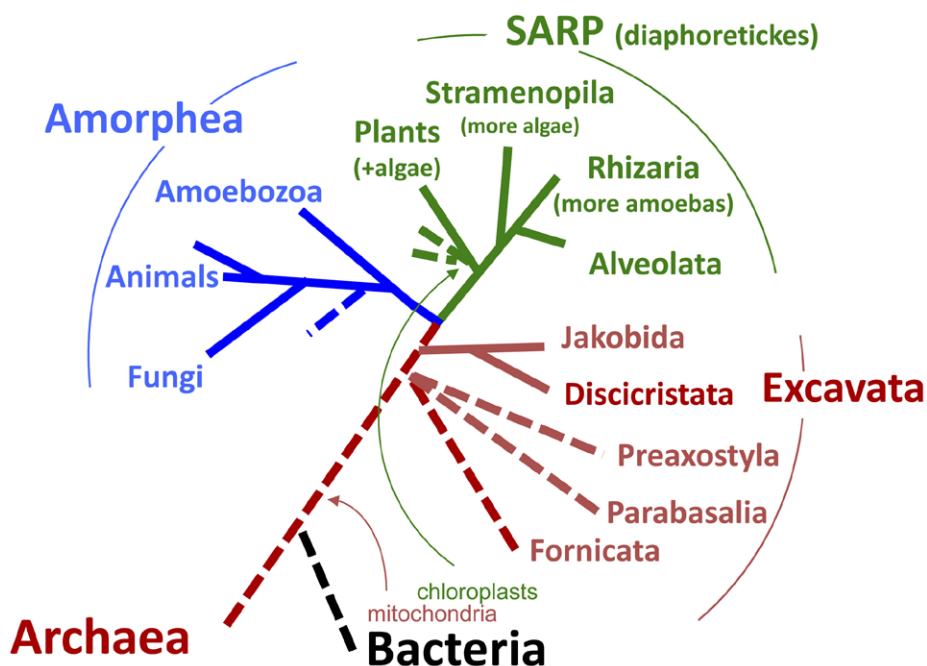
Exoplanet – planet som inte är en del av vårt solsystem

DISKUTERA

- Om man fick chansen att köra om evolutionshistorien på jorden, hur likt eller olik skulle resultatet bli?
- Finns det liv på andra planeter? Varför? Varför inte?
- Hur skulle man kunna hitta en annan planet med liv på? Vad ska man leta efter?
- Behöver intelligent liv på andra planeter syre?
- Kan vi förvänta oss gemensamma drag mellan oss själva och liv som utvecklats på andra planeter?

LIVETSTRÄD

Figur 3. De tre domänerna Bacteria (bakterier), Archaea (arkéer) och Eukarya (eukaryoter). Eukaryoterna är i sin tur indelade i tre huvudgrupper: Amorphea, SARP och Excavata.



- I gruppen SARP finns bland annat växterna.
- Excavata består av encelliga eukaryoter som tidigare ingick i gruppen protozoer; många av dessa är parasiter.
- Till gruppen Amorphea hör bland annat djur och svampar.

Nästa artikel, på sidorna 50–52, handlar om utvecklingen av eukaryoter från encelliga till flercelliga organismer. Två arter av amöbor studeras som kan växla mellan ett encelligt och ett flercelligt stadium. Den ena av modellorganismerna, *Dictyostelium*, ingår i Amorphea (Amoebozoa), och den andra, *Acrasis*, hör till Excavata.

Illustration: Sandra Baldauf

Eukaryoterna gör entré

– flercellighet på flera sätt

Mikrober har mycket att lära oss om hur en cell fungerar och om den otroliga variationen av grundläggande funktioner. Organismer som växlar mellan att leva självständigt och i ett flercelligt socialt stadium lär oss om hur flercelligt liv kan ha uppstått.



Texten är skriven av:

Sandra Baldauf

Professor i systematisk biologi vid Institutionen för organismbiologi vid Uppsala universitet. Författaren tackar Jennifer Ast, för hjälp med översättningen.

Allt liv på jorden har samma ursprung, vilket innebär att alla organismer är släkt med varandra och har en plats i livets släktträd. Sandra Baldaufs forskargrupp försöker ta reda på hur dessa släktskap ser ut. De odlar ovanliga organismer, som aldrig studerats tidigare, och utför datoranalyser av stora komplexa dataset med DNA-information, i syfte att upptäcka var i livets träd organismerna passar in.

De flesta levande organismer, under större delen av livets historia, utgörs av mikroorganismer (mikrober). Liv uppkom redan en miljard år efter jordens tillkomst. Det började som enstaka celler (mikrober) och under de första tre miljarderna av livets historia (som är ungefär fyra miljarder år totalt) fanns endast mikrober. Bland de största mysterierna är hur dessa celler först uppstod och hur de sedan så snabbt blev så komplexa att de knappast går att skilja från nutida celler. Antagligen skedde ett stort antal mindre utvecklingssteg, okända för oss idag, men resultatet blev en stor mångfald av mikrober som dominerar livet på jorden både när det gäller antal celler (biomassa) och olika celltyper (biodiversitet). Mikrober är inte bara alla prokaryoter (bakterier och arkéer) utan även många eukaryoter – de flesta alger, merparten organismer som äter dessa alger och en enorm mångfald av parasiter som äter allt möjligt inklusive varandra.

Mikrober formar vår värld. I marken, på alla ytor ovanför marken och i alla akvatiska miljöer, har mikrober många viktiga funktioner – de bildar luften vi andas, vattnet vi dricker och maten vi äter. Det mesta livet (biomassan och mångfalden), under större delen av livets utveckling (tre fjärdedelar av den tid som det funnits liv på jorden) har bestått av och utgörs fortfarande av mikrober.

Eukaryoterna uppkommer

Ungefär halvvägs i livets utveckling på

jorden, för ungefär två miljarder år sedan, utvecklades eukaryoter från prokaryoter. Dessa nya mikrober var mycket större (cirka 50 gånger) och mer komplexa än någon prokaryot. Detta krävde ett omfattande inre stödsystem (cytoskelettet), vilket ger cellerna deras varierande form och organiserar cellinnehållet (cytoplasman).

Eukaryoter kan också röra sig betydligt snabbare än prokaryoter. Antingen driver en eller två stora kraftfulla flageller en propellerliknande rörelse eller också kryper de med vätskefyllda fotliknande utskott (pseudopodier). Detta gjorde det möjligt för eukaryoter att leva som de första äkta rovdjuret, det är också så de flesta fortfarande lever (med undantag av parasiter och alger) det vill säga de äter bakterier och/eller varandra.

Förmodligen började eukaryoterna relativt tidigt utnyttja bakterier som "energislavar". Dessa bakterier lever inuti eukaryota celler, alltså en cell inuti en annan cell. En av dessa bakterier utvecklades snart till mitokondrie och en annan (något senare) till kloroplast. Dessa endosymbiotiska organeller frigör energi från organiska näringsämnen respektive solljus, vilket ger en enskild eukaryot cell 10–1 000 gånger mer energi än någon prokaryot.

Snart efter det att mitokondrien uppfunnits började den här kraftfulla nya cellen, en eukaryot, differentieras till ett stort antal arter. Det berodde på att cellerna anpassade sig till olika mikrohabitat, vardera med en egen unik miljö och blandning av

prokaryota vänner, fiender och byten. Bland dessa anpassningar uppstod helt nya cellmorfologier som inte har någon motsvarighet i den prokaryota världen. De innefattar ett avancerat och elegant yttre cellskikt, i form av till exempel fjäll, plattor eller piggar, tillverkade av kisel, kalk (CaCO₃), organiskt material eller blandat nedbrutet material. Syftet med denna "rustning" är förmodligen att skydda cellen från predatorer, parasiter och kanske framför allt virus, vilka förekommer överallt i stor mängd.

Att studera den mikrobiella mångfalden även med det enklaste mikroskop är fascinerande. Några få deciliter vatten från en damm, som får sedimentera under 20–30 minuter, kan innehålla hundratal små simmande och krypande varelser. Mångfalden av eukaryota mikroorganismer är spektakulär.

Emellertid, det är viktigt att nämna att mycket är okänt när det gäller omfattningen av denna mångfald. Det är endast under de senaste 5–10 åren, med hjälp av allt mer sofistikerad nanoteknologi, som vi har börjat studera mikrober i stor skala, från varje tänkbar miljö, såväl som på detaljerad nivå. Vi har endast börjat förstå omfattningen av den mikrobiella mångfalden av eukaryoter (och prokaryoter) och de viktiga funktioner de har.

Vissa blir flercelliga

Även om de flesta eukaryoter är encelliga går det inte att bortse från att en av de mest fascinerade egenskaper eukaryoterna utvecklat är flercellighet. Det förekommer huvudsakligen hos växter, djur, svampar och "heterokonta" alger (de flesta arter av stora alger, tång).

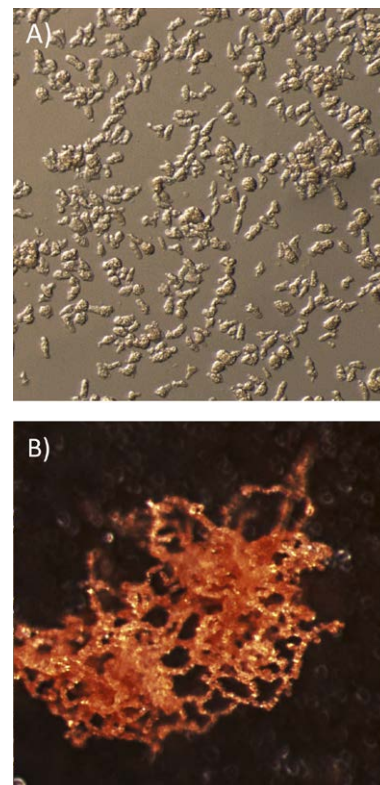
Dessa grupper är mycket olika varandra, och varje grupp uppfann flercellighet på egen hand och på olika sätt. Men det finns några viktiga likheter. Utvecklingen börjar alltid med en enskild cell (ägg, zygot eller spor). Denna cell delar sig många gånger och hos grupper av dotterceller kan olika gener aktiveras eller stängas av i genomet. Instruktionerna från de aktiverade generna medför att olika celltyper, vävnader och organ bildas. Som resultat bildas hud, skelett,

och tänder (djur); blommor, rötter och blad (växter); nätverk av mycel och fruktkroppar (svampar). Denna typ av tillväxtbaserad flercellighet kallas ofta klonal eftersom alla celler i organismen härstammar från en ursprunglig cell. Alla celler är genetiskt identiska och utgör en klon.

Eukaryoter (och åtminstone en prokaryot) har även utvecklat en helt annorlunda form av flercellighet. Denna kallas aggregerad flercellighet (aggregative multicellularity, AGM) och har fascinerat biologer i över 200 år. I AGM växlar organismen mellan ett encelligt stadium och ett mångcelligt stadium.

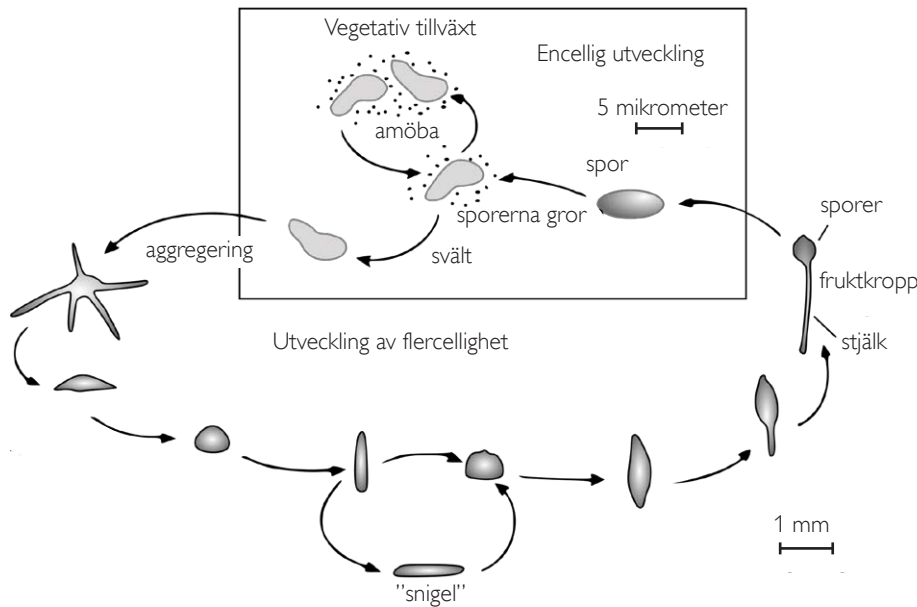
De mest välkända AGM-organismerna är jordlevande amöbor. Det encelliga stadiet, då de försörjer sig själva, är i huvudsak jämförbart med andra icke-AGM-amöbor. Det innebär att de tillbringar mesta tiden med att söka efter föda i eller på marken. Amöborna kryper runt växternas rötter och svamparnas mycel, mellan jordpartiklar och kring nedbrutet material, på jakt efter föda. De letar mest efter bakterier eller andra mikrober som vanligen (men inte alltid) är mindre än de själva och vilka amöborna tar fast med sina pseudopodier och slukar hela. Alltså, cellerna äter, tillväxer och delar sig för att bilda nya amöbor, som sedan i sin tur fortsätter att äta och dela sig. Denna cykel kan i princip fortsätta i all evighet, så länge det finns mat och bra levnadsförhållanden.

Så småningom kommer förhållandena med all sannolikhet att försämrats eftersom miljön i marken inte är konstant. I jämförelse med havet som alltid är vått och salt kan marken torka ut eller mättas med regnvatten, frysa till is eller hettas upp av solen. Födan är också ojämnt fördelad. På en plats kan det vara massor av bakterier (kanske för att du tappat en bit ost från din smörgås), men när allt är uppätet kan det vara långt till ytterligare en bit mat – alltför långt att kravla för en liten amöba. När merparten av bakterierna i närmiljön är uppätta blir livet tufft. Mikroorganismer i marken har utvecklat flera strategier för att överleva ogynnsamma förhållanden, vanligast är att vänta på bättre tider genom att omvandlas till sporer eller cystor (betyder i stort sett sam-



Figur 4–5. *Acrasis kona* lever ibland som små självständiga amöbor (A), men plötsligt kan de förvandlas och börja samarbeta. De organiserar sig då själva till små rosa trädlika strukturer (B, sett ovanifrån). Sandra Baldaufs forskargrupp undersöker vad det beror på att amöborna förändras från den självständiga formen till den sociala, samt hur amöborna signalerar till varandra och bestämmer vem som ska bilda vilken av formerna.

Foto: Chengjie Fu



Figur 6. Livscykeln hos *Dictyostelium discoideum* växlar mellan ett encelligt och ett flercelligt stadium.

ma sak). Cellen bygger en yttre tjock vägg, upphör nästan helt med metabolismen och väntar på att förhållandena ska förbättras. När det blir bättre tider gro sporen och amöban fortsätter leva som tidigare.

AGM-organismer

Att invänta bättre förhållanden är den enklaste strategin, men AGM-organismer har ett annat alternativ. När förhållandena för tillväxt försämrats, övergår dessa amöbor till ett flercelligt socialt stadium. Några av amöborna börjar utsöndra en kemisk signal som visar att de är villiga att aggregera. Andra amöbor i närheten fångar upp signalen och rör sig mot den, samtidigt som de själva börjar utsöndra samma signal. Detta gör att signalen förstärks och sprids i jorden och följderna blir att fler och fler amöbor rör sig mot den punkt varifrån signalen först spreds. Slutresultatet blir att amöborna samlas i en "cellpöl" (ett aggregat). Aggregatet kan innehålla färre än 100 celler, som hos acrasida amöbor (till exempel *Acrasis kona*) eller upp till flera hundratusentals celler hos *Dictyostelium discoideum*.

Nästa steg i AGM-utvecklingen beror på vilken art det är. I acrasida amöbor börjar de aggregerade cellerna omedelbart klättra på varandra och bilda en trädliknande fruktkropp, en sorocarp. Denna har en stam med grenar högst upp, allt uppbyggt av amö-

bor. Så snart som amöborna hittar sin plats i sorocarpen omvandlas de till sporer så att den mogna sorocarpen ser ut som ett litet träd uppbyggt av kulor om man tittar i mikroskop. I dictyostelida amöbor omvandlas aggregatet först till en masklik "snigel", som liknar en enda organism och kan förflytta sig mycket längre än en enskild amöba. Snigeln har en huvudregion som känner av den omgivande miljön och styr snigelns rörelser. Så snart den hittar en lämplig plats stannar snigeln och börjar omvandlas till en sorocarp. Något av det mest anmärkningsvärda är att cirka 20 procent av amöborna är avsedda för den sorocarpa stjälken, där de fylls med cellulosa och sedan dör. Resultatet är en väldigt kraftig stjälk vilket gör det möjligt för dictyostelider att bygga upp förhållandevis stora sorocarper, som ibland är synliga för ögat.

