

Braun Tibor

■ ELTE Kémiai Intézet, MTA Könyvtár és Információs Központ

# Moore törvénye és a DNS-szekvenálás legújabb kori fejlődése

## Előszó

A DNS-szekvenálásnak [1] a genomkutatás [2–3] és a DNS-beli információörögzítés [4–6] miatt van különös és vitathatatlanul döntő jelentőségű szerepe mindkét területen, de ma már nélkülözhetetlen az orvosi diagnosztikában, a biotechnológiában, a törvényszéki orvostanban és a biológiai rendszerszervezésben is. Említést kell tenni az emberi genom projektről [7], a DNS-szekvenáláshoz köthető, eddig világméretben is az egyik legnagyobb kutatási erőfeszítésről. Ehhez és a múlthoz fűződően, főleg érdekességgként érdemes megemlíteni, hogy 2000-ben, amikor az említett projekt befejeződött, egy egyén genomjában levő körülbelül hárommilliárd bázispár meghatározása teljes évtizedet vett igénybe, és költségei, amiknek nagy részét a szekvenálás tette ki, közel voltak a százmillió dollárhoz. Nem meglepő, hogy a gyorsabban, olcsóbban, pontosabban elvárásokhoz illően merült fel az 1000 dolláros genomprogram gondolata, illetve terve [8], ami, mint elnevezése is jelzi, azt a célt tűzte ki, hogy 1000 dollárért meghatározhatóvá tegye egy egyén teljes genomállományát. Ez a törekvés napjainkban is fennáll.

A DNS-szekvenálás fejlődéstörténetét háromgenerációs tagoltságúnak írják le, részleteiben itt nem foglalkozunk vele, ismertetésére kitűnő összefoglalók állnak rendelkezésre [9–11].

## Bevezetés

A következőkben előbb futólag vázolnánk a DNS-szekvenálási eljárások biokémiai, illetve molekuláris biológiai fejlődési útját, elsősorban annak első két generációját, és a harmadik generációra rátérve a DNS-szekvenálás költségeinek fejlődési, csökke-

nési törvényszerűségeit vizsgálunk egy műszaki területen tapasztalható fejlődési növekedéssel (a tranzisztorok fejlődésére vonatkozó *Moore-törvény*) összehasonlítva.

A DNS szekvenálása [1] lényegében három alpműveletből áll, beleértve a minta-előkészítést, a fizikai szekvenálást és az újbóli összerendezést. A minta-előkészítés első lépése a célgenom fragmensekbe való darabolásból áll. A minta mennyiségétől függően ezek a fragmensek különböző molekuláris módszerekkel másolatokká sokszorozhatók. A fizikai szekvenáló fázisban a fragmensek mindegyik bázisa egyenkénti leolvasással azonosítható, és az összefüggően azonosított bázisok leolvasási hosszaként jellemezhetők. Az összerendezési fázisban bioinformatikai szoftverrel összerakhatók az átlapoló leolvasások. Ez lehetővé teszi az eredeti genom folyamatos szekvenciákká való összefűzését. Minél terjedelmesebb a leolvasás hossza, annál könnyebb a genom összerakása. A fentiekhez jelentős fejlődést biztosított a polimeráz láncreakció (PCR) felfedezése [12].

## Moore törvénye

Moore törvényeként vált ismertté Gordon Moore [13], az Intel alapítójának az az 1965-ben tett megfigyelése, mely szerint integrált áramkörökben az egységnyi (négyzet-hüvelyknyi) felületre helyezhető tranzisztorok száma kétévenként megkétszereződik. Moore hozzátette, hogy ez az előrejelzés valószínűleg hosszú ideig érvényben marad (**1. ábra**). Moore törvénye tulajdonképpen az exponenciális növekedés szilíciumalapú tranzisztorok fejlődési sebességére vonatkoztatott változata, ahol a növekedés ütemét a

