

Csermely Péter

Stresszfehérjék

Sejtjeink ősi védekező mechanizmusa

Vince Kiadó

A TUDOMÁNY-EGYETEM sorozat főszerkesztője:
Glatz Ferenc akadémikus

A Természettudomány alsorozat szerkesztője:
Staar Gyula

Tudomány – Egyetem sorozat © Vince Kiadó
A sorozat grafikai terve Haász István,
tipográfiai terve Kempfner Zsófia munkája,
illusztrálta Koltai Éva

© Csermely Péter, 2000

A kötet szaklektora: Vigh László

A borítón a fehérjetekeredés fontosabb állomásai,
a szervezetünket megtámadó baktériumok által fejlesztett
stresszfehérjék, és a stresszfehérjék szerepe a fehérjelebontási
folyamatokban láthatók.

Kiadta: Vince Kiadó Kft.
1027 Budapest, Margit körút 64/B
A kiadásért a Vince Kiadó igazgatója felel
Felelős szerkesztő: Kapitány Katalin
Műszaki szerkesztő: Badics Ilona
Tördelés: Badics