Det finns stora fördelar med AGM-organismernas livsstil, som exempelvis större möjligheter till spridning. Det som sticker upp ovanför markytan ger möjlighet att spridas med vinden eller med vektorer som råkar passera, exempelvis insekter, fåglar eller till och med dina kängor. AGM ger också anledning att ställa intressanta frågor. *Hur kommer det sig att självständiga celler plötsligt övergår till att samarbeta och ingå i ett kollektiv? Hur kan de fatta beslut på gruppnivå och fördela uppgifter mellan sig? Hur känner amöbor igen sina släktingar och hur nära släkt behöver de vara för att kunna samarbeta?* Det senare är speciellt viktigt hos dictyostelida amöbor där 20 procent av cellerna måste dö så att resten ska överleva. *Och kan amöbor luras och avsiktligt undvika att sluta som döda stjälkceller?*

Slemsvampar (jätteamöbor) hör till myxomyceterna och är nära släkt med *Dictyostelium*, men de aggregerar inte. De används i biologiundervisningen bland annat i USA, där man kan köpa enkla experimentsatser för skolan. Slemsvampar finns även naturligt i svenska skogar. De kan bli stora och vissa är färggranna, till exempel trollsmör.

Mångfalden av liv är en enorm resurs för lärande om vi bara tar oss tid att titta närmare. Denna mångfald av organismer är människans arv och vårt ansvar att bevara och en närmast oändlig källa till förundran.



Mångfalden av liv är en enorm resurs för lärande.

Uppgifter till Livets utveckling



ODLA OCH STUDERA SLEMSVAMP

Experimentsatser med *Dictyostelium* eller *Physarum* finns att köpa från företag i USA. Försök visar att *Physarium* kan reagera på stimuli och leta sig fram genom en labyrint. Dessa organismer är inte patogena. (Filmer som visar tillväxt av *Physarum* finns på YouTube.)

Ett exempel på slemsvamp som man kan hitta på hösten i skogen är det starkt guldfärgade trollsmöret.

STUDERA CELLTYPEN I MIKROSKOP

Genom att titta på celler i mikroskop från olika organismgrupper, som exempelvis bakterier, jästsvampar, växter och djur, kan elever få förståelse för hur cellernas egenskaper varierar. Även evolutionära frågeställningar kan diskuteras i detta sammanhang. Mätning av cellstorlek kan inkluderas i uppgiften för att visa på storleksskillnader mellan prokaryota och eukaryota celler.

KOLLA PÅ PLANKTON

Hämta ett planktonprov, helst från en näringsrik sjö eller damm. Här brukar finnas en stor variation av organismgrupper som kan bli utgångspunkt för en diskussion kring evolutionen av organismvärlden.

Skilj mellan cyanobakterier och grönalger. De förra har mycket små celler och ofta en blågrön färg medan grönalger har mycket större celler och en mer gulgrön färg. Leta speciellt efter olika arter av grönalger. Det finns ofta encelliga, kolonibildande och flercelliga arter i samma planktonprov. De flercelliga arterna kan vara trådformade (grenade eller ogrenade) eller skiktade. De olika arterna av grönalger får illustrera utvecklingen mot flercelliga växter.

EUGLENA

Ögonflagellaten *Euglena* är en intressant organism att studera praktiskt och diskutera kring i samband med evolutionsundervisning i skolan. *Euglena* är lätt att odla och har egenskaper som gör att den liknar både växter och djur, men är inte närmare släkt med dessa organismgrupper.

PLASTIDFÄRGÄMNINGEN

I laborationen beskrivs hur plastidfärgämnen från några olika fotoautotrofer separeras med papperskromatografi, isoleras och identifieras. Jämförelser görs för att se släktskap mellan olika grupper som cyanobakterier, alger och gröna växter.

PRAKTISKA FÖRSÖK MED ARKÉER

Försök med *Halobacterium*, en rosafärgad, saltälskande arkée, har utvecklades för skolan och ett omfattande laborationshäfte finns på Bioresurs hemsida. Laborationerna kan genomföras stegvis för att eleverna ska kunna dra egna slutsatser och förklara cellernas egenskaper, men de kan också göras var för sig. *Halobacterium* kan även användas för att visa hur celler påverkas av antibiotika. Detta försök kan med fördel ersätta andra försök med antibiotikaresistens. Det finns stora fördelar med att använda *Halobacterium* vid laborationer i skolan eftersom cellerna kräver hög salthalt för att växa och det är få skadliga mikroorganismer som trivs i en sådan miljö. Odlingarna är dessutom mycket hållbara och klarar sig under lång tid även i rumstemperatur.

METANPRODUKTION

I en bioreaktor finns bakterier av olika slag, samt metanproducerande arkéer. Gör ett modellförsök med en bioreaktor och samla upp metangas.

WINOGRADSKYKOLONN

Tillverka en Winogradskykolonn med ett miniatyr-ekosystem hämtat från exempelvis sjösediment. Här kan ett brett spektrum av bakterier leva under lång tid. I kolonnen ser man färgskiftningar beroende på bakteriernas preferenser beträffande syrehalt. Evolutionära frågeställningar som berör utvecklingen av fotosyntes och betydelsen av anaeroba och aeroba miljöer kan diskuteras i anslutning till försöket.

TIDSBRICKAN

En bricka fylls med föremål som representerar både levande organismer och sådant som inte är levande, exempelvis bakterier, arkéer, olika eukaryoter, järnmalm, granit, lava, vatten, syrgasmolekyl, DNA, RNA och protein. Uppgiften för eleverna är att gruppvis diskutera hur dessa objekt inordnas i jordens utveckling och evolutionen av levande organismer.

EFTER LINNÉ

Häftet *Efter Linné*, i serien Linnélektioner från Bioresurs, handlar om evolutionen av bakterier, arkéer och växter. Här finns artiklar kring dessa organismgrupper såväl som praktiska uppgifter.

Ta reda på!

Se Bioresurs hemsida för fullständiga beskrivningar och länkar: www.bioresurs.uu.se





Vårt ursprung

DNA från fynd av för länge sedan döda människor, som för flera tusen år sedan levde i det som är nuvarande Sverige eller som för ännu mycket längre sedan levde under en tidsperiod när vi – de moderna människorna – utvecklades i Afrika, analyseras nu av forskare. Kunskaperna om vårt ursprung och hur populationer förflyttat sig över kontinenterna ökar snabbt.

Om vi följer vår egen släktlinje tillbaka, så vet vi oftast vilka våra föräldrar och far- och morföräldrar är, men ännu äldre släktingar känner vi kanske inte till så väl. Sedan 1600-talet finns noggranna noteringar om bland annat födelseår, dödsår och bostadsort för befolkningen i Sverige. Om det finns präster och adel i släkten finns ofta ännu äldre uppgifter. Till slut upphör ändå de skriftliga källorna och historien förlorar sig i ett dimmigt förflutet.

Det är fascinerande att i tanken följa den egna släktlinjen tillbaka i tiden och fundera över hur människor levde för många tusen år sedan och varifrån de härstammade. Grupper av människor vandrade över kontinenterna, levde i sammanhang där förhållandena i naturen hade avgörande betydelse för överlevnaden och där risken att drabbas av olyckshändelser och sjukdomar var stor. Ändå föddes barn, som så småningom fick egna barn och så följde generation på generation i en obruten släktlinje som slingrade sig fram genom tusentals år tills just vi föddes.

Forskare berättar

I artikeln beskrivs forskning för att kartlägga folkvandringar i Europa och hur olika grupper koloniserade Skandinavien sedan inlandsisens avsmältning.

Forskare analyserar även flera hundra tusen år gamla DNA-fynd från Afrika och resultaten förändrar tidigare uppfattningar om vårt ursprung. De visar att tidsperioden för när den moderna människan utvecklades får flyttas betydligt längre tillbaka i tiden och att grupper av nu levande människor i södra Afrika härstammar från den släktlinje som var den första att skiljas ut på den moderna människans släktträd.

Bilden till vänster visar en ovanlig grottbegravningen i Spanien av den 6-årige pojken "Matojo" från kopparåldern. Kroppen skyddades av stora stenblock och graven var full av gravgåvor som tyder på att pojken haft en särskild status. Förändringar av skalle och ben indikerar att pojken led av rakit och/eller skörbjugg vid olika tidpunkter i livet.

Foto: Eneko Iriarte

DNA från Matojo analyseras i en vetenskaplig artikel i PNAS skriven av Mattias Jakobsson med flera, som bland annat behandlar mysteriet med baskernas genetiska ursprung (Gunther et al. 2015).

Undervisa om människans evolution

Förståelse för evolutionen – mekanismerna och utvecklingen av organismerna – är grundläggande och centralt inom biologiamnet. Evolutionen ska därför inte ses som en isolerad del av biologiundervisningen. För alla delar av biologin, som cellbiologi, molekylärbiologi, ekologi och etologi, samt växters och djurs anatomi och fysiologi, är en grundläggande förståelse för evolutionen avgörande för att förstå samband, likheter och skillnader. Det som gör det extra intressant är att man nu förstår allt mer av de molekylära mekanismerna bakom evolutionen.

Man kan exempelvis se att många gener i människans genom liknar varandra vilket beror på att gener har dubblerats, en eller flera gånger. Därefter har genkopiorna differentierats och fått olika uppgifter vilket ger möjlighet till evolution. Exempel på två sådana genfamiljer är generna som ger upphov till de olika hemoglobinvarianterna respektive HOX-generna som styr den tidiga utvecklingen av ett embryo. Man finner också gener som skadats och har förlorat den ursprungliga funktionen, så kallade pseudogener. Sådana gener visar släktskap mellan organismer och avslöjar viktiga förändringar under evolutionen.

Inte minst ger molekylärgenetiken nya möjligheter att följa människans utveckling och förstå mer av hur vår art och närstående arter har spridits över jorden. Hur grupper av människor med olika ursprung har smält samman, medan andra grupper har levt isolerade från varandra. Nedan ges exempel på några frågor som aktualiseras i den här delen:

- Vad vet man om människans äldsta ursprung?
- Hur spred sig grupper av människor över världen under olika perioder?
- Hur koloniserades Europa och Skandinavien? Vilket ursprung hade befolkningsgrupperna och till vilka områden kom de?
- Vilka säkerhetsåtgärder krävs vid arbete med gammalt DNA?
- Hur kan man skilja gammalt DNA från föroreningar av DNA från nu levande människor eller andra organismer?

DNA berättar vår historia

När utvecklades den moderna människan, hur har vårt DNA förändrats och hur spreds jordbruket över Europa? Dessa och många andra frågor håller nu på att få sina svar, mycket tack vare DNA-studier som möjliggjorts av de senaste årens enorma teknikutveckling.



Texten bygger på en intervju med

Mattias Jakobsson

Professor i genetik vid Institutionen för organismbiologi vid Uppsala universitet

Mattias Jakobssons forskargrupp studerar människans evolution via bland annat populationsgenetik, humangenomik, beräkningsbiologi och arkeogenetik.

Hur spreds jordbruket i Europa? Var det jordbrukare som rörde på sig och tog med sitt sätt att leva till nya platser eller var det bara själva idén som spred sig och fick jägare och samlare att ändra sitt levnadssätt? Detta har länge debatterats av forskare, som har hävdat den ena eller den andra hypotesen. Genetiska studier av nu levande människor i Europa har inte gett tydligt stöd för någon av sidorna.

Men för några år sedan lyckades en forskargrupp ledd av Mattias Jakobsson få fram och analysera DNA från människor som levde i Sverige för 5000 år sedan: en individ från en jordbrukskultur och tre individer från en jägare-samlarekultur. Resultaten publicerades i den vetenskapliga tidskriften Science 2012.

– Det var tydligt att de var extremt olika genetiskt sett, jordbrukaren jämfört med jägarna-samlarna, och att individen som levde i en bondekultur genetiskt liknade dem som idag lever i medelhavsområdet i Europa. Så detta var den första studien som med analys av genomiska data kunde visa att det är sannolikt att jordbruket spred sig genom att människor flyttade på sig. Sedan dess har det kommit hundratals studier från olika delar av Europa som visar på samma sak, säger Mattias Jakobsson.

Migration ligger inte bara bakom spridningen av jordbruket utan är även ofta orsak till andra former av teknologisk utveckling under människans historia.

– Standardsynen på människans utveckling har varit att varje enskild geografisk plats har gått från stenålder, till bronsålder, till järnålder och så vidare. Och det stämmer. Men utvecklingen beror på att det kommer nya människor med ny kunskap till platsen. Det är inte så att människorna på varje plats uppfinner allt på egen hand.

I övergången från stenåldern till bronsåldern har forskare till exempel upptäckt att det skedde en större migration till Europa från öster, från någonstans norr om Svarta havet.

– När jordbrukarna migrerade till Europa för mellan 6000 och 10000 år sedan var det lika många kvinnor och män som kom men i den här andra migrationsvägen för 4000–4500 år sedan är det främst män som flyttar. De sprider bronsåldersteknik, det vill säga metallhanteringsteknik, men även andra nya teknologier, som användandet av häst och vagn.

Den moderna människan

Men när började då allt, när uppstod den moderna människan? Tidigare uppskattade forskare att det skedde för 180000 år sedan, en siffra som bland annat är baserad på fossila fynd. Mattias Jakobssons grupp har genom DNA-analys kunnat visa att det troligtvis skedde mycket tidigare.

– Vi jämförde DNA från människor som levde i södra Afrika för 2000 år sedan med människor över hela världen idag och såg att den första förgreningen på den moderna människans utvecklingslinje inträffade för cirka 300000 år sedan. Den ena grenen leder till dagens ursprungsbefolkning i södra Afrika och den andra grenen, som delar sig upprepade gånger, leder till resten av jordens befolkning. (Se figur 1)

Sedan denna genetiska studie gjordes har forskare även funnit fossila fynd som pekar på att människans ursprung ligger längre tillbaka i tiden än vad man tidigare trodde.

Mattias Jakobsson och hans kollegor studerar nu vilka genetiska förändringar som skedde för cirka 300000–600000 år sedan på den linje som leder fram till moderna människor.

– Vi har hittat en del förändringar i gener som har med kognitiva funktioner att

göra, vilket var väntat, men det finns även förändringar i gener kopplade till morfologi, till exempel en gen som påverkar fontanellernas morfologi. Kanske har den förändringen gjort det möjligt för oss att föda barn med större hjärnor? Om skallen vid födseln är mjuk och flexibel kan den vara större än en som är hård och stabil.

Forskargruppen arbetar nu med att försöka ta reda på hur olika människogrupper har rört sig i Afrika under de senaste årtusendena men också hur det genetiska landskapet såg ut för 5 000–10 000 år sedan.

– Vi vet ganska lite om detta. Dels har det inte gjorts lika många arkeologiska undersökningar i Afrika som i resten av världen, dels har det där skett flera stora och dramatiska befolkningsflyttningar under de senaste 4 000–5 000 åren som kan ha lett till att vissa grupper har försvunnit helt. Vi vet inte vad vi kommer att hitta och det är väldigt spännande. Det är så pass utforskat att vi inte kan gå in med en tydlig hypotes utan vi måste börja med att få fram data och sedan se vad den kan berätta.

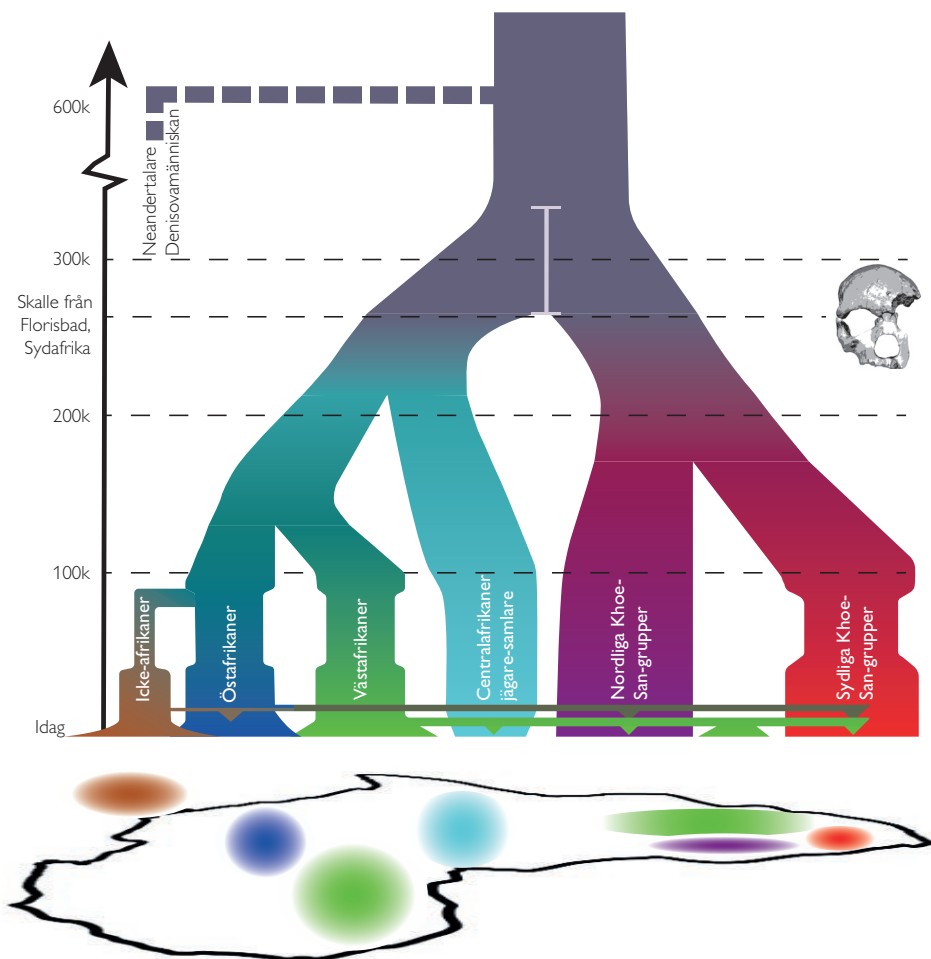
Men om man bara hittar DNA från en enda människa på en viss plats, vad säger det egentligen om alla andra människor som levde där men vars skelett inte finns bevarade?