$$\frac{dx}{dt} = kx \quad (x: \text{tranzisztorok száma})$$

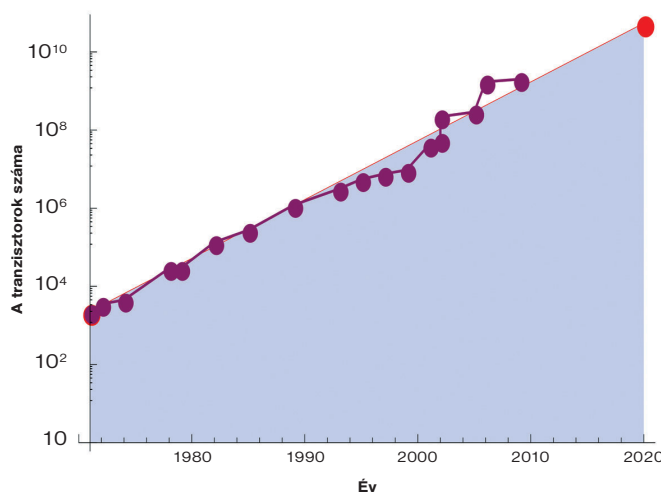
differenciálegyenlet írja le. Az egyenlet szerint a

$$\frac{dx}{dt}$$

növekedési, vagy csökkenési ütem a mindenkori  $x$ -szel arányos, tehát az

$$\frac{1}{x} \cdot \frac{dx}{dt}$$

relatív növekedési, vagy csökkenési ütem



1. ábra. A tranzisztorok számának időbeli növekedése (Moore törvénye) [13]



állandó. Az  $x$  érték kétszereződési, vagy felezési ideje függ a  $k$  paramétertől:

$$k_0 t = \ln 2$$

Az egyenlet megoldásai

$$dx(t) = x_0 e^{kt} \text{ (exponenciális növekedés-nél), illetve}$$

$$dx(t) = x_0 e^{-kt} \text{ (exponenciális csökkenés-nél)}$$

exponenciális függvények.

Általában (a Moore-törvény esetében) a relatív növekedési sebesség csak addig marad állandó, amíg például a tranzisztortechnológia fejlődését megszabó külső körülményekben lényeges változások nem lépnek fel (szilícium  $\rightarrow$  grafén). A Moore-törvény számos más növekedési jelenség jellemzésére is alkalmasnak bizonyult és a növekedés mellett az exponenciális csökkenésre is érvényes [14,15].

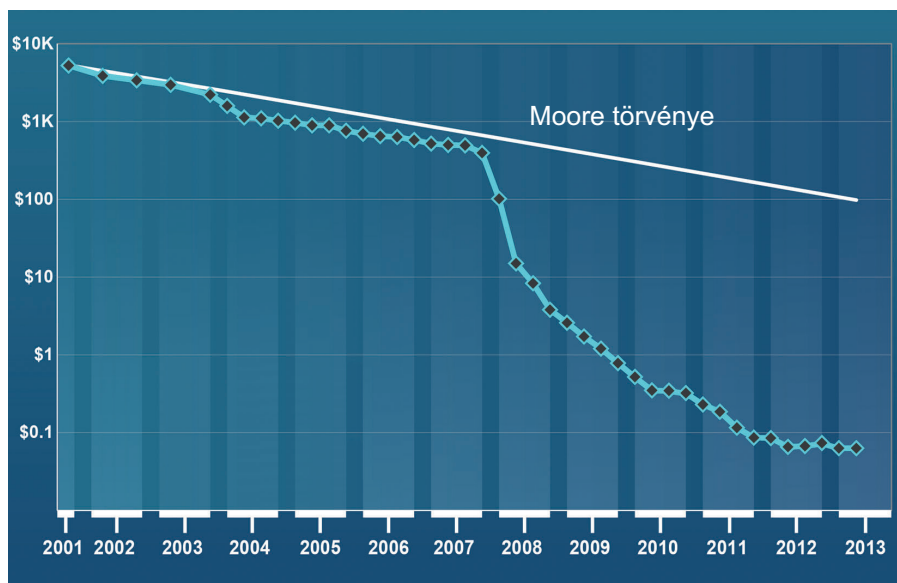
## A genomszekvenálási program

Az egyesült államokbeli Nemzeti Humán Genom Intézet (National Human Genome Institute, NHGI) hatalmas anyagi támogatással (19 millió dollár) már a múlt században kutatási programot indított DNS-szekvenáló technológiák fejlesztésére Genomszekvenálási Program (Genome Sequencing Program) elnevezéssel [16]. Számos éven keresztül az intézet tanulmányozta és követte az intézet által létesített szekvenáló központok DNS-szekvenálásainak költségeit. Az így született információ jelentős összehasonlítási alapként szolgált a DNS-szekvenáló technológiák javításához és a szekvenálási program kapacitásának felmérésére, illetve fokozására [17]. A felmért adatok a következők voltak:

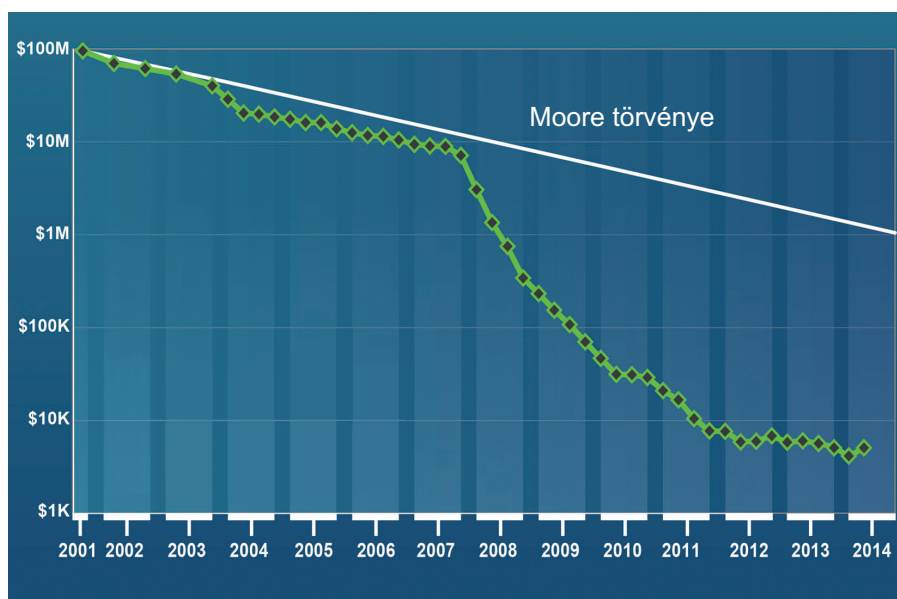
- megabázis (Mb) DNS-szekvenálás költségei, azaz egy megabázis (Mb: egymillió bázis) meghatározott minőségű DNS-szekvenálásának ára,
- ár/genom, azaz egy humán méretű genom szekvenálásának ára.

Az eredményeket a 2. és 3. ábra szemlélteti.

Mint az ábrákon látható, az intézet a 2001 és 2007 közötti időszakra úgy tekintett, és ezt kifejezésre is juttatta, hogy a szédületes sebességű költségszökkenés valóban követte a Moore-féle exponenciális törvényt. De míg a tranzisztorok számának növekedési Moore-törvénye mindmáig, azaz 1965 és 2014 közötti időszakra vonatkozóan érvényesnek bizonyult, addig, mint az ábrákon látható, a DNS-szekvenálási költségek körülbelül 2008-tól kezdődően további, mindmáig tartó még jelen-



2. ábra. Egy megabázis DNS-szekvenancia meghatározási költségének időbeli változása [18]

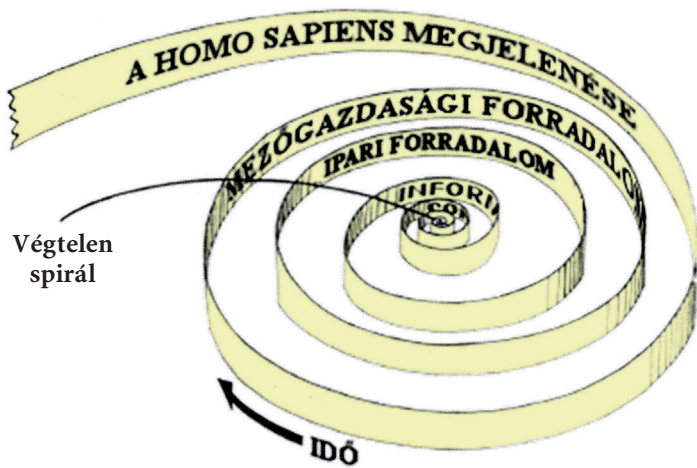


3. ábra. Egy emberi genom méretű genom szekvenálási költségének időbeli változása [19]