– Genom att analysera en individs DNA får man inte bara information om individen själv utan om personens föräldrar, mor- och farföräldrar, och så vidare. Har man bara tillräckligt mycket genetisk information från en individ kan man fånga många människor bakåt i tiden, som inte är nära släkt med varandra.

Tusen gamla genom

Ett annat projekt som Mattias Jakobsson driver kallas "1 000 Ancient Genomes" och går ut på att analysera genomen hos tusen människor som levde i Europa och Asien för 1 000–50 000 år sedan, i syfte att upptäcka likheter och skillnader jämfört med dagens människor.

– Vi vill till exempel ta reda på vilka genetiska varianter som var mycket vanliga för länge sedan som är extremt ovanliga idag och vice versa och vad dessa mönster



Figur 1. Figuren visar bland annat den äldsta förgreningen på den moderna människans linje, som ägde rum i Afrika för omkring 300 000 år sedan. Bilden är hämtad från en vetenskaplig artikel där Mattias Jakobsson och hans kollegor beskriver forskningen som ligger bakom denna upptäckt. I diagrammet betyder k tusen och den nedre delen av figuren visar en liggande Afrika-karta. De horisontella linjerna visar migration och de nedåtriktade trianglarna visar blandning med andra grupper.

Källa: Schlebusch et al. 2017

ARVET FRÅN DE ANDRA

För snart tio år sedan presenterades den första kartläggningen av neandertalmänniskans genom. Den genomfördes av ett internationellt forskarlag lett av Svante Pääbo, professor vid Max Planck-institutets avdelning för evolutionär antropologi i Leipzig i Tyskland. En stor överraskning var att moderna människor utanför Afrika har 1,5–2 procent genetiskt material som kommer från neandertalare, vilket visar att neandertalare och moderna människor träffade på varandra och fick barn tillsammans, antagligen flera gånger. Det genetiska material som härstammar från neandertalmänniskan har senare visat sig bidra bland annat till vårt starka immunförsvar.

År 2012 hade Svante Pääbo och hans forskarlag även kartlagt denisovamänniskans genom. Denisovamänniskan är nära släkt med neandertalarna, levde längre österut i Asien och har också bidragit med genetiskt material till moderna människor vid flera tillfällen. Men dessa genetiska spår ses endast hos människor med ursprung i Asien och Ostanien. Till exempel återfinns en viss genvariant från denisovamänniskan, som underlättar för anpassning till att leva på hög höjd, hos människor som idag bor i Tibet.

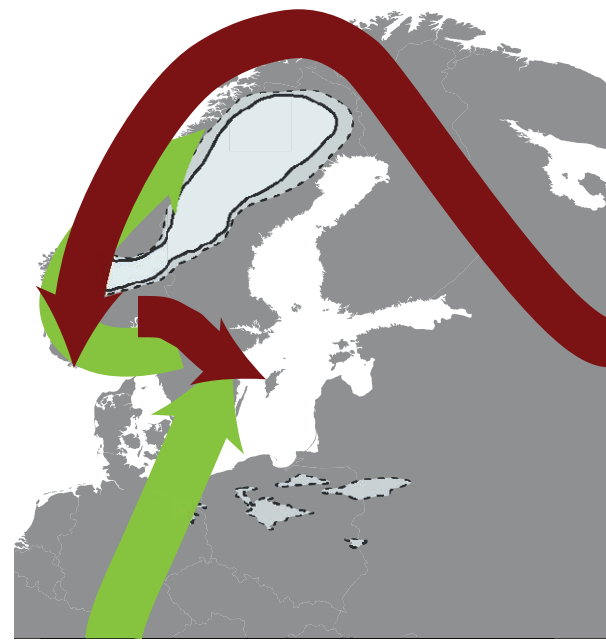
beror på. Kan de förklaras av variation eller är de ett resultat av anpassning?

Några av resultaten hittills kommer från Skandinavien och bygger på analys av människor som levde här för 8 000–9 000 år sedan.

– Vi har funnit spår efter människor som flyttade hit, både söderifrån och österifrån, i samband med att den senaste inlandsisen började smälta undan. Grupperna var båda jägare-samlare och genetiskt lika varandra men inte på alla punkter – utseendemässigt skiljde de sig åt. Individerna i den södra gruppen hade mörk hy och blå ögon medan individerna i den östra gruppen hade ljusare hy och varierande ögonfärg.

Den östra gruppen tog sig fram till atlantkusten och levde på marina resurser, vilket analys av deras skelett visar. När de fortsatte mot södra Norge mötte de den andra gruppen. Dessa blandades och kom tillsammans att utgöra den första befolkningen i Skandinavien.

När jordbrukarna migrerade in i Skandinavien söderifrån för 6 000 år sedan levde de sedan sida vid sida med jägarna-samlarna under ungefär 1 000 år.



Figur 2. Kartan visar hur Skandinavien befolkades av två grupper av människor i samband med inlandsisens avsmältning. En från söder och en från öster. Kartan är hämtad från en vetenskaplig artikel författad av Mattias Jakobsson och hans kollegor.

Källa: Günther et al. 2018

– Sedan vet vi inte riktigt vad som händer med jägarna-samlarna. Vi finner mycket mer genetiskt material från jordbrukarna, än från jägarna-samlarna, när vi studerar de människor som levde i Skandinavien för mindre än 5 000 år sedan. Detta skulle kunna tyda på att jägarna-samlarna konkurrerades ut men det skulle också kunna bero på en utspädningseffekt, att jägarna-samlarna blev en del av jordbruksbefolkningen men att jordbrukarna var många fler och att deras genetiska avtryck därför blev större.

Men vissa genetiska varianter från jägar-samlargrupperna har överlevt ända fram till idag. I 1 000 Ancient Genomes-projektet har man funnit en av dessa som är kopplad till fysisk uthållighet. Den innebär förmodligen en fördel då den återfinns i en högre frekvens än man kan förvänta sig av slumpen i dagens befolkning.

Tekniken avgörande

Den tidiga tekniken för sekvensering av DNA var anpassad för längre DNA-sekvenser men de senaste teknikerna bygger på att det DNA man vill studera först klipps sönder i små bitar som därefter analyseras parallellt.

– När man dör bryts vårt DNA ner i kor-

MILSTOLPARNA

Avgörande händelser som lett fram till att vi idag vet så mycket om människor som levde för tusentals år sedan.

1. **Kartläggningen av det mänskliga genomet**, bestående av cirka tre miljarder baspar. Den första versionen presenterades 2001. Varje gång forskarna idag sekvenserar en bit humant DNA är det möjligt att "mappa" den mot ett referensgenom, det vill säga ta reda på var i människans genom den DNA-bit man har hittat hör hemma.
2. **Utvecklingen av SNP-arrayteknik**, för analys av hur enstaka nukleotider, så kallade SNPs (single nucleotide polymorphisms), varierar i genomen från olika individer av samma art. Från att bara ha kunnat jämföra en viss markör (SNP) i tio individer i början av 2000-talet kan man idag jämföra hundra tusentals, kanske miljontals, markörer i hundratals eller till och med tusen individer, på samma tid och för samma kostnad. Tekniken kan till exempel användas för att avgöra hur genetiskt lika två människor är varandra.
3. **Utvecklingen av sekvenseringstekniker**. Idag kostar det drygt 10 000 kronor att sekvensera en individs hela genom, jämfört med flera miljarder dollar för bara 17 år sedan. Det innebär bland annat att man istället för att endast titta på de positioner i DNA:t som man vet är variabla (vilket görs med SNP-arrayer) kan studera hela genom och upptäcka variation på platser som inte varit kända tidigare.

tare fragment, 50–80 baspar långa. Så den typ av DNA som hittas hos förhistoriska människor har en längd som passar otroligt bra för analys med de modernaste sekvenseringsteknikerna.

Dessa tekniker kräver också endast en mycket liten mängd DNA för att få fram en individs hela genom, vilket är avgörande när lite DNA är allt som finns att tillgå, vilket ofta är fallet vid analys av äldre prover. Tidigare användes PCR-teknik för att amplifiera en enda DNA-sekvens från ett prov, som därefter sekvenserades. I provröret fanns sannolikt DNA från hela genomet från den individ som studerades, men endast den förutbestämda sekvensen, som det skapats många kopior av via PCR, kunde analyseras och resten av innehållet i provröret kasserades. För att analysera en ny DNA-sekvens i individens genom behövdes ett nytt prov.

– Det var ett otroligt slöseri med material. För att till exempel ta reda på hela DNA-sekvensen i ett genom från en neandertalare hade det med dessa tekniker krävts flera ton skelettben, en mängd som inte existerar. Idag kan det räcka med ett prov på några hundra milligram för att få reda på en individs hela genom.

Med de moderna sekvenseringsteknikerna är det möjligt att få reda på samtliga DNA-sekvenser som finns i ett och samma provrör. Men det innebär också att DNA från exempelvis bakterier och svampar kan behöva sorteras bort från det DNA som tillhör den individ man är intresserad av att undersöka.

– Kanske kommer endast en procent av allt DNA i provet från människa. Men med hjälp av bioinformatiska verktyg, då man mappar DNA-sekvenserna mot det humana referensgenomet, kan de resterande 99 procenten från andra organismer sorteras bort.

Men hur vet man att det DNA man fått fram kommer från en förhistorisk människa och inte från en nu levande som varit i kontakt med provet?

– Vårt labb i Uppsala är ett så kallat fjärde generationens ancient DNA-labb, vilket innebär att det är en mycket kontrollerad



och extremt ren miljö. Vi arbetar i helkroppsdräkter med tredubbla handskar och ansiktsskydd. Ett standardlabb med hög säkerhet syftar ofta till att skydda miljön utanför labbet från något farligt, kanske en patogen bakterie, men här är det precis tvärtom, här vill vi skydda det som finns inne i labbet från allt farligt utanför.

Problemet blev en tillgång

Men risken finns ändå att prover är kontaminerade redan när de kommer in till labbet, till exempel av arkeologer som tagit i dem med sina händer.

– Det mesta av kontaminationen sitter dock vanligtvis på ytan och de inre delarna av materialet är renare. Men det går aldrig att komma helt bort från kontaminationsrisken. För tio år sedan var det ett jättestor problem och det finns till exempel vetenskapliga artiklar från den tiden som säger att moderna människor har 30 procent neandertal-DNA i sig, eftersom man tolkade

Figur 3. Helena Malmström tar ett prov från ett skelettmaterial med hjälp av ett portabelt ancient DNA-labb.

Foto: Mattias Jakobsson

MATERIAL?

Mattias Jakobssons grupp studerar DNA-prover både från människor som lever idag och från dem som levde för mycket länge sedan. Från stenåldern och ännu längre tillbaka finns det nästan bara skelettdelar kvar men dessa innehåller ofta DNA. Ju hårdare skelettmaterialet är, desto bättre har DNA:t skyddats från kontaminering och nedbrytning. Den hårdaste delen på människokroppen är ett örönbena, som forskarna gärna tar prov från, men även tänderna är hårda.

URSPRUNG?

Idag marknadsförs många DNA-test som säger sig kunna tala om varifrån du kommer. Men det är egentligen en fråga vars svar beror på vilken tidsperiod man syftar på. För hundra tusen år sedan levde i princip alla våra förfäder i Afrika. Ett resultat av ett DNA-test som exempelvis säger att en person är tio procent "svensk" betyder att tio procent av individens genetiska material uppvisar störst släktskap med det DNA som återfinns hos människor som lever i Sverige idag. Det behöver inte nödvändigtvis betyda att det finns någon koppling till de människor som levde i Sverige för tusen år sedan.

– Det finns någon form av föreställning i många delar av världen att människor har bott på samma plats i urminnes tider. Men kanske handlar det bara om några generationer. Det är absolut inte så att människor har bott på samma plats i 30 generationer. Vad vi har upptäckt under de senaste åren är att människor har rört på sig, vilket verkar vara normen och det avvikande är när man hittar en plats där samma grupp människor levde under lång tid, säger Mattias Jakobsson.

kontaminationer från dagens människor som DNA från neandertalare.

Men sedan dess har det blivit betydligt lättare att skilja förhistoriskt mänskligt DNA från DNA tillhörande nu levande människor. Metoden som används baseras på det faktum att DNA-fragment från döda organismer modifieras kemiskt, mer och mer ju längre tid som går, genom något som kallas deaminering. Det är kvävebasen cytosin (C) som tappas av en aminogrupp men det gäller endast för de cytosin-baser som befinner sig i ändarna på DNA-bitarna. Genom modifieringen omvandlas cytosin till uracil (U, den kvävebas som ingår i RNA istället för tymin) men vid sekvenseringen läser man dessa som tymin (T).

– Så om vi ser att ändarna av ett DNA-fragment har alldeles för många T jämfört med vad man förväntar sig, då är det ett tydligt tecken på att DNA-sekvensen inte

kommer från en nu levande individ. Från början var upptäckten av deamineringen ett bekymmer, innan man förstod att det bara är ändarna av fragmenten som påverkas. Nu är det istället ett fantastiskt verktyg för att visa att ett DNA-fragment är autentiskt gammalt.

Under de senaste tio åren har de tekniska möjligheterna att studera DNA ökat enormt. Men vad kan vi vänta oss framöver, vilka tekniska framsteg återstår?

– Tekniken för DNA-extraktion, det vill säga att rena fram DNA från exempelvis en skelettdel, har fungerat på ungefär samma sätt i många år. Men mycket forskning pågår inom detta område och det finns indikationer på att vi i framtiden kommer att kunna få ut ännu mer DNA ur de här väldigt små och värdefulla proverna som vi ofta arbetar med.



Figur 4. Osteologerna Ove och Evy Persson under utgrävningen vid Ajvide, Eksta socken, Gotland, 1983. Skelettet tillhör en kvinna som var cirka 20 år när hon dog och bedöms vara 4700 år gammalt.

Foto: Göran Burenhult

Uppgifter till Människans evolution



VI OCH VÅRA NÄRA SLÄKTINGAR

- Använd databasen www.ensembl.org, där genomen för ett stort antal arter finns registrerade, och ta reda på antal kromosomer, baspar och kodande gener i genomet för ett urval av arter. Jämför med motsvarande uppgifter för människa.
- Ge exempel på organismer som har särskilt stora genom eller betydligt fler kromosomer än de flesta andra. Hur många gener finns hos människan i jämförelse med några andra arter?
- Använd Ensembl och jämför strukturella förändringar i kromosomerna hos människa och schimpans. Vad beror det på att antalet kromosomer skiljer mellan de båda arterna? Fortsätt att undersöka antalet kromosomer hos de stora aporna. Går det att ange en ungefärlig tidsperiod när skillnaden i antalet kromosomer uppstod?
- Artikeln *Likhet på DNA-nivå* (se Bi-lagan nr 2 2018, novemberuppslaget) handlar om att det är komplicerat att jämföra två arter eller två individer på DNA-nivå. Vad betyder det att två organismer är till en viss procent lika varandra?
- På webbsidan *Interactive Phylogenetic Tree* från *Learn Genetics* visas ett släkträd med 17 organismer. Klicka på två av organismerna och antalet gemensamma gener visas. Till exempel delar schimpans och bakterien *E.coli* 506 gener.
- Jämför kranier av förmänniskor, gorilla och schimpans med nutida människor. Använd antingen fysiska modeller av skallar eller 3D-bilder.

Jämför exempelvis formen av skallarna, ansikternas profiler med käkpartierna, storleken av ansiktena i förhållande till hela skallen, hjärnvolymen, ögonbrynsbågarna och tändernas form.

- 1912 hittades en skalle i södra England av en förhistorisk människa, som kallades Piltdownmannen. Finndet väckte stor uppmärksamhet, men också skepsis. Studera bilder av Piltdownmannen och ta reda på mer om fyndet.
- I artikeln *Människans evolution* (se Bi-lagan nr 1 2014) beskrivs släktskapet mellan nutida människor respektive neandertal- och denisovamänniskor, som också kan studeras i bioinformatikövningen *Lär känna din släkt*. Övningen visar hur ett släkträd med antingen människan och hen-

nes närmaste släktingar eller med många olika arter byggs med hjälp av DNA-sekvenser.

- I artikeln *Människans päls* (se Bi-lagan nr 2 2017, novemberuppslaget) diskuteras kring frågor om varför människans hårbeklädnad är annorlunda jämfört med våra närmaste släktingar och om hur evolutionen har gått till, samt om senare tiders pigmentförändringar hos befolkningen i norra Europa.