több zuhanásba kezdtek, azaz újabb, négy nagyságrendnyi csökkenést mutatnak. Ez természetesen számos, főleg technológiai, gépesítési, automatizálási fejlődési lépés eredménye, de az NHGI a csökkenést főleg a következő, harmadik generációs szekvenálási eljárások és berendezések kialakulásának tulajdonította, amikor a szekvenálási központok az 1975-ben bevezetett Sanger-alapú [20,21] kémiáról és kapilláris műszerekről áttértek az újabb, második, illetve harmadik generációs technológiákra [21].

Bár a 2. és 3. ábrákon bemutatott Moore-törvény szerinti exponenciális költségszökkenést, mint látható, a NHGI csak 2001-

től „könyvelte”, hangsúlyozandó, hogy a csökkenés már a Sanger-szekvenálás (1971) beindulásával elkezdődött [22]. A Moore-törvény által előre látott, és körülbelül 2008-tól kezdődő DNS-szekvenálás költségszökkenési sebesség az exponenciálisnál is gyorsabb, például az úgynevezett technológiai szingularitással is értelmezhető. Ugyanis jövőkutatók, Raymond Kurzweillel az élükön, elméletükben a Moore-törvényt általánosították a technológiai fejlődésre, általában gyorsított exponenciális mintát látva az emberi történelemben. Kurzweil szerint ez az exponenciálisnál is gyorsabb folyamat a 21. században, spirálszerűen, nagyszámú fordulattal egyre rövidebb idő alatt



4. ábra.  
Technológiai  
szingularitási  
spirál [23]

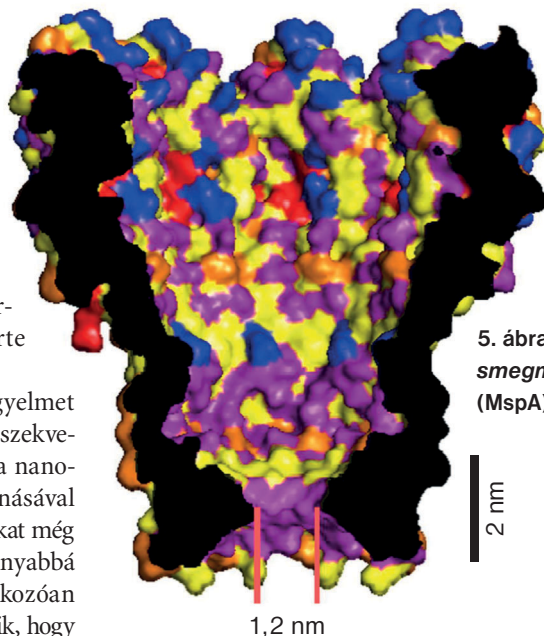
(4. ábra) elképzelhetetlen gyorsaságú technológiai fejlődéshez, szingularitáshoz vezet [23,24].

### A DNS-szekvenálás műszerezettsége, automatizálása és biztató fejlődési irányai

Bár a szekvenálás műszerezettségével és automatizálásával itt nem kívánunk részleteiben foglalkozni, természetesen mindezeknek rendkívül jelentős szerepe volt a szekvenálás sebességének és költségeinek feljebb vázolt gyorsulási fejlődésében. Számos új szekvenálási technológiára épült műszert gyártanak és forgalmaznak világszerte [21,24].

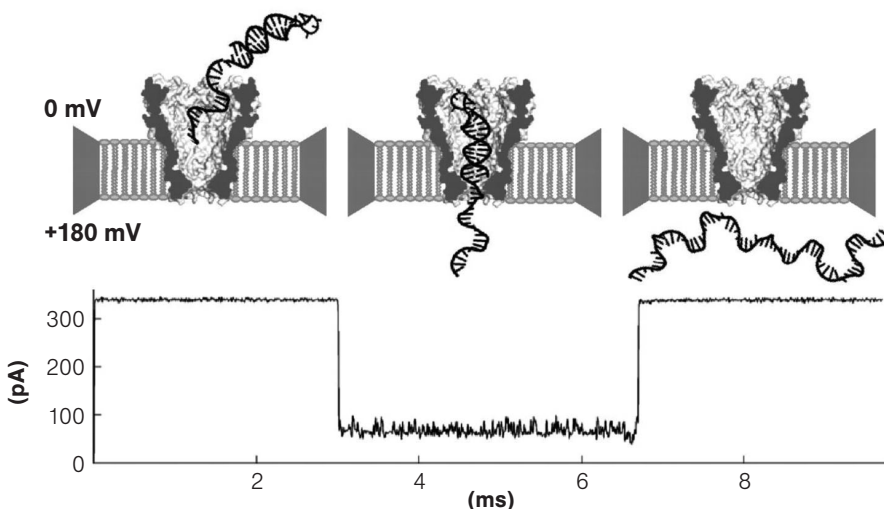
Érdemes azonban bizonyos figyelmet szentelni azoknak az új és biztató szekvenálási technikáknak, amelyekben a nanotechnológia és a biológia összevonásával kísérletek meg szekvenálási eljárásokat még gyorsabbá, pontosabbá és hatékonyabbá tenni. Az új eljárások elvére vonatkozóan szellemes összehasonlításként említik, hogy

amikor meg kívánnánk számolni az emberek számát egy tömegben, akkor például szemre „megsaccolják” a számot, de ez természetesen nagyon pontatlan lesz. Sokkal pontosabb számlálási eredmény érhető el, ha az emberek átmennek egy fordú-



5. ábra. *Mycobacterium smegmatis* porin A (MspA) mikropórus [26]

6. ábra. DNS-szekvenálás MspA-val [26]



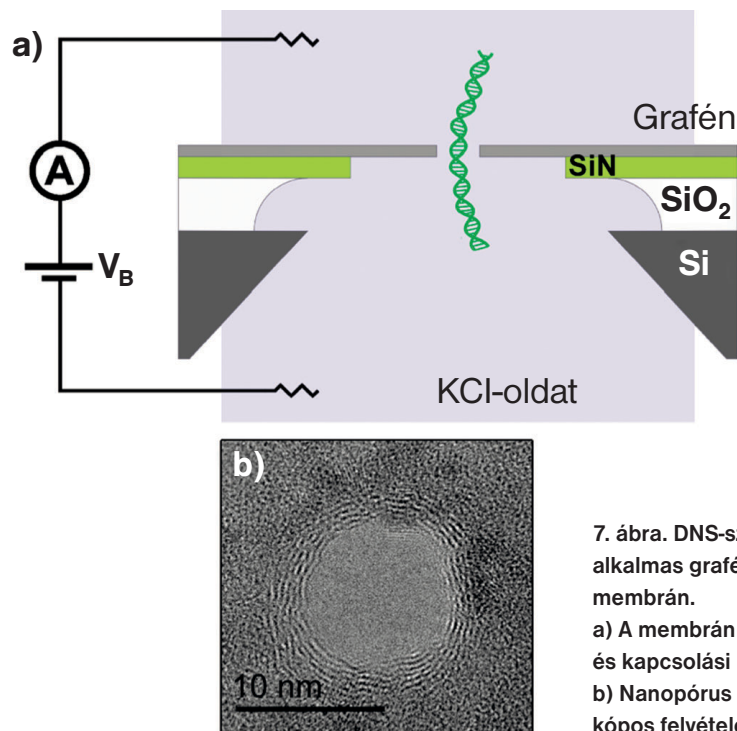
latszámológóval ellátott forgóajtón. Ez utóbbi hasonló ahhoz a modellhez, amelyben olyan „DNS-számlálót” hoztak létre, ami képes egy képzeletbeli forgóajtót helyettesítő, 2 nm-nél szűkebb nanopóruson, vagy lyukon áthaladó egyedi DNS-molekulákat detektálni és megszámlálni, azaz szekvenálni.