UTVECKLING AV LAKTOSINTOLERANS

Hur kommer det sig att en stor andel av befolkningen i bland annat Sverige tål laktos i vuxen ålder medan de flesta i övriga delar av världen är laktosintoleranta? När och var uppstod denna skillnad? Vilka urvalsfördelar medförde denna förmåga och vilket kulturellt samband finns? Är det samma genetiska förändring i olika delar av världen som ger förmåga att tåla laktos?

- *Vi gör smör, keso och kattmjölk* (se Bi-lagan nr 3 2010). Praktiska försök kring bland annat laktosintolerans beskrivs.
- *Humans: Lactose tolerance*, från DNA to Darwin. Statistiska metoder används i den här övningen för att jämföra andelen laktosintoleranta i olika befolkningsgrupper.
- *Lactase Persistence: Evidence for Selection*. En övning från hhmi. BioInteractive kring människans evolution som innebär analys av genotyp, fenotyp, kultur och geografi.

ISMANNEN ÖTZI

1991 fann ett par vandrare en välbevarad kropp högt uppe i Alperna som man först trodde var nutida, men som senare visade sig vara 5 300 år gammal. Man kallade ismannen Ötzi. Kläder och föremål som han bar med sig, samt skelett, vävnader och maginnehåll har bevarats och lär oss om hur Ötzi levde och hans genetiska bakgrund och egenskaper.

- Vad hade han ätit under de sista måltiderna?
- Vilka kläder hade han på sig och vilka föremål bar han med sig? Hur var de tillverkade?
- Hur dog han?
- Vad vet man om hans ärftliga egenskaper, till exempel sjukdomsanlag?
- Var finns hans närmaste nutida släktingar?

Se Bioresurs hemsida för fullständiga beskrivningar och länkar: www.bioresurs.uu.se





Osynliga men farliga

Bakterier och virus är så små att de inte syns utan mikroskop, men kan ändå ställa till med stor skada. Vi glömmer lätt att det inte var så länge sedan infektionssjukdomar skördade många offer och invaggar oss i en falsk tygghet att sjukvården klarar allt.

Tänk om du hade fötts i Sverige i mitten av 1700-talet. Hur hade ditt liv blivit? 1749 började man föra statistik över befolkningsutvecklingen och vi kan därför följa förändringarna sedan dess. Så vi antar att du föddes 1749.

Först gällde det att överleva de första åren. Vid den här tiden fick varje kvinna i genomsnitt mellan fyra och fem barn, men vart femte barn dog före ett års ålder. Det var infektionssjukdomar som var den främsta orsaken till den höga dödligheten hos spädbarn. Vid den här tiden fanns inte heller dagens sociala skyddsnet. När som helst kunde det bli missväxtår och brist på mat, krig som decimerade främst den manliga delen av befolkningen och upprepade sjukdomsepidemier. Smittkoppor, difteri, tyfus, dysenteri, kolera, tuberkulos, malaria – listan över dödliga infektionssjukdomar kan göras lång.

1772–73 spreds en epidemi av tarmsjukdomen dysenteri samtidigt som det var brist på mat vilket innebar att många dog. Epidemierna avlöste sedan varandra: smittkoppor (1779), dysenteri (1783), missväxt, svår hungersnöd och smittkoppor (1784), och missväxt samtidigt med en epidemi av smittkoppor (1800). Vi antar att du levde till 1809 och alltså blev 60 år, en aktningvärd ålder på den tiden. Endast var tredje person som föddes i mitten av 1700-talet blev äldre än 60 år. Men kanske dog du till slut i dysenteriepidemin åren 1808–09.

I början av 1800-talet dog 20 procent av Sveriges befolkning i infektionssjukdomar, men dödligheten i smittsamma sjukdomar minskade efterhand. Det var flera faktorer som inverkad, men bland annat berodde det på att hygien förbättrades och att man började förstå hur infektioner spreds och hur man kunde skydda sig. Men hur är det idag? 1700- och 1800-talen känns väldigt avlägsna och idag bekymrar vi oss inte på samma sätt för infektionssjukdomar. Vi tar det som självklart att det finns antibiotika som botar infektioner, men problematiken kring antibiotikaanvändningen hopar sig.

Bilden till vänster visar uppflog av gräsänder. Flyttande fåglar, bland annat gräsänder, kan föra med sig smittämnen till nya regioner.

Forskare berättar

Om du söker i din egen släkthistoria hittar du med all säkerhet personer som avlidit i infektionssjukdomar. Kanske någon av dem drabbades av spanska sjukan, en form av influensa som spreds över världen och nådde Sverige 1918. Under ett par års tid dog 37 000 personer i landet.

Influensa förekommer i flera former och hotet om en allvarlig pandemi är fortfarande högst aktuellt, som vi kan läsa mer om i en av de följande artiklarna.

Idag kan vi följa spridningen av infektionssjukdomar med gentekniska metoder och studera hur arvsmassan hos virus och bakterier ändras. Det ger förståelse för på vilka sätt spridningen sker och underlättar smittspårning och bekämpning av sjukdomen. I en av artiklarna i denna del får vi följa komplikationerna kring spridningen av en särskild variant av klamydia.

Undervisa om bakterier och virus

Denna del handlar om förståelsen av hur den egna kroppen fungerar i samspel med mikroorganismerna som omger oss. Egenskaper hos bakterier och virus, hur de spreds och sjukdomar som de ger upphov till, samt vilka behandlingsmetoder som kan användas, ingår i skolans styrdokument för biologi. I det här sammanhanget är också komplikationer kring antibiotikaanvändningen viktigt att ta upp.

Frågor som aktualiseras i den här delen:

- Hur kartläggs spridningsvägar för bakterier och virus och varför är det viktigt att veta hur spridningen går till?
- Vilka sjukdomar är anmälningspliktiga? Vilken betydelse har det att rätt metod används för att ta reda på vilket smittämne en patient infekterats av?
- Influensa är exempel på en sjukdom som kan infektera djur av olika slag. Vilken betydelse har det när det gäller spridning av infektioner till människor och husdjur?

Klamydia – en folkkär infektion

– men vad vet vi om sjukdomen och spridningen?

Klamydia är den vanligaste sexuellt överförda bakterieinfektionen, med cirka 130 miljoner infektioner årligen i världen varav 33 000 i Sverige år 2017. Här får vi följa ett detektivarbete för att ta reda på varför det plötsligt blev så få personer som insjuknade i några regioner i Sverige jämfört med tidigare.



Texten är skriven av:

Björn Herrmann

Docent i klinisk mikrobiologi vid Akademiska sjukhuset i Uppsala, har klamydiainfektioner som passion

Exempel på frågeställningar i forskningen är:

Varför är vissa klamydiavarianter vanligare än andra i en stad eller i hela världen? Vilka diagnostiska metoder fungerar? Hur sprids smitta i sexuella nätverk? Hur stor är risken för komplikationer? Hur sprids fåglars egen klamydiaart till människor? Är det farligt att mata fåglar?

Bakterien, *Chlamydia trachomatis*, som är orsak till sjukdomen klamydia är spännande: Den är beroende av eukaryota värdceller och har en unik tvåfasig livscykel som utgörs av **retikulärkroppar** och **elementarkroppar**. Retikulärkroppar är metaboliskt aktiva och förökar sig i värdcellen där de slutligen omvandlas till elementarkroppar. De infekterade cellerna lyserar och elementarkropparna frigörs, varefter de infekterar andra celler och sedan omvandlas till retikulärkroppar. (Figur 1).

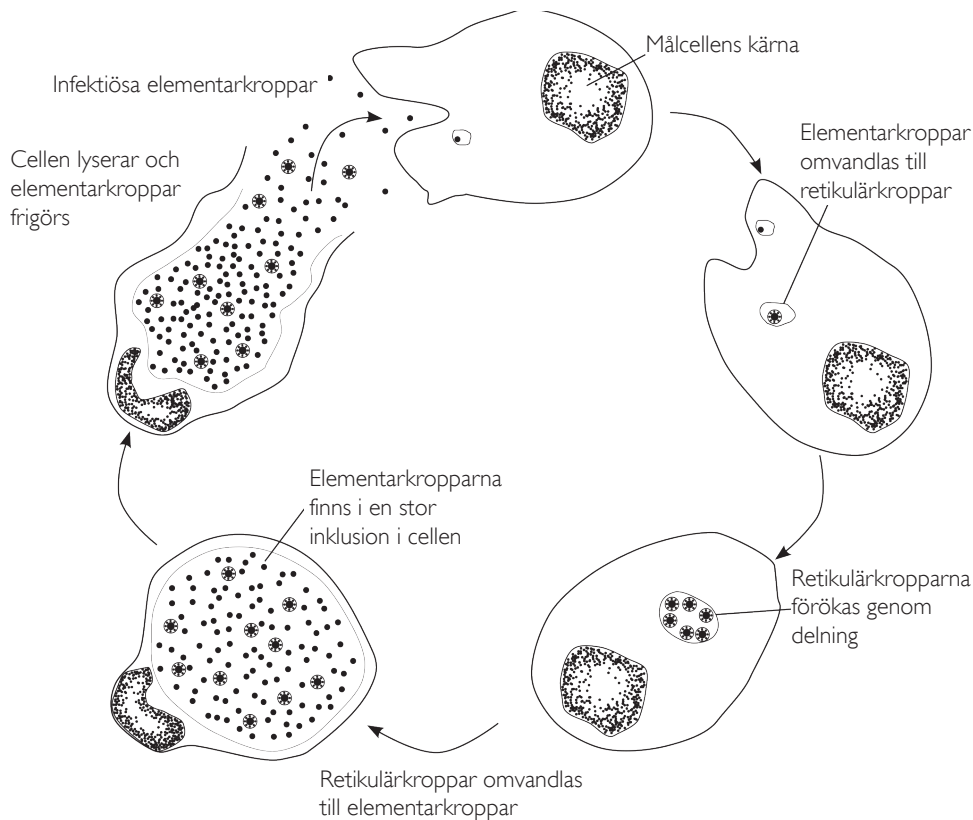
Man trodde länge att det var ett virus tills bakterien kunde odlas fram i kycklingägg. "Klamydia" är också mycket mer än sexuellt överförd *Chlamydia trachomatis*. I släktet *Chlamydia* ingår idag elva arter där *C. trachomatis* och *Chlamydia pneumoniae* (i media kallad "TWAR" och orsak till luftvägsinfektioner) har människa som naturlig värd. *Chlamydia psittaci* har fåglar som naturlig värd och kan ibland infektera människor (en zoonos) och orsaka luftvägsinfektion utan symtom, men även dödlig infektion. Koalabjörnen, katter, marsvin, får, grisar, ja olika djurslag har sina egna typer av klamydiabakterier. Klamydialiknande bakterier har nu påvisats även hos ormar, fästingar, fiskar och amöbor. En intressant bakteriegrupp som vi egentligen vet ganska lite om.

Sexuell snuva eller livshotande sjukdom?

Sjukdomspanoramats för *C. trachomatis* är brett. Mellan 50 procent av infektionerna hos män och 70 procent av infektionerna hos kvinnor är utan symtom, men kan ändå orsaka sjukdom med komplikationer. En huvudanledning till att stora hälsoresurser satsas på denna infektion är risken för komplikationer.

Kvinnor drabbas mest, då i form av äggledarinflammation, utomkvedshavandeskap och infertilitet. Det kan ske även vid "tysta" infektioner utan symtom. Komplikationerna beror inte i första hand på bakteriens egen virulensförmåga (sjukdomsframkallande förmåga) utan uppstår till stor del genom att vårt immunförsvar reagerar så starkt att det uppstår ärrbildning i äggledarna. Både män och kvinnor kan få besvärande genitala infektioner som yttrar sig som sveda när man kissar. Kvinnor kan dessutom få flytningar eller mellanblödningar. Genom att sexualbeteendet ändrats under senare år har det även blivit vanligare med infektioner i ändtarm, svalg och ögon.

Intressant nog kan bakterien även orsaka ögonsjukdomen trakom (därav namnet *C. trachomatis*!) som vid upprepade infektioner orsakar blindhet. De specifika typer av klamydia som orsakar trakom överförs



Figur 1. Livscykeln hos klamydia har två faser och omfattar 48–72 timmar.

De båda faserna utgörs av två slag av celler, elementarkroppar och retikulärkroppar, som har olika egenskaper:

Elementarkroppar – är metaboliskt inaktiva, sprids från infekterade celler, infekterar andra celler och är mindre ömtåliga än retikulärkropparna

Retikulärkropparna – är metaboliskt aktiva, finns inne i värdcellerna, infekterar inte andra celler och är mer känsliga än elementarkropparna

inte sexuellt och finns numera bara i ett fåtal länder hos marginaliserade populationer med bristfällig hygien. Men det är alltså miljontals människor som är drabbade. Trakom finns beskrivet som sjukdom i Egypten för 4000 år sedan.

Det otänkbara hände

Över 600 000 klamydiaprover analyserades 2017 i Sverige. Sådana provmängder kräver effektiva detektionssystem och baseras idag på metoder med amplifiering av nukleinsyra.

År 2006 noterades 25 procents minskning av antalet påvisade klamydiafall i Halland, men inte i närbelägna Göteborg. Hade hallänningarna radikalt ändrat sitt riskbeteende? Knappast! Vid laboratoriet i Halmstad anade man oråd och satte upp en egentillverkad PCR-metod parallellt med den kommersiella rutinmetoden.

Då upptäcktes nvCT, en ny variant av *C. trachomatis*, som hade tappat ett genfragment precis i de sekvensområden som användes för primers i den kommersiella

PCR-metoden. Det innebar att de kommersiella testen resulterade i falskt negativa analyser och en fjärdedel av alla analyserade klamydiainfektioner missades i Halland. Det osannolika och otänkbara hade hänt!

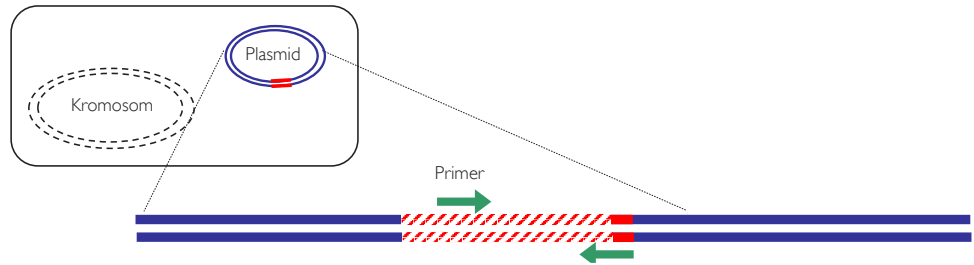
Akut gjordes undersökningar runt om i Sverige och det visade sig att 65 procent av alla klamydiatester analyserades med bristfällig metodik 2006. I Dalarna utgjorde den nya varianten 64 procent av alla klamydiafall och missades med ordinarie testmetod. Även utomlands blev det oro, men det visade sig att nvCT i princip inte fanns i andra länder. Endast i Norge noterades ett betydande antal nvCT-fall, vilket förklarades av att många svenska ungdomar åkte dit för att arbeta. I Malmö var andelen nvCT 24 procent, men på andra sidan bron i Köpenhamn påvisades endast enstaka nvCT-fall. Hur kom det sig? Över 20 000 personer pendlar dagligen över Öresund. Har vi då inget umgänge med varandra? Jovisst. Men i Köpenhamn använde man en detektionsmetod som även påvisade nvCT. Därför kunde den aldrig

Figur 2. Illustrationen visar principen för en PCR-reaktion där en sekvens från en plasmid i klamydiabakterien amplifieras.

PCR-analyser av misstänkta klamydia-infektioner gjordes med metoder från olika företag. Vissa landsting fick ett orimligt lågt antal klamydia-infektioner och ett detektivarbete vidtog för att förstå orsaken.

Den nya varianten av *C. trachomatis* (nvCT) kunde inte påvisas med metoder från två av företagen, men däremot med en metod från ett annat företag.

Att man med två av metoderna inte kunde påvisa nvCT-varianten berodde på att de primers som användes inte kunde binda till den förändrade DNA-sekvensen.



spridas ohämmat som skedde i Sverige under lång tid och delvis även i Norge.

Tillverkare av diagnostikmetoder fick bråttom att ändra sina metoder och det blev "både hängslen och livrem", man skapade metoder med två målgener för att undvika att denna otänkbara händelse ska kunna hända igen. När fungerande detektionssystem åter införts i alla landsting sjönk antalet klamydia-infektioner (figur 3). Idag utgör andelen nvCT cirka fem procent av alla klamydiafall i Sverige, men vi vet inte om den har en överlevnadsnackdel och kommer att försvinna på lång sikt eller om nivån har stabiliserats.