2013-ban került nyilvánosságra, hogy a washingtoni Nemzeti Humán Genom Intézet (NHGI) 17 millió dolláros kutatási támogatási projektet hirdetett meg Fejlett DNS-szekvenáló Technológiák (Advanced DNA Sequencing Technologies) programja keretében, amiben hét olyan kutatócsoportot támogat, akik a szekvenálást olcsóbbá, gyorsabbá tételével foglalkoznak. Őt a támogatott projektek közül a nanopórusokra alapozott technológiákkal, míg a többiek mikrofluidikával, csip-alapú, illetve fényalapú szekvenálással közelítik meg a kitűzött célt. A nanopórusos DNS-szekvenálás leegyszerűsőbb módja az, amikor egy egyszálú DNS egyedi nukleotidjai a nanopóruson áthaladva a póruson átfolyó ionos áramot modulálják az áram mérésével lehetővé téve a DNS-szekvenancia mérését. A *Mycobacterium smegmatis* porin A (MspA) baktériumból elkülönített porin A-fehérjével határolt nanopórus (5. ábra) meg tudja különböztetni mind a négy DNS-nukleotidot, és felismeri az egyedi nukleotidokat az egy-

szálú DNS-ben, amikor a kétszálú DNS ideiglenesen rögzíti a nukleotidot a pórusos szűkületben. A DNS-t felépítő mind a négy nukleotid jól elkülöníthető jelet ad, ami oszcilloszkóppal megjeleníthető, és a kijelzőről leolvasható a DNS-szekvenancia (6. ábra) [26].

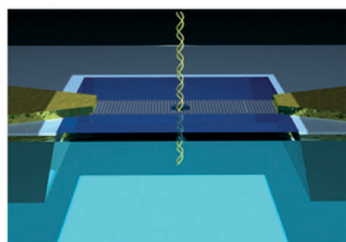
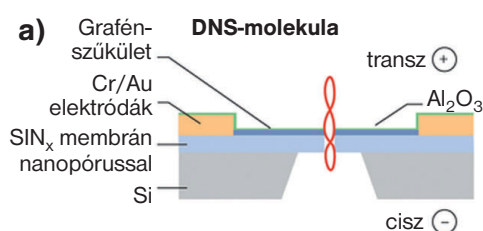
A fentiekhez hasonló lehetőség a baktériumból (MspA) álló biológiai nanopórus helyett szintetikus membránokban kialakított nanopórusok igénybevétele. Eleinte e célból szigetelőkkel, például szilícium-nitriddel [27] vagy szilícium-dioxiddal [28] kísérleteztek, de ezekkel nehézségek adódtak a megfelelő vastagságú membránok előállításánál. A legutóbbi időben azonban több kutatócsoport rátért a grafénmembránok, illetve -szalagok alkalmazásának a vizsgálatára. A grafénmembrán vastagsága 0,335 nm, ami a DNS-ben két bázis közötti távolság. Ezekben a membránokban TEM elektronmikroszkóppal véshtëők megfelelő méretű pórusok, és KCl-oldatban a grafénmembrán lehetővé teszi, hogy az elektromos potenciált közvetlenül a nanopórusnál érzékeljék és ellenőrizzék





**7. ábra. DNS-szekvenálásra alkalmas grafén-nanopórusos membrán.**

**a) A membrán KCl-oldatban és kapcsolási rajz.**  
**b) Nanopórus TEM mikroszkópos felvétele [29]**



**8. ábra. Grafén-nanoszalagos tranzisztor-nanopórus DNS-szekvenáló berendezés.**

**a) Sematikus rajz. b) A berendezés művészi megjelenítése [30]**

(7. ábra) [29]. De 2013-ban javasoltak már olyan eljárást is, amelyben grafén-nanoszalaggal hoztak létre tranzisztor szenzort; a berendezés a DNS-molekulák póruson való áthaladását az ionos áram és a helyi feszültségek csökkenésével egyszerre érzékeli (8. ábra) [30].

## Utószó

A fentiek elsősorban a tudomány, illetve a tudományos kutatás szédületes fejlődését kívánták bemutatni a biokémia, annak egy kiemelten fontos területe, a DNS-szekvenálás példáján. Nem véletlen, hogy a bemutatás a tranzisztortechnológiával való összehasonlítás alapján történt, lévén ez utóbbi a tudományos kutatás fejlődési sebességének szintén kiemelt jelentőségű és égbeszökően gyorsan fejlődő területe. A tranzisztorkutatás fejlődése már önmagában is lélegzetelállító, és a fejlődés ütemének hosszú időn át tartó stabilitása külön figyelemre méltó. A DNS-szekvenálás fej-

lődésének még ennél is sebesebb volta bizonyítja, hogy hová vezethet ez a fejlődés, és felveti a kérdést, hogy van-e, vagy lehet-e ennek feltételezett, vagy előre látható határa.

## IRODALOM

- [1] [http://en.wikipedia.org/wiki/DNA\\_sequencing](http://en.wikipedia.org/wiki/DNA_sequencing) (utolsó hozzáférés: 2014. január 30.)
- [2] <http://en.wikipedia.org/wiki/Genome> (utolsó hozzáférés: 2014. január 17.)
- [3] <http://en.wikipedia.org/wiki/Genome> (utolsó hozzáférés: 2014. január 17.)
- [4] N. Goldman, P. Bertone, S. Chen, Chr. Dessimoz, E. M. LeProust, B. Sipos, E. Birney, Towards practical high-capacity, low-maintenance information storage in synthesized DNA, Nature (2013), 494, 77. <http://www.pkusz.edu.cn/uploadfile/2013/0313/20130313095210302.pdf> (utolsó hozzáférés: 2014. január 17.)
- [5] <http://www.sciencemag.org/content/early/recent/16August2012/Page/1/10.1126/science.1226355>; [http://arep.med.harvard.edu/pdf/Church\\_Science\\_12.pdf](http://arep.med.harvard.edu/pdf/Church_Science_12.pdf) (utolsó hozzáférés: 2014. január 17.)
- [6] Braun Tibor, Adat-, információ-, és ismeretátvitel az örökléssel. Remények kvarkban és DNS-ben. Magy. Kém. Lapja (2013), 68, 376. [http://www.mtak-szi.iif.hu/kszi\\_aktak/doc/BrT\\_32.pdf](http://www.mtak-szi.iif.hu/kszi_aktak/doc/BrT_32.pdf) (utolsó hozzáférés: 2014. január 17.)
- [7] [http://hu.wikipedia.org/wiki/Human\\_Genome\\_Project](http://hu.wikipedia.org/wiki/Human_Genome_Project) (utolsó hozzáférés: 2014. január 17.)