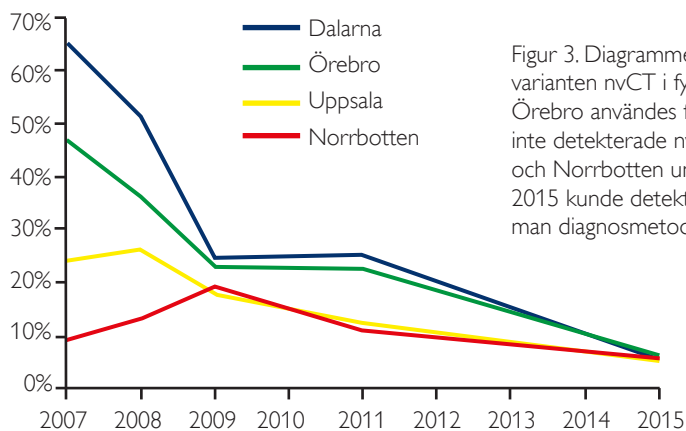
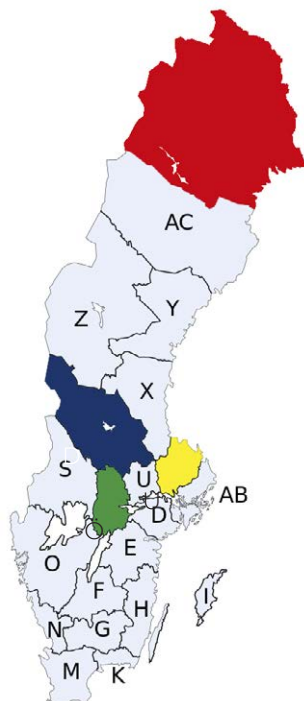
Vem smittar vem?

Med en så folkjär och "demokratiskt" utbredd infektion som klamydia är det svårt att hindra sexuell smittspridning. Många har den utan att veta om det och smittan sprids vidare innan den eventuellt påvisas.

Vilka ska då testas? Ålder är det mest robusta och samtidigt trubbiga selektionskriteriet. Antalet påvisade fall är högst i åldrarna 18–25 år och efter 30 minskar förekomsten påtagligt. (I Sverige testas årligen närmare 30 procent av alla kvinnor i åldersgruppen 15–29 år.)

Provtagningen är generös men vi behöver bättre förstå smittvägar i sexuella nätverk. Att sekvensera hela genom är idag framkantsmetodik och börjar bli etablerat även i rutindiagnostik när man vill göra genotypning, men den är fortfarande bristfällig när man ska typa direkt från kliniska prover, om det finns för lite DNA.

Klamydiabakterier kan inte odlas på agarplattor eftersom de kräver värdceller för att föröka sig och därför är multilocussekvenstypning (MLST) från kliniska prover oftast optimalt. För att öka den epidemiologiska kunskapen har utvecklats en MLST-metod baserat på sex gener vid sektionen Klinisk mikrobiologi, Akademiska sjukhuset i Uppsala. Metoden har applicerats både på olika typer av studiepopulationer och enskilda sexuella smittspåringskedjor. Den har till exempel visat att det är olika *C. trachomatis*-varianter som finns hos heterosexuella personer och män-som-har-sex-med-män och att det är några få varianter som dominerar i världen. Om man använder genotypning vid smittspårning kan man se hur smittan sprids i ett sexuellt nätverk och att det kan finnas flera olika *C. trachomatis*-stammar i omlopp (figur 4–6).



Figur 3. Diagrammet visar antal fall av klamydia-varianten nvCT i fyra landsting. I Dalarna och Örebro användes först en diagnosmetod som inte detekterade nvCT, medan man i Uppsala och Norrbotten under hela perioden 2007–2015 kunde detektera denna variant. 2007 bytte man diagnosmetod i Dalarna och Örebro.

Hur bli av med klamydia?

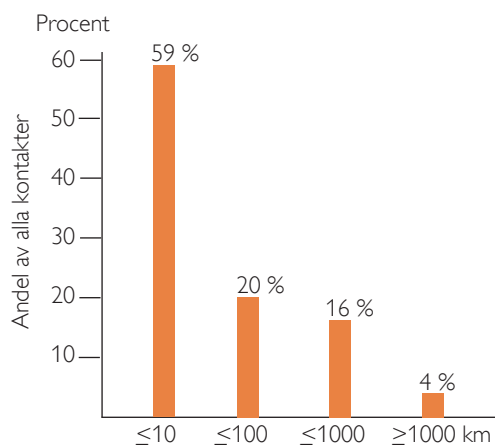
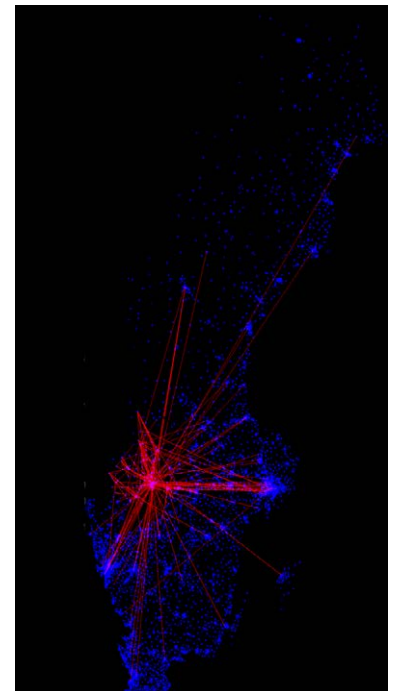
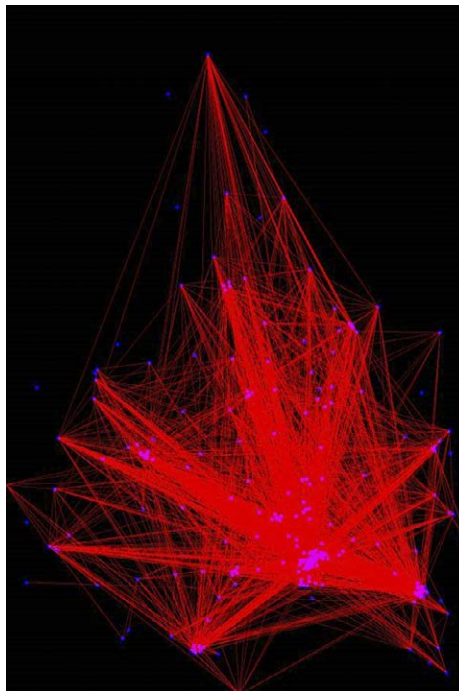
I Sverige ingår klamydia i smittskyddslagen. Testning och behandling är därför gratis och smittspårning obligatorisk. Om man tror att man är infekterad måste man låta testa sig. Det kan man göra genom att uppsöka hälsovården eller beställa hem ett testkit för egen provtagning. Vid hemprovtagning skickas provet till närmaste sjukhuslaboratorium som skickar analys svar via sms.

Varje klamydiainfektion ska behandlas. Antibiotikaresistens är hitintills ett mycket litet problem för klamydiainfektioner, åtminstone i Sverige. Vanligtvis får man tetracyclin åtta dagar och sedan är infektionen borta.

Men för *Mycoplasma genitalium*, en mindre känd men lika vanlig sexuellt överförd bakterieinfektion, finns ett stort problem med antibiotikabehandling. Det antibiotikum som används är oftast azithromycin och här ses resistens i närmare 20 procent av de påvisade fallen i Sverige och i 40 procent i många europeiska länder. Eftersom både klamydia- och mycoplasmainfektioner är utan symptom eller ger likartade symptom är behandlingen problematisk. Därtill finns en snabbt stigande förekomst av *Neisseria gonorrhoeae*-infektioner (gonokocker) med stora resistensproblem.

Hur blir man inte med klamydia?

Ur ett epidemiologiskt samhällsperspektiv finns en ekvation som beskriver vilka faktorer som styr spridningen av en infektion, vilken som helst. Spridningshastigheten bestäms av tre faktorer: bärarskapstiden, sannolikheten för överföring vid kontakt och antalet kontakter. Hälsovården och andra samhällsinstitutioner lägger ner stora resurser på bekämpning av sexuellt överförbara infektioner. Omfattande testning och behandling kortar ner bärarskapstiden. Men de andra två faktorerna bestäms ytterst av individens eget val. Använder jag kondom eller annat skyddande preventivmedel? Flera partners, speciellt parallella relationer driver på smittspridningen. Många studier visar att alkohol här är en faktor som påverkar beteendet och därmed indirekt smittspridningen.



Figur 4–5. Ovan visas kontaktmönster för personer smittade med klamydia. Till vänster syns smittkedjor i Värmland. Till höger visas spridning över Sverige med utgångspunkt i värmländska smittkedjor.

Figur 6. I diagrammet till vänster ser man att andelen sexuella kontakter är högst för personer som bor nära varandra. Avståndet mellan bostadsorterna för två personer i en smittkedja är vanligen mindre än 10 kilometer.

SEX SAKER ATT MINNAS

- 11 arter av klamydiabakterier finns, där två har människa som värd.
- Klamydia är intracellulära bakterier med spännande biologi.
- *C. trachomatis* överförs sexuellt och kan orsaka infertilitet.
- *C. trachomatis* kan orsaka blindhet.
- *C. trachomatis* ingår i smittskyddslagen, vilket innebär gratis test och behandling och obligatorisk smittspårning.
- *C. trachomatis* kan man skydda sig mot genom att använda kondom.

Influensa – ett virus på vingar

Det sägs att ett kärt barn har många namn, men detta gäller även för influensa, en av människans största och viktigaste sjukdomar. För visst känner ni igen namnen svininfluensa, fågelinfluensa, eller till och med darrar till inombords av ord som Spanska sjukan och Asiaten?



Texten är skriven av:

Jonas Waldenström

Professor i mikrobiologi med inriktning mot sjukdomsekologi vid Institutionen för biologi och miljö vid Linnéuniversitetet i Kalmar

Han är intresserad av djurburna infektioner i allmänhet och fågelburna infektioner i synnerhet. Hans forskargrupp spänner över ekologi, mikrobiologi och veterinärmedicin och har ett brett intresse i det som kallas sjukdomsekologi, det vill säga hur sjukdomsbringande mikroorganismer och värdjur påverkar varandra och hur spelet påverkas av miljön.

Bakom namnen Spanska sjukan och Asiaten döljer sig ett virus – influensa A-viruset. Detta kan i dess olika former ge upphov till sjukdom hos både människa och djur, och har än idag återverkningar på vårt samhälle och vår livsmedelsförsörjning. Det är också ett virus med komplicerad epidemiologi där ett helikopterperspektiv är bra för att förstå helheten.

Liten men naggande god

Influensaviruset är en bedrägligt enkel konstruktion, med en liten arvsmassa bestående av enkelsträngat RNA uppdelat i åtta olika segment. Varje segment kodar för en eller två gener, vilket gör att den totala arvsmassan inte är fler än ett dussin gener – att jämföras med våra egna cirka 20 000 gener. Man brukar skilja mellan virusets interna gener, det vill säga de som kodar för strukturella proteiner och polymeras, och de gener som kodar för proteiner som finns på ytan av viruset, hemagglutinin och neuraminidas. Dessa ytproteiner förkortas H respektive N och används för klassificering av viruset i subtyper (undergrupper). Exempelvis är säsongsinfluensaviruset H2N3 ett virus med hemagglutinin typ 2 och neuraminidas typ 3, medan Spanska sjukan orsakades av ett virus med kombinationen H1N1.

Fåglar alla virus moder

Influensa återfinns hos en rad olika djur, alltifrån säsongsinfluensa hos oss människor, till influensa hos hundar, hästar, grisar, sälar, fladdermöss och valar – men

den allra största och viktigaste gruppen är fåglar. Hos fåglar har hela 16 varianter av H och nio varianter av N hittats, och långt över 100 olika subtyper av virus. Jämförelsevis finns endast enstaka subtyper av virus hos olika däggdjur. Bland fåglar är det vattenlevande arter som är viktigast och i synnerhet ändrar, inklusive den hos oss så vanliga gräsanden. Från vilda fåglar kan virus spridas till andra arter och om smittan sedan kan smitta vidare så kan virusen utvecklas till mer artspecifika varianter.

Små ändringar, stora förändringar

Varför infekterar inte alla influensavirus alla värdar? Varför är vissa virus förenade med svår sjukdom och andra med mild? Svaret är att vi inte fullt ut vet allt ännu, men att vi lär oss mer och mer.

Det första steget vid infektion är bindning mellan hemagglutininet på virusets yta och receptorer på cellen, en bindning som sedan initierar att viruset kan tas upp i cellen via endocytos. Generellt sett kan man säga att influensavirus hos fåglar och däggdjur skiljer sig åt i bindningspreferens, vilket gör att fågelvirus har svårt att infektera människa och tvärtom.

Dessutom är fågelvirus i huvudsak en mag-tarmsmitta, medan influensa hos däggdjur i huvudsak är en luftvägsinfektion, vilket gör att olika egenskaper selekteras i olika virus – exempelvis överlevnad i vatten hos fågelvirus, eller förmåga att hållas luftburet hos säsongsinfluensa. Även andra egenskaper hos viruset är viktiga. Det gäller exem-

pelvis balansen mellan antalet hemagglutinin- och neuraminidasmolekyler på virusets yta. Även pH-värdet i **endosomet** har betydelse för hemagglutininets aktivitet.

Blanda och ge

En orsak till att influensaviruset kan infektera många olika värdorganismer är dess förmåga att utbyta gener mellan olika virus. Tänk er två kortlekar, en blå och en röd, där den blå består av åtta RNA-segment från ett virus och den röda av åtta RNA-segment från ett annat virus. Om dessa två virus infekterar en och samma cell kommer deras gensegment kunna bilda alla tänkbara varianter av röda och blå kort. Denna process tror man är väldigt viktig just vid uppkomsten av nya virus hos människa, där nya egenskaper från fågelvirus blandas med virussegment från däggdjursanpassade virus. Av särskilt intresse är grisar, eftersom de har både fågel- och däggdjursvarianter av syalinsyreceptorer och därigenom kan utgöra ett slags drinkmixer för nya influensavirusvarianter.

Fåglar och fågelinfluensa

De allra flesta influensavirus hos vilda fåglar är relativt ofarliga. De orsakar en banal magtarminfektion hos änder, där infekterade fåglar inte uppvisar några symptom. De flesta individer blir infekterade med många olika subtyper av virus under sin levnad.

Vid vårt studieområde i Ottenby på södra Öland kan under hösten så många som 20–30 procent av gräsänderna vara infekterade av influensavirus i vissa perioder. Dessa milda infektioner kallas lågpatogena influensavirus och orsakar inte några större problem även om de skulle smitta över till tamfjäderfå som höns och kalkoner. Men ibland så smäller det till och något helt annat kan uppstå: nämligen högpatogen fågelinfluensa.

Sådan fågelinfluensa kan uppkomma hos H5- och H7-virus och kännetecknas av en kraftigt ökad virulens (sjukdomsframkallande förmåga) och hög dödlighet. Molekylärt är det tillkomsten av ett antal extra aminosyror i hemagglutininets klyvningsställe som är den primära orsaken. Detta gör att viruset kan aktiveras av fler sorts proteaser och att det därigenom kan ge upphov till en infek-

tion som sprids i hela kroppen och trigga en kraftig immunförsvarsreaktion.

Dödlighet på uppemot 100 procent förekommer hos tamfåglar, exempelvis tamhöns och kalkoner. Om inte insatser sker omgående är det risk att smittan sprids snabbt till andra gårdar med besättningar av tamfågel. Man var länge övertygad om att högpatogena virus uppkom sällsynt endast hos tamfjäderfå beroende på de väldigt höga tätheter av fåglar som finns i sådana besättningar, och att högpatogena virus inte spreds tillbaka till vilda fåglar. Den uppfattningen har ändrats under senare år på grund av fågelinfluensaviruset H5N1 som uppstod i Asien 1999 och som fortfarande orsakar stora bekymmer i stora delar av världen. Detta virus infekterar både vilda och tama fåglar, och sällsynt även människa.

Den första vågen

Den första vågen av H5N1 nådde Europa vintern 2005/2006, och tog alla på sängen när den första smittade andfågeln, en vigg, hittades vid Oskarshamns kärnkraftverk.

Endosom – organell som tar upp partiklar genom endocytos

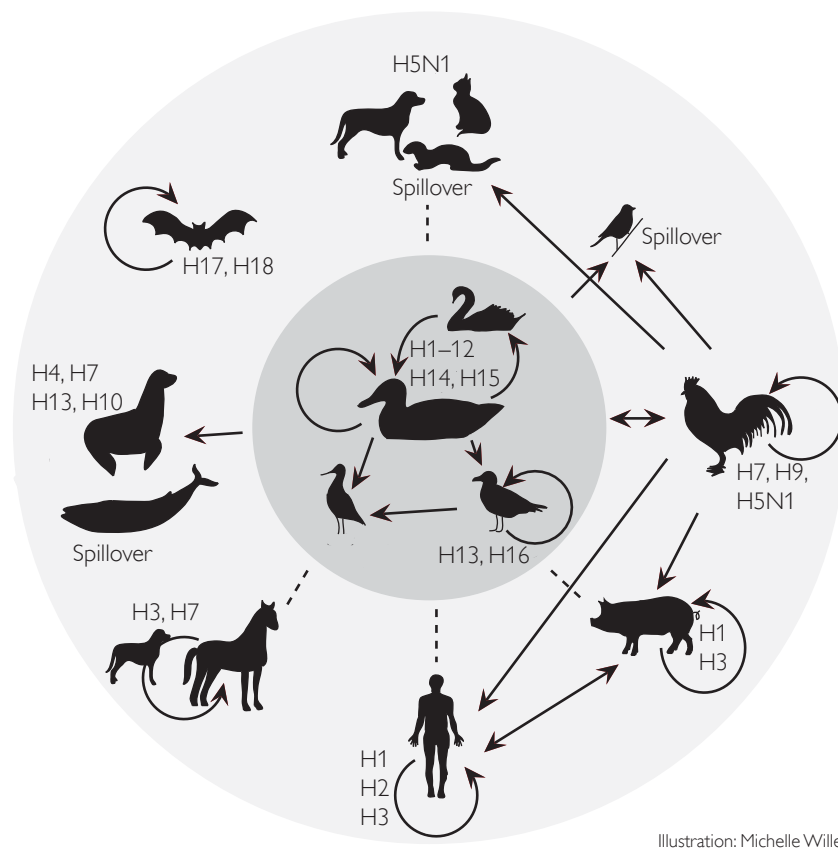
Figur 7. Det finns många olika subtyper av influensavirus, de flesta förekommer bara hos vilda fåglar; i synnerhet gäller det fåglar som lever i och kring vatten (inre mörk cirkel) och särskilt viktiga är änder.

Från den inre cirkeln kan virus ibland spilla över till andra djurslag. I vissa fall leder det till anpassningar som gör att viruset sprids i den nya värdarten. Exempelvis har influensa hos häst, hund och gris sitt ursprung i virus hos fåglar.

Människans influensa är besläktad med influensa hos fåglar; men för att skapa nya virus hos människa tror man att gris är viktig som mellanvärd.

Tamfjäderfå kan infekteras av lågpatogena influensavirus och sällsynt kan de utvecklas till högpatogen fågelinfluensa, exempelvis H5N1, som i sin tur kan drabba andra djurslag och till och med människa.

På senare år har man hittat influensa hos fladdermöss, men det är ännu oklart hur de passar ihop med andra influensavirus.





Figur 8. Gräsanden bär en sändare på ryggen. Den har en GPS-mottagare som bestämmer positionen. Data skickas via GSM-nätet och batteriet laddas med hjälp av en solpanel. Det ger möjlighet att följa gräsanden när den förflyttar sig.

Foto: Erik Kleyheeg

Samhället hade inte riktigt planerat för möjligheten att ett virus farligt för tamfjäderfä och möjligen smittsamt även för människor skulle få en sådan spridning i Sverige och Europa. Tidningsrubrikerna larmade om smittande fåglar, politikerna vaknade och ett förslag om en svensk vaccinfabrik togs upp (för att sedan läggas ner när frågan inte var lika het längre). Man insåg också att de planer som fanns för en pandemi måste ses över: Hur ska vi som samhälle reagera när ett smittsamt virus dyker upp?

Ett återkommande mönster sedan 2005 är att det med jämna mellanrum dyker upp nya högpatogeta virus i Europa. Dessa virus är besläktade med H5N1-viruset, men har bytt till sig gener från andra virus och har även fått en lägre dödlighet hos vilda andfåglar. Förutom interna gener är det i synnerhet neuraminidasgenen som bytts ut och viruskombinationerna har därför haft namn som H5N2, H5N6 och H5N8. Även om de larmande tidningsrubrikerna är färre orsakar dessa virus fortfarande stora problem för fjäderfänäringen, eftersom smittade besättningar måste slaktas men också beroende på förbud mot transporter av kyckling och produkter eller exportförbud till vissa länder. En stor fråga på senare år är därför hur virusen tar sig från Sydostasien till Europa.

Som anden flyger

De två hypoteser för hur virus sprids är (1) transport av virus genom handel eller (2) spridning av virus via flyttande fåglar, då främst andfåglar. I början var detta en gan-

ska laddad fråga, men med tiden har man förstått att båda spridningsmöjligheterna spelar roll, men kanske i olika omfattning. Jordens vanligaste flyttfågel är faktiskt tamhönan, i form av handel med befruktade ägg, värpkycklingar och kycklingprodukter, men spridningsmönster pekar onekligen mot att vilda fåglar har stor betydelse. I djurförsök kan man se att vissa änder kan bära virus utan att bli väldigt sjuka.

Ett problem med hypotesen om flyttande änder är att det inte finns några arter som flyttar direkt mellan Sydostasien och Europa. Viruset måste i så fall ta sig mellan olika populationer av änder i en lång serie av infektioner. Man tror att änder som övervintrar i Sydostasien kan ta med sig viruset under flyttningen till häckningskvarteren i Sibirien. Här kan de möta andra populationer av änder som delar häckningsområde, men som övervintrar i Europa. Smittspridningen kan då ses som ett stafettlopp: först går smittan mellan individer i populationer av änder som övervintrar i Asien, därefter växlas den över till individer av andra populationer via häckningskvarteren och slutligen tar dessa med sig smittan vid flytten till Europa och Afrika.

Änder som sänder

Ett sätt att testa hypotesen är att få bättre kunskap om hur änder flyttar. Ringmärkning av fåglar visar endast var fåglarna ringmärkts och var återfyndet av ringen gjorts, och ger lite information om själva flyttningen. Den allra senaste tekniken inom telemetri har dock gett oss de verktyg som behövs.

Min forskargrupp är involverad i ett projekt där vi sätter små sändare på änder och följer hur de flyttar. Sändarna väger cirka 15 gram och hålls fast på fågeln med hjälp av en liten sele. Varje sändare har en GPS-mottagare och kan ta positionsbestämningar med hög noggrannhet. Data skickas via GSM-nätet och batteriet laddas med hjälp av en solpanel. När vi följer fåglar med sändare får vi goda insikter i hur själva flyttningen går till, hur snabbt och långt de flyger, hur länge de rastar, hur de navigerar i landskapet och vilka miljöer de föredrar. Från dessa data kan man sedan bygga epidemiologiska modeller för hur virus kan spridas.

RESURSER FÖR UNDERVISNING

Animal Tracker – en gratisapp där man kan följa sändarförsedda fåglar, allt från storkar, örnar till änder.

Movebank – en hemsida där forskare lagrar sina data från fågelflyttning där man kan söka efter olika arter och se hur de flyttar.

Uppgifter till Smittspridning och -spårning



ANALYSEN SOM INTE FUNGERADE

Denna övning, utformad av Björn Herrmann, författare till en av artiklarna i denna del, visar varför analysmetoden för *Chlamydia trachomatis* inte fungerade. Uppgiften för eleverna är att leta upp målsekvenserna för de båda primrarna som användes vid PCR-analys av *C. trachomatis* och visa vad det berodde på att man inte hittade den nya varianten nvCT av klamydia. Övningen illustrerar problematiken i artikeln *Klamydia: en folkjär infektion*.

VISA SMITTSPRIDNING MED UV-PULVER

Bakterier och virus syns inte med ögat, men om man använder pulver som fluorescerar i UV-belysning som modell för spridning av mikroorganismer får man en realistisk uppfattning om hur lätt dessa sprids. Ta lite pulver på handen, så lite att det nästan inte syns och hälsa i hand på en person. Fortsätt sedan att hälsa på fler personer. Till hur många personer sprids "smittan"? Se artikeln *Smittspridning i x-Bi-lagan 2007*.

ETT SPEL OM VACCINATION

Hur smittsam är en sjukdom och varför skiljer det sig åt mellan olika sjukdomar? Hur många i en population måste vara vaccinerade för att en omfattande smittspridning ska förhindras?

Vaccinationsspelet introducerar två viktiga begrepp, dels flockimmunitet, dels R0-faktorn. Flockimmunitet handlar om andelen vaccinerade i en population, vilket har stor betydelse för hur omfattande spridningen av en sjukdom blir. R0-faktorn är ett mått på hur smittsam en sjukdom är. Exempelvis har Ebola en låg R0 faktor men på grund av andra riskfaktorer kan viruset ändå få stor spridning. Mässling är en mycket smittsam sjukdom och har betydligt högre R0-faktor.

ETT FALL AV MRSA

Övningen är fallstudie om en bebis som blir svårt sjuk i lunginflammation och blodförgiftning på grund av en MRSA-infektion. Uppgiften handlar om att ta reda på om någon av familjemedlemmarna eller om sjukhuset är smittkällan. I uppgiften får eleverna mäta hämningszoner och tolka resultat vid resistensbestämning för att därmed hitta källan till MRSA. Övningen finns i en enklare och en mer avancerad variant.

EBOLA

Här får eleverna lära sig mer om ebolautbrottet i Västafrika under åren 2013–2016. Genom att jämföra DNA-sekvenser från ebolavirus som kommer från många sjuka personer kan smittspridningen följas genom att studera successiva genetiska förändringar.

FAKTA OM MIKROORGANISMER

På sidan *microbiologyonline* finns fakta, laborationsmanualer och övningar i mikrobiologi. Bland annat finns inläsningsmaterial i form av faktablad om olika bakterier och virus som orsakar sjukdomar. Exempelvis finns det texter om malaria, influensa, kolera, tuberkulos, förkylning med mera. Texterna är skrivna på lättförståelig engelska.

DEN HETA FRÅGAN OM VACCIN

Hur kan vi bemöta myterna kring sambandet mellan vaccin och autism? Hur kan vi kritiskt granska det påstådda sambandet? I denna fallbeskrivning om vaccin och autism får eleverna ta del av en studie som presenterades i den ansedda medicinska tidsskriften *The Lancet*, men som senare befanns vara felaktig. Eleverna får granska data från studien och fundera på vilka tolkningar som är rimliga. Vilka svagheter finns i studien och hur kan en bättre undersökning genomföras?

HALOBACTERIUM OCH NOVOBIOCIN

Halobacterium är en saltälskande arkée som är lätt att odla. Den växer helst på ett medium med 25 procent salthalt och det innebär att få andra mikroorganismer kan kontaminera, vilket är en fördel från säkerhetssynpunkt. Novobiocin har effekt på *Halobacterium*, medan flera andra antibiotikasorter som hämmar bakterier inte påverkar *Halobacterium*.

ANTIBIOTIKA FRÅN SKOGEN

Barrskogsförna extraheras med vatten och ett prov stryks ut på agarplatta. När svampkolonier har växt ut efter någon vecka tas prover på kolonierna och placeras på en agarplatta med *E. coli*-bakterier. Om något av proverna från svampkolonierna bildar antibiotika blir det en avdödningszon kring detta prov.

E-BUG

Webbsidan e-bug innehåller spel och undervisningsresurser om mikroorganismer och antibiotika för både äldre och yngre elever.

Ta reda på!

Se Bioresurs hemsida för fullständiga beskrivningar och länkar: www.bioresurs.uu.se





Våra många vänner

Forskare beräknar att antalet celler i människans kropp uppgår till cirka 37 biljoner. Men i vår tarmkanal finns cirka 1–2 kilo bakterier och antalet bakterier uppskattas till betydligt fler än de mänskliga cellerna. Inte är det så konstigt att alla dessa mikroorganismer har betydelse för hur vi mår!

När bakterier nämns i vardagliga sammanhang är det ofta i negativa ordalag. Det är exempelvis bakterier som ger magproblem, sårinfektioner och halsont. Ofta tänker vi inte lika mycket på att de flesta bakterier är till nytta för oss. Många bakterier finns inne i och utanpå vår kropp och behövs för att vi ska må bra, andra används vid tillverkning av matvaror och ännu fler har viktiga funktioner i naturliga ekosystem.

Människans mikrobiom är ett samhälle av mikroorganismer som lever i samspel med varandra och den mänskliga kroppen. Att odla upp mikroorganismer från tarmkanalen för att på det sättet identifiera alla olika arter är omöjligt, men med gentekniska metoder kan man analysera allt förekommande DNA och på så sätt blir det möjligt att kartlägga diversiteten av arter.

Vi människor utgör tillsammans med mikroorganisimerna som lever i och på vår kropp ett ekosystem med en mängd olika arter. Maten vi äter är därför inte bara till för oss själva, den ska även ge föda åt alla mikroorganismer som lever i vår tarmkanal. Maten har därför också stor betydelse för hur våra mikroorganismer trivs och i förlängningen hur vi själva mår.

Forskare arbetar med att ta reda på vilka mikroorganismer som mikrobiomen från olika miljöer består av. Det gäller inte bara människors mikrobiom, andra exempel på mikrobiom är samhällen av mikroorganismer i hav, sötvatten och jord.

Mikroorganismer i livsmedel

Många livsmedel tillverkas med hjälp av mikroorganismer. De ger smak, konsistens, ökad hållbarhet och förbättrar vår förmåga att tillgodogöras oss näringsämnen. Låt oss stanna ett ögonblick vid mikroorganismer som behövs för att tillverka vanliga livsmedel på frukostbordet.

Många arter av mjölksyrabakterier används vid tillverkning av syrade mjölkprodukter. Det gäller exempelvis fil, yoghurt och kefir, men sådana bakterier används också vid tillverkning av smör och vissa ostsorter. Dessutom ingår mjölksyrabakterier i startkulturen till surdegsbröd och ger

ett saftigare och tätare bröd med syrlig smak. En syrlig smak och tätare textur finner vi också hos vissa slag av korvar, som medvurst och salami, beroende på att mjölksyrabakterier används i processen.

Forskare berättar

Följande artikel handlar om nya forskningsresultat som visar att det är viktigt att mikrobiomet i tarmen fungerar normalt för att man ska må bra. Maten vi äter har stor betydelse i detta sammanhang. Mikrobiomet samspelar med kroppens immunsystem vilket gör att det även är betydelsefullt vid behandling av cancer att mikrobiomet fungerar normalt.

Undervisa om nyttiga bakterier

Undervisning om mikroorganismer berör flera områden som exempelvis:

- bakteriecellers byggnad och egenskaper
- bakteriers betydelse för hälsa och sjukdom, samt hur antibiotika kan påverka bakterier
- bakteriers roll i ekosystemen. Omsättningen av kemiska ämnen i jord och vattenmiljöer där bakterier medverkar
- biotekniska processer för produktion av läkemedel och livsmedel med hjälp av bakterier och andra mikroorganismer.

Vi vill gärna uppmuntra till att göra praktiska försök med bakterier för att illustrera olika områden i biologi. Det kan handla om att undersöka morfologiska eller biokemiska egenskaper, såväl som att tillverka produkter med hjälp av mikroorganismer eller undersöka bakteriers betydelse för livsmedelskvaliteten. Några exempel på laborationer beskrivs på sidan 78.

Men man måste vara medveten om att det krävs lämplig utrustning, samt kunskaper i sterilteknik och hantering av bakterier för att laborationerna ska kunna genomföras på ett säkert sätt. På Bioresurs hemsida finns anvisningar för säkert arbete med mikroorganismer framtagna i samarbete med Arbetsmiljöverket.

Människans mikrobiom

– livsvetenskapens nya favorit

Intresset för våra mikroorganismer på och inuti kroppen har exploderat de senaste åren. Nästan varje dag läser vi om hur en störd bakterieflora i tarmkanalen kan kopplas till tillstånd som i många fall betraktas som folksjukdomar. Nya tekniker gör det möjligt att studera inte bara vilka mikroorganismer som finns utan också vad dessa mikroorganismer har kapacitet att göra.



Texten är skriven av:

Lars Engstrand

Professor i smittskydd och klinisk bakteriologi, leder verksamheten på Centrum för Translationell Mikrobiomforskning på Karolinska Institutet och SciLifeLab i Solna

Hans forskning är inriktad på hur våra goda bakterier påverkar hälsa och sjukdom och mekanismerna bakom detta samband. Forskningen är translationell och ligger i gränsområdet mellan genomik, mikrobiologi och klinisk epidemiologi och bedrivs i nära samarbete med kliniska kollegor.

Ett samhälle som inkluderar alla mikroorganismer i en viss miljö, exempelvis i mag-tarmkanalen, kallas mikrobiom. Målet för många forskargrupper idag är att öka förståelsen för hur detta "organ" kommunicerar med våra övriga organ och hur man kan återställa en störd bakterieflora och på så sätt påverka ett sjukdomsförlopp.

Det mest kända exemplet på sådan återställning är FMT (fecal mikrobiom transplantation) där man transplanterar tarmens mikrobiom från en person till en annan. En frisk donators mikrobiom har överlägset bäst effekt vid svårbehandlad diarré orsakad av tarmbakterien *Clostridium difficile*, jämfört med andra behandlingsmetoder.

Sjukdomar och tillstånd som diabetes, ulcerös colit, Crohns sjukdom, fetma, vissa cancersjukdomar, allergi, astma och även beteendestörningar har alla kopplats till ett stört mikrobiom – oftast i tarmen.

Om vi kan öka förståelsen för det mänskliga mikrobiomets roll vid hälsa och sjukdomsutveckling har vi goda möjligheter att i framtiden kunna erbjuda nya behandlingsmetoder vid sjukdom men även förbättra folkhälsan genom att värna våra bra mikroorganismer i och utanpå kroppen.

Teknikutveckling avgörande

På bara några år har DNA-sekvenseringstekniken utvecklats på ett häpnadsväck-

ande sätt. Det som tog månader och år att sekvensera för ett decennium sedan går nu på några timmar. Idag kan människans hela arvsmassa kartläggas på mindre än 24 timmar till en kostnad som understiger 10 000 kronor. Denna teknikutveckling har även gynnat mikrobiom-forskarna som nu relativt billigt kan kartlägga mikrobiomet i stora studiematerial.

Utöver DNA-sekvensering kan adderas tekniker som analyserar metaboliter och proteiner i stor skala från en och samma individ. En rad "omics"-tekniker används inom mikrobiomforskningen för att få mer information om hur mikroorganismerna kan påverka kroppen (figur 1).

Alla bakterier har en komponent i ribosomerna som betecknas 16S rRNA. Denna komponent används idag av de flesta forskare för att få information om vilka bakterier som finns i provet. Molekylen är relativt liten och finns hos alla prokaryota celler, det vill säga hos alla bakterier men inte hos människan. Genom att analysera denna molekyl hos alla bakterier samtidigt (massiv parallell sekvensering) får man snabbt och enkelt information om vilka bakterier som finns i den miljö man vill undersöka.

Det finns program som är fria att använda på nätet för bioinformatisk analys av likheter och skillnader mellan de olika bakteriernas genom. Analysen säger dock

ingenting om vilken betydelse dessa bakterier har. Inte heller andra mikroorganismer som virus, svampar eller protozoer får man information om.

Den DNA-sekvenseringsteknik man idag börjat övergå till är så kallad **metagenomisk** shotgun-sekvensering. Här får man information om alla gener i provet och därmed också kunskap om vad dessa gener kodar för. För att ytterligare skärpa diagnostiken finns även metoder som ger information om vilka gener som verkligen uttrycks (**metatranskriptomik**) och som nämnts ovan även **metabolomik** och **metaproteomik**, se figur 1.

Att inte glömma eller nedvärdera den traditionella odlingsmetoden för mikroorganismer är också centralt inom mikrobiomforskningen idag. Med nya anaerobmedier och inkubatorer ökar antalet "nya" mikroorganismer för forskarna att studera för varje år.

Målet för många forskargrupper är förstås att kunna odla fram mikroorganismer som är avgörande för sjukdomsförlopp och i slutändan framställa nya probiotika för

dessa tillstånd. Det finns även andra sätt att påverka mikrobiomet varav FMT (fecal mikrobiom transplantation), som tidigare nämnts, är den metod som visat sig fungera bäst vid kronisk diarré orsakad av *Clostridium difficile*.

Vilka sjukdomar kan botas med bra mikroorganismer?

Som nämnts ovan finns idag ett antal sjukdomstillstånd som kan kopplas till **dysbios**.

I de allra flesta fall finns inget bevisat så kallat **kausalt samband**, det vill säga vi vet inte vad som är hönan eller ägget. Kan inflammationen i sig påverka mikrobiomet eller är ett stort mikrobiom orsak till inflammationen?

De mest uppmärksammade studierna för att klarlägga ett kasuellt samband är de där man tagit en störd tarmflora och transplanterat till bakteriefria möss. Man har på så sätt kunnat visa att tarmbakterier från till exempel feta individer vid transplantation till bakteriefria möss kan "framställa"

Clostridium difficile – en bakterie som kan bilda gifter (toxiner). Dessa kan verka irriterande på tarmslemhinnan och ge diarréer. Problem med denna bakterie kan uppstå vid antibiotikabehandling.

Dysbios – obalans i fördelningen av mikroorganismer i tarmen. Det kan gälla balansen mellan bra och dåliga mikroorganismer, såväl som att aktiviteten hos tarmens mikroorganismer är onormal. Kan vara kopplat till sjukdom.

Kausal – betyder orsakssamband och innebörden är att en handling leder till en viss effekt

Figur 1. Mikroorganismerna i mag-tarmkanalen bildar ett samhälle som kan studeras utifrån olika aspekter. Här finns både en stor mängd mikroorganismer och en stor diversitet. Olika "omics"-metoder som används inom mikrobiomforskningen visas i figuren.

Många mikroorganismer går inte att odla på labb. Metoder som gör att man kan analysera hela samhällen, till exempel allt förekommande DNA eller RNA, gör det ändå möjligt att ta reda på vilka organismer som finns och deras egenskaper:

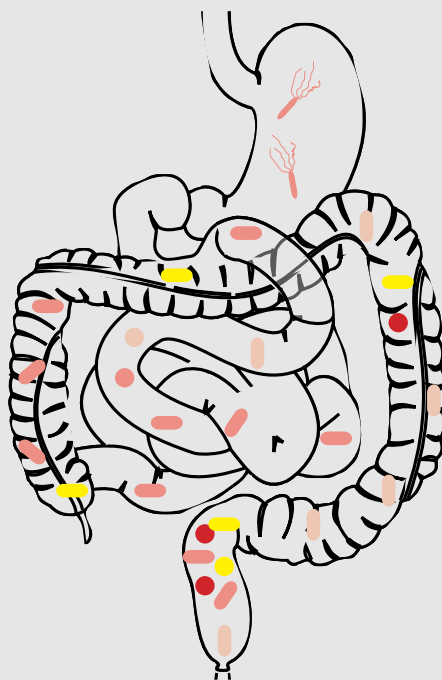
Illustrationen till höger ger en förenklad bild av att mikroorganismer av många slag lever i mag-tarmkanalen.

Prefixet meta som ingår i begreppen till höger i figuren betyder över eller helhet, att man befinner sig på en övergripande högre nivå.

ODLA MIKROORGANISMER

Det innebär att man arbetar med

- isolering av mikroorganismer (renodling)
- undersökningar av olika egenskaper hos mikroorganismer
- sekvensering av genom
- släktskapsbestämning.



METAGENOMIK

DNA-sekvenser från alla organismer i en viss miljö, till exempel ett mikrobiellt samhälle, sekvenseras.

METATRANSKRIPDOMIK

beskriver genuttrycket vilket innebär att man analyserar alla RNA-sekvenser vid en viss tidpunkt i en viss miljö, exempelvis i en typ av celler. Metoder som används är bland annat sekvensering av RNA, microarray och släktskapsstudier.

METAPROTEOMIK

alla proteiner vid en viss tidpunkt och en viss miljö studeras genom exempelvis masspektrometri.

METABOLOMIK

alla metaboliter vid en viss tidpunkt och i en viss miljö beskrivs.

Figur 2.
Nyttig mat gynnar tar-
mens mikrobiom.



en fet mus. Dessa resultat har sedan överförts till studier av undernärda barn där forskare försöker hitta en diet som gynnar bakterier som är kopplade till viktökningen i musmodellen. På så sätt kan man komma närmare ett kausalt samband mellan mikrobiomets sammansättning och viktökning.

Idag finns inte tillräckliga bevis för att ett återställande av en rubbad tarmflora skulle bota vissa sjukdomar där man sett en koppling till dysbios. Det finns dock några sjukdomar där intressanta observationer förhoppningsvis kan leda till förbättrad behandling och överlevnad.

Mikrobiomets roll vid cancerbehandling

De senaste åren har så kallad **immunterapi** seglat upp som en ny och unik väg att angripa vissa cancertumörer. När den lyckas är den mycket framgångsrik och många anser idag att immunterapi mot vissa tumörer har revolutionerat cancerbehandlingen. Tyvärr fungerar denna terapi bara i 20–40 procent

av fallen. Varför majoriteten av patienterna inte blir bättre är idag oklart. Principen att våra egna immunceller ska angripa tumören och slå ut den borde gälla för alla.

Här kommer bakterierna in som viktiga medspelare. Ny forskning har visat på ett spännande samband mellan tarmbakteriernas sammansättning och framgångsrik cancerbehandling med immunterapi. Det verkar som om vissa bakterier i tarmen är avgörande för om behandlingen ska lyckas eller inte. Det innebär att vi skulle kunna förutse om patienten kommer att bli hjälpt eller inte av denna revolutionerande behandling. Därmed bör man kunna tillföra de bakterier som fattas och på så sätt göra våra egna immunceller effektivare i sina angrepp på tumören.

Idag pågår kliniska studier där cancerpatienter får kapslar med tarmbakterier som man odlat fram från patienter som tidigare svarat bra på behandlingen. Andra forskargrupper planerar att använda hela tarmfloror från dessa patienter för transplantation till nya patienter. Dessa studier utgår från musförsök likande de som beskrivs ovan, det vill säga man får bättre effekt av immunterapi hos möss med tarmfloror från patienter med lyckosam behandling. Förhoppningen är att vårt eget immunförsvar ska angripa tumörcellerna bättre.

Vi vet inte exakt hur dessa bakterier trigger våra egna immunceller till tumörangrepp men ett flertal forskargrupper i bland annat USA och Europa försöker få svar.

En kandidatbakterie, *Akkermansia muciniphila*, har kopplats till bättre behandlingsresultat med immunterapi men det finns mycket kvar att göra inom detta forskningsområde.

Immunterapi – Nobelpriset i fysiologi eller medicin 2018 delas lika mellan James P. Allison och Tasuku Honjo för deras upptäckt av cancerbehandling genom hämning av immunförsvarets bromsmekanismer.

| | |
|------------------------|--|
| TRANSPLANTATION | Överföring av mikrobiom från en frisk till en sjuk person. FMT (fecal mikrobiom transplantation) |
| PREBIOTIKA | Mat som nyttiga bakterier gillar (fibrer, oligosackarider) |
| SYNBIOTIKA | Prebiotika kombineras med probiotika. |
| PROBIOTIKA | Levande mikroorganismer tillförs kroppen. |
| POSTBIOTIKA | Lyserade bakterier och komponenter som bildats medan de levde |
| PROLÄKEMEDEL | Mikroorganismer används för att tillföra kroppen läkemedel. |

Det finns också studier som visar att vissa tarmbakterier av familjen Clostridier kan angripa tumörer genom att modifiera gall-syra som signalerar till levercellerna att producera ett protein, CXCL16, som i sin tur ökar antalet T-celler i levern som kan attackera tumören.

Man har även sett att cancerpatienter som antibiotikabehandlats innan eller strax efter immunterapi hade kortare överlevnadstid jämfört med de som inte fått antibiotika.

Vissa bakterier kan också dämpa bieffekter av cancerterapi och forskare i USA har visat att viss prebiotika och synbiotika både kan dämpa bieffekter och ge effektivare cancerbehandling (se tabell föregående sida). Forskning pågår för att studera om ändrade matvanor också är ett sätt att påverka tarmbakterierna och mikrobiomets sammansättning inför immunterapi-behandling. Helt klart är att många inom cancerforskningen nu ser goda tarmbakterier som möjliga hjältar i kampen mot cancer.

New York Times skrev i en krönika för några år sedan:

“Medicine used to be obsessed with eradicating the tiny bugs that live within us. Now we’re beginning to understand all the ways they keep us healthy.”

Men som sagt – det kvarstår många års forskning innan vi kan överföra det vi ser i musmodeller till människa. Många inom livsvetenskaperna har dock fått ett nytt favoritområde att studera.

MÄNNISKANS MIKROBIOM

Ordet mikrobiom kan användas i två betydelser; men i båda fallen gäller det mikroorganismer i en viss miljö, dels kan det handla om alla celler, dels den sammanlagda arvsmassan. Det finns betydligt fler mikroorganismer i och på kroppen än mänskliga celler.

Människans mikrobiom utgörs av samhällen inne i och på kroppen som består av många olika slag av mikroorganismer. Dessa finns exempelvis i anslutning till munhåla-strupe-magsäck-tarmkanal, lungor, urogenitala området och på huden. Vissa mikroorganismer är nödvändiga för att vi ska må bra, som många av bakterierna i mag-tarmkanalen.

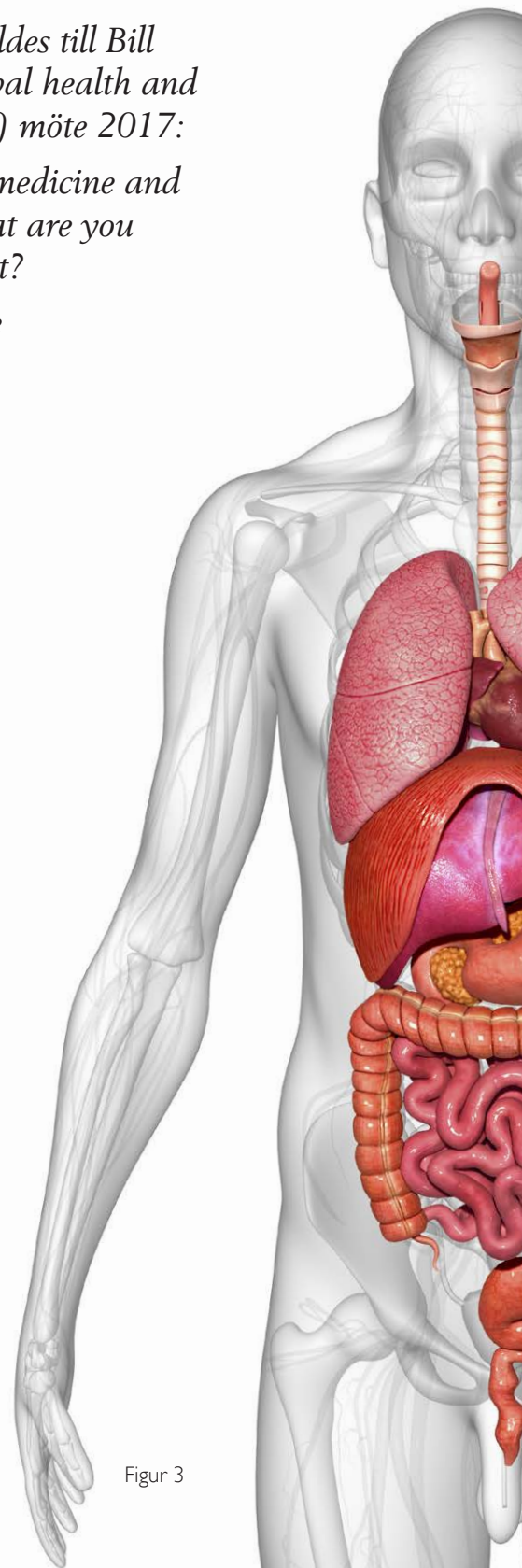
Mikrobiomet har stor betydelse för vår hälsa. Hittills har detta inte uppmärksamats i tillräcklig utsträckning.



Frågan nedan ställdes till Bill Gates under Global health and genomics (ASHG) möte 2017:

– In the world of medicine and global health, what are you most excited about?

– The Microbiome



Figur 3



Uppgifter till Människans mikrobiom

HUDENS MIKROBIOM

Klassiska skolförsök med mikroorganismer brukar inkludera en undersökning av bakterier som finns på huden. Det innebär att man undersöker hudens mikrobiom. Många av bakterierna är ofarliga, men eventuellt kan det även finnas bakterier som är skadliga. Undersökningen brukar ofta göras i kombination med att med testa olika medel för att tvätta bort bakterier.

Ett sådant försök innebär att okända bakterier odlas upp, där vissa kan vara olämpliga att komma i kontakt med. För att undvika att eleverna rör vid bakterierna som odlats upp på agarplattorna är det viktigt att tejpa igen petriskålarna innan inkuberingen och sedan inte öppna dem igen. Odlingarna ska därefter destrueras genom autoklavering eller genom att de skickas som riskavfall.

MIKROBER INTERAGERAR

Kan mikroorganismer i våra tarmar påverka övervikt? Hur byggs mikrofloran upp hos ett nyfött barn? Det är exempel på två frågor som tas upp i övningen *Hur interagerer mikrober med människan?* Fokus ligger på ekologiska begrepp som nisch, succession och olika former av samarbete mellan värd och mikroorganism.

Eleverna delas in i grupper och får vardera en kort text om mikroorganismer som lever i samspel med människor. Till texterna hör frågor som eleverna besvarar genom att arbeta med modeller och tolkning av bilder. Eleverna bildar sedan tvärgrupper och ska med hjälp av sin expertkunskap sätta ihop en modell av människokroppen utifrån bakterier som finns i kroppens olika delar.

SYRADE LIVSMEDEL

Att tillverka syrade livsmedel har blivit trendigt. Surdegsbröd, syrade mjölkprodukter av alla slag, kimchi och kombucha är några exempel.

- Vad innehåller surdegsbröd, kimchi och kombucha som ger den speciella smaken och hur tillverkas dessa produkter?
- I välsorterade livsmedelsaffärer finns ett närmast överskådligt antal mjölkprodukter tillverkade med hjälp av olika slag av bakterier. Det är exempelvis olika varianter av fil, yoghurt, kefir,

onaka, Dofilus, A-fil, skyr och långfil. Men alla produkter i mjölkdisken innehåller inte levande bakteriekulturer.

Besök en livsmedelsaffär och ta reda på vad som är gemensamt när det gäller innehållet i dessa produkter och vad som skiljer dem åt.

- Tillverka egen yoghurt av vanlig söt mjölk genom att tillsätta en liten volym av levande yoghurtkultur från en förpackning med yoghurt. Låt blandningen stå i 44°C i cirka fyra timmar. Mät under tiden pH-värdet och iaktta förändringar i konsistens. Vad beror det på att pH-värdet och konsistensen ändras?
- På motsvarande sätt som beskrivs ovan kan även andra syrade mjölkprodukter tillverkas.
- Även syrade grönsaker, som exempelvis surkål, kan tillverkas med hjälp av mjölksyrabakterier, men processen tar betydligt längre tid än framställning av syrade mjölkprodukter.

Om man vill smaka på egentillverkad yoghurt eller andra syrade livsmedel ska tillverkningen ske i en lokal som är lämplig för livsmedelsproduktion.

STUDERA MIKROORGANISMER

En droppe aktiv yoghurtkultur färgas med gramfärgning. När man studerar preparatet i mikroskop kan man se att yoghurtkulturen innehåller både stavformade bakterier och kocker som färgats tydligt blåviolettera. Kulturen består av en blandning av *Lactobacillus bulgaricus* och *Streptococcus thermophilus*.

BAKTERIER FÖRSTÖR LIVSMEDEL

Livsmedel kan också förstöras av bakterier och i en laboration med morötter får eleverna fundera över ett resultat som först verkar motsägelsefullt. I en annan, mer krävande laboration undersöks bakteriehalten i livsmedel.

SÄKERHET OCH RISKER

Det krävs lämplig utrustning, samt kunskaper i sterilteknik och hantering av bakterier för att laborationerna ska kunna genomföras på ett säkert sätt. På Bioresurs hemsida finns anvisningar för säkert arbete med mikroorganismer framtagna i samarbete med Arbetsmiljöverket.

Se Bioresurs hemsida för fullständiga beskrivningar och länkar: www.bioresurs.uu.se



Bildförteckning

Omslagsbild. Foto: Peshkov, Adobe Stock

GENTEKNIKENS UTVECKLING

Introduktionsbild: Instrument på SNP&SEQ-teknologiplattformen på SciLifeLab i Uppsala. Foto: Bioresurs

Porträttbild Kerstin Lindblad-Toh. Foto: Broad Institute

Porträttbild Karin Mossler. Foto: Anders Rockström

Figur 1. Silverlax. Foto: Fredrik Sundström och Mare Löhmus

Figur 2. Genetisk transformering av växter. Illustration: Fredrik Saarkoppel

Figur 3. Acute leukemia-ALL av VashiDonsk, CC BY-SA 3.0, Wikimedia Commons

Figur 4. Sammetssnigeln *Elysia chlorotica*. Källa: Pelletreau KN, Weber APM, Weber KL, Rumpho ME (2014) Lipid Accumulation during the Establishment of Kleptoplasty in *Elysia chlorotica*. *PLoS ONE* 9(5): e97477. doi:10.1371/journal.pone.0097477

Figur 5. SOD1. Källa: The Human Protein Atlas

Figur 6. mi-RNA-reglering. Eget montage grundat på följande artikel: Margarida Pujol-López, Luis Ortega-Paz, Manel Garabito, Salvatore Brugaletta, Manel Sabaté, Ana Paula Dantas. miRNA Update: A Review Focus on Clinical Implications of miRNA in Vascular Remodeling. *AIMS Medical Science*, 2017, 4(1): 99-112. doi: 10.3934/medsci.2017.1.99

Figur 7. Röd panda. Foto: Pixabay

Figur 8. Jättepanda. Foto: Pixabay

Figur 9. Analogy: When is a thumb a thumb? Källa: Understanding Evolution. 2018. University of California Museum of Paleontology. 20 August 2018. evolution.berkeley.edu/evolibrary/article/analogy_06

Figur 10. Släkträd. Eget montage grundat på följande artikel: Yibo Hu, Qi Wu, Shuai Ma, Tianxiao Ma, Lei Shan, Xiao Wang, Yonggang Nie, Zemin Ning, Li Yan, Yunfang Xiu, Fuwen Wei. Comparative genomics reveals convergent evolution between the bamboo-eating giant and red pandas. *PNAS* January 31, 2017 114 (5) 1081-1086. doi.org/10.1073/pnas.1613870114

CRISPR-TEKNIK

Introduktionsbild: Mikroförökning och kloning av karelsk björk. Foto: Mulderphoto, Adobe Stock

Figur 1. CRISPR-tekniken. Illustration: Cajsa Lithell, Red Cap Design

Figur 2. Tillämnning av CRISPR-konstruktionen. Illustration: Cajsa Lithell, Red Cap Design

Figur 3. Plack vid Alzheimers sjukdom. Källa: Martin Ingelsson

Figur 4. Nystan vid Alzheimers sjukdom. Källa: Martin Ingelsson

Figur 5. Positronemissionstomografi (PET). Bilderna är tagna vid sektoren för molekylär diagnostik/BFC, vid Akademiska sjukhuset i Uppsala. Källa: Martin Ingelsson

Figur 6. Den svenska mutationen. Källa: Martin Ingelsson

Figur 7. Genterapi. Illustration: Gunilla Elam

EPIGENETIK

Introduktionsbild: Tvillingsystrar. Foto: Liubov Levvytska, Adobe Stock
Gulsporre. Foto: Bioresurs

Porträttbild Birgitta Mc Ewen. Foto: Anders Heder

Porträttbild Karin Broberg. Foto: Kennet Ruona

Porträttbild Joëlle Rüegg. Foto: Anna Persson

Figur 1. Epigenetiska mekanismer. Källa: National Institutes of Health. Figuren är bearbetad av Bioresurs.

Figur 2. Waddingtons epigenetiska landskap. Källa: Waddington, C. H. *The Strategy of the Genes* (Geo Allen & Unwin, London, 1957), se sidorna 29 och 36 i archive.org/details/in.ernet.dli.2015.547782. Vit blodkropp. Foto: Luk Cox, Adobe Stock. Övrigt, eget montage.

Figur 3–7. Perfluorooctanesulfonic-acid-3D-balls av Jynto, Bisphenol A av Edgar181, Protein ESR1 PDB 1a52 av Emw (CC BY-SA 3.0), Wikimedia Commons

UTVECKLINGSBIOLOGI

Introduktionsbild: Zebrafisk. Foto: Roy Francis

Porträttbild Tatjana Haitina. Foto: Vitalii Makaganiuk

Figur 1. Axolotl. Foto: lapis2380, Adobe Stock

Figur 2. Embryonalutveckling. Källa: The evolution of man: a popular exposition of the principal points of human ontogeny and phylogeny. Ernst Haeckel. 1879, archive.org/stream/evolutionofmanpo01haecuoft#

Figur 3. Uttryck av *fgf8a* i ett zebrafiskyngel. Källa: Howe DG, Bradford YM, Conlin T, Eagle AE, Fashena D, Frazer K, Knight J, Mani P, Martin R, Moxon SA, Paddock H, Pich C, Ramachandran S, Ruef BJ, Ruzicka L, Schaper K, Shao X, Singer A, Sprunger B, Van Slyke CE, Westerfield M. (2013). ZFIN, the Zebrafish Model Organism Database: increased support for mutants and transgenics. *Nucleic Acids Res.* Jan;41(Database issue):D854-60

Figur 4. Developmental tree of early zebrafish embryogenesis. Källa: Jeffrey A. Farrell, Yiqun Wang, Samantha J. Riesenfeld, Karthik Shekhar, Aviv Regev, Alexander F. Schier. Single-cell reconstruction of developmental trajectories during zebrafish embryogenesis. *Science* 01 Jun 2018; Vol. 360, Issue 6392, eaar3131, doi: 10.1126/science.aaar3131 (Research article summary). Reprinted with permission from AAAS. The translation is not an official translation by AAAS staff, nor is it endorsed by AAAS as accurate. In crucial matters, please refer to the official English-language version originally published by AAAS.

Figur 5. The Third Cleavage Patterns of the Dextral and Sinistral L. stagnalis Embryos and Their Adult Snails. Källa: Yuichiro Shibazaki, Miho Shimizu, Reiko Kuroda. Body Handedness Is Directed by Genetically Determined Cytoskeletal Dynamics in the Early Embryo. *Current Biology* Volume 14, Issue 16, 24 August 2004, Pages 1462-1467. doi: 10.1016/j.cub.2004.08.018. Reproduced with permission from Elsevier.

Figur 6. The neural crest is a multipotent cell population. Källa: Marcos Simões-Costa, Marianne E. Bronner. Establishing neural crest identity: a gene regulatory recipe. *Development* 2015 142: 242-257. doi: 10.1242/dev.105445. Reproduced with permission from Development

Figur 7. Representation of NC migrating in a cephalic stream. Källa: Adam Shellard, Roberto Mayor. Chemotaxis during neural crest migration. *Seminars in Cell & Developmental Biology* 55 (2016) 111-118. doi.org/10.1016/j.semcdb.2016.01.031. Reproduced with permission from Elsevier.

Figur 8–9. Zebrafisk. Foto: Ghazal Aalavioon

Figur 10–12. Zebrafisk. Foto: Judith Habicher

LIVETS UTVECKLING

Introduktionsbild: Lokes Slott. Foto: R.B. Pedersen, Senter for geobiologi, Universitetet i Bergen, Norge (Relaterad artikel: Anja Spang, Jimmy H. Saw, Steffen L. Jørgensen, Katarzyna Zaremba-Niedzwiedzka, Joran Martijn, Anders E. Lind, Roel van Eijk, Christa Schleper, Lionel Guy, Thijs J. G. Ettema. Complex archaea that bridge the gap between prokaryotes and eukaryotes. *Nature* volume 521, pages 173–179 (14 May 2015), doi.org/10.1038/nature14447)

Porträttbild Erik Pelve. Foto: Lena Holm

Porträttbild Sandra Baldauf. Foto: Joan Strassmann

Figur 1. The Asgard Archaea, Uppsala university. Illustration: Eva Fernandez-Caceres (Relaterad artikel: Katarzyna Zaremba-Niedzwiedzka, Eva F. Caceres, Jimmy H. Saw, Disa Bäckström, Lina Juzokaite, Emmelien Vancaester, Kiley W. Seitz, Karthik Anantharaman, Piotr Stamawski, Kasper U. Kjeldsen, Matthew B. Stott, Takuro Nunoura, Jillian F. Banfield, Andreas Schramm, Brett J. Baker, Anja Spang, Thijs J. G. Ettema. Asgard archaea illuminate the origin of eukaryotic cellular complexity. *Nature* volume 541, pages 353–358 (19 January 2017), dx.doi.org/10.1038/nature21031)

Figur 2. Övre delen av figuren: Evolution of Earth's atmospheric oxygen content through time. Källa: Timothy W. Lyons, Christopher T. Reinhard, Noah J. Planavsky. The rise of oxygen in Earth's early ocean and atmosphere. *Nature* volume 506, pages 307–315 (20 February 2014). Reprinted by permission from Nature.

Figur 3. Livets träd. Illustration: Sandra Baldauf

Figur 4–5 *Acrasis kona*. Foto: Chengjie Fu

Figur 6. Dicty Life Cycle H01 av Tijmen Stam, IIVQ (SVG conversion), Hideshi (original version), Wikimedia Commons, GFDL + CC-BY-SA

MÄNNISKANS EVOLUTION

Introduktionsbild: Den ovanliga grottbegravningen av den 6-årige pojken "Matojo" (ATP12-1420) från kopparåldern. Foto: Eneko Iriarte (Relaterad artikel: Torsten Günthera, Cristina Valdiosera, Helena Malmströma, Irene Ureña, Ricardo Rodriguez-Varela, Óddny Osk Sværisdóttir, Evangelia A. Daskalaki, Pontus Skoglund, Thijessen Naidoo, Emma M. Svensson, José María Bermúdez de Castro, Eudald Carbonell, Michael Dunn, Jan Storå, Eneko Iriarte, Juan Luis Arsuaga, José-Miguel Carretero, Anders Götherström, Mattias Jakobsson. Ancient genomes link early farmers from Atapuerca in Spain to modern-day Basques. *PNAS* September 22, 2015 112 (38) 11917–11922. doi.org/10.1073/pnas.1509851112)

Porträttbild Mattias Jakobsson. Foto: Mikael Wallerstedt

Figur 1. Demographic model of African history and estimated divergences. Källa: Schlebusch CM, Malmström H, Günther T, Sjödin P, Coutinho A, Edlund H, Munters AR, Vicente M, Steyn M, Soodyall H, Lombard M, Jakobsson M. Southern African ancient genomes estimate modern human divergence to 350,000 to 260,000 years ago. *Science*. 2017 Nov 3;358(6363):652–655. doi: 10.1126/science.aao6266. Texten i figuren är översatt av Bioresurs.

Figur 2. Migration scenarios into postglacial Scandinavia. Källa: Günther T, Malmström H, Svensson EM, Omrak A, Sánchez-Quinto F, Kilinç GM, Krzewinska M, Eriksson G, Fraser M, Edlund H, Munters AR, Coutinho A, Simões LG, Vicente M, Sjölander A, Jansen Sellevold B, Jørgensen R, Claes P, Shriver MD, Valdiosera C, Netea MG, Apel J, Lidén K, Skar B, Storå J, Götherström A, Jakobsson M. Population genomics of Mesolithic Scandinavia: Investigating early postglacial migration routes and high-latitude adaptation. *PLoS Biol*. 2018 Jan 9;16(1):e2003703. doi: 10.1371/journal.pbio.2003703. Figuren är modifierad av Bioresurs.

Figur 3. Portabelt ancient DNA-labb. Foto: Mattias Jakobsson

Figur 4. Utgrävning vid Ajvide, Eksta socken, Gotland. Foto: Göran Burenhult

SMITTSPRIDNING OCH -SPÅRNING

Introduktionsbild: Gräsänder. Foto: Carola Vahldiek, Adobe Stock

Figur 1. Chlamydiae Life Cycle av Huckfinne, Wikimedia Commons

Figur 2. Principer för PCR. Källa: Björn Herrmann

Figur 3. Antal fall av klamydiavarianten nvCT i fyra landsting. Källa: Björn Herrmann

Figur 4–5. Kontaktmönster för personer smittade med klamydia. Källa: Björn Herrmann

Figur 6. Diagram över sexuella kontakter i relation till avstånd. Källa: Björn Herrmann

Figur 7. Subtyper av influensavirus. Illustration: Michelle Wille

Figur 8. Gräsand med sändare. Foto: Erik Kleyheeg

MÄNNISKANS MIKROBIOM

Introduktionsbild: Yoghurt och blåbär. Foto: Kaycco, Adobe Stock

Porträttbild Lars Engstrand. Foto: John Sennett

Figur 1. Mag-tarmkanalen. Eget montage.

Figur 2. Nyttig mat. Foto: Pixelbliss, Adobe Stock

Figur 3. Människokropp. Foto: 7activestudio, Adobe Stock

Övriga referenser

Inledningstexterna till varje avsnitt är skrivna av Britt-Marie Lidsten. Laborationer och övningar är sammanställda och utformade av Bioresurs. Fullständiga beskrivningar samt länkar finns på hemsidan: www.bioresurs.uu.se. Där finns även referenser till artiklarna i magasinet.



Nationellt resurscentrum för biologi och bioteknik (Bioresurs)

har som uppdrag att stödja och inspirera lärare från förskola till gymnasium/vuxenutbildning bland annat genom att

- främja diskussion och utbyte av idéer mellan lärare
- arbeta med kompetensutveckling för lärare
- ge råd om experiment och fältmetodik
- arbeta för en helhetssyn på naturvetenskap och för en integration av biologiska frågeställningar i skolan
- främja kontakter mellan forskning, skola och näringsliv.

Bioresurs tillhandahåller laborationer, övningar och intressant information för undervisning i NO/biologi, som du kan ta del av genom

- Bi-lagan, en tidning som kommer ut tre gånger per år och skickas kostnadsfritt till alla skolenheter i Sverige samt till prenumeranter
- hemsidan, www.bioresurs.uu.se
- kurser och konferenser, anordnade i egen regi och i samarbete med andra.

Vad är på gång? Se hemsidan samt våra sidor på Facebook och Instagram. Har du frågor eller idéer kring undervisning? Skriv till info@bioresurs.uu.se eller ring. Telefonnummer finns på hemsidan.

Bioresurs finns vid Uppsala universitet, som tillsammans med Sveriges lantbruksuniversitet, SLU, står bakom centrumet.

Forskning fascinerar. Inte minst gäller det biologi där utvecklingen går snabbt inom många områden. Biologiundervisningen i skolan handlar om olika organisationsnivåer och om processer inom och mellan dessa nivåer, från det största till det minsta: ekosystem – samhällen – organismer – organsystem – organ – celler – molekyler. Idag grundas de flesta delar av biologin i cell- och molekylärbio­logi – ett område där det skett en enorm utveckling med avseende på nya tekniker och ny kunskap bara under de senaste åren.

Här har vi samlat forskares och experters berättelser om några av de mest spännande forskningsfälten: genteknik, epigenetik, utvecklingsbiologi, livets och människans utveckling, smittspridning och -spårning samt människans mikrobiom. Läs och förundras!

Områdena som beskrivs är centrala för skolans biologiundervisning och innehållet i varje avsnitt knyts till Skolverkets styrdokument i biologi genom inledande texter och förslag på laborationer och övningar.

Fascinerande forskning har tagits fram av Nationellt resurscentrum för biologi och bioteknik, Uppsala universitet, och riktar sig framför allt till lärare i biologi på gymnasium, vuxenutbildning och senare delen av grundskolan, samt till elever på gymnasienivå, men även till övriga med intresse för biologi och biologiundervisning.

Nationellt resurscentrum för
biologi och bioteknik