- [8] [http://wikipedia.org/wiki/\\$1,000\\_genome](http://wikipedia.org/wiki/$1,000_genome) (utolsó hozzáférés: 2014. január 17.)
- [9] G. M. Church, Genomes for all. Sci. American (2006) January, 47. <http://arep.med.harvard.edu/pdf/Church05s.pdf> (utolsó hozzáférés: 2014. január 30.)
- [10] M. L. Metzker, Sequencing technologies, the next generation. Nature, Reviews. (2010) 11, 31. [http://eebweb.arizona.edu/nachman/Further%20Interest/Metzker\\_2009.pdf](http://eebweb.arizona.edu/nachman/Further%20Interest/Metzker_2009.pdf) (utolsó hozzáférés: 2014. január 30.)
- [11] E. E. Schadt, S. Turner, A. Kasarkis, A window to third-generation sequencing. Hum. Molec. Gen. (2010) 19, R 227. <http://hmg.oxfordjournals.org/content/19/R2/R227.abstract> (utolsó hozzáférés: 2014. január 30.)
- [12] <http://link.springer.com/protocol/10.1385%2F1-59259-384-4%3A3#page-1> (utolsó hozzáférés: 2014. február 17.)
- [13] G. E. Moore, Electronic Magazine(1965) April 19, 4. [http://large.stanford.edu/courses/2012/ph250/lee/docs/Excepts\\_A\\_Conversation\\_with\\_Gordon\\_Moore.pdf](http://large.stanford.edu/courses/2012/ph250/lee/docs/Excepts_A_Conversation_with_Gordon_Moore.pdf), Intel Corporation, 2005, 1. <https://www.kth.se/social/upload/507d1d3af276540519000002/Moore's%20law.pdf> (utolsó hozzáférés: 2014. január 30.)
- [14] [http://en.wikipedia.org/wiki/File:Moore%27s\\_Law\\_graph.svg](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Moore%27s_Law_graph.svg) (utolsó hozzáférés: 2014. január 30.)
- [15] [http://en.wikipedia.org/wiki/Moore's\\_Law](http://en.wikipedia.org/wiki/Moore's_Law) (utolsó hozzáférés: 2014. január 31.)
- [16] <http://www.genom.gov/10001671> (utolsó hozzáférés: 2014. január 31.)
- [17] <http://www.genome.gov/sequencingcosts> (utolsó hozzáférés: 2014. január 31.)
- [18] [http://www.genome.gov/images/content/cost\\_per\\_megabase\\_apr.jpg](http://www.genome.gov/images/content/cost_per_megabase_apr.jpg) (utolsó hozzáférés: 2014. január 31.)
- [19] [http://www.genome.gov/images/content/cost\\_per\\_genome2.jpg](http://www.genome.gov/images/content/cost_per_genome2.jpg) (utolsó hozzáférés: 2014. január 31.)
- [20] F. Sanger, A. R. Coulson, A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. J. Mol. Biol. (1975) 94, 441. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0022283675902132#> (utolsó hozzáférés: 2014. január 31.)
- [21] F. Sanger, S. Nicklen, A. R. Coulson, DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proc. Natl. Acad. Sci. (1977) 74, 5463. <http://www.pnas.org/content/74/12/5463.full.pdf> (utolsó hozzáférés: 2014. január 31.)
- [22] A. Szopa-Comley, DNA sequencing towards the third generation and beyond. Drug Discovery World (2013) Spring, 29. <http://www.ddw-online.com/enabling-technologies/p211492-dna-sequencing-towards-the-third-generation-and-beyondspring-13.html> (utolsó hozzáférés: 2014. február 13.)
- [23] <http://www.kurzweilai.net/dna-sequencing-cost> (utolsó hozzáférés: 2014. február 3.)
- [24] [http://hu.wikipedia.org/wiki/Technol%C3%B3giai\\_szingularit%C3%A1s](http://hu.wikipedia.org/wiki/Technol%C3%B3giai_szingularit%C3%A1s) (utolsó hozzáférés: 2014. február 3.)
- [25] M. L. Metzker, Emerging technologies in DNA sequencing. Genome Res. (2005) 15, 1767. <http://genome.cshlp.org/content/15/12/1767.long> (utolsó hozzáférés: 2014. február 4.)
- [26] <http://www.pnas.org/content/107/37/16060.long> (utolsó hozzáférés: 2014. február 5.)
- [27] J. Li, D. Stein, c. McMullan, D. Branton, M. J. Aziz, J. A. Golovchenko, Ion-beam sculpting at nanometre length scales. Nature (2001) 412, 166. <http://www.nature.com/nature/journal/v412/n6843/full/412166a0.html> (utolsó hozzáférés: 2014. február 6.)
- [28] A. J. Storm, J. H. Chen, x. S. Ling, H. N. Zandbergen, C. Dekker, Fabrication of solid-state nanopores with single-nanometre precision. Nature, Materials (2003), 2, 537. <http://www.nature.com/nmat/journal/v2/n8/full/nmat941.html> (utolsó hozzáférés: 2014. február 6.)
- [29] C. A. Merchant, K. Healy, M. Wanunu, V. Ray, N. P. Patterman, J. Bartel, M. D. Fischbein, K. Venta, Z. Luo, A. T. Ch. Johnson, M. Drndić, DNA Translocation through Graphene Nanopores. Nano Letters (2010) 10, 2915. <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/nl101046t> (utolsó hozzáférés: 2014. február 6.)
- [30] F. Traversi, C. Raillon, S. M. Benamer, K. Liu, S. Khlybov, M. Tosun, D. Krasnozhan, A. Kis, A. Radenovic, Detecting the translocation of DNA through a nanopore using graphene nanoribbons. Nature Nanotechnology (2013) 8, 939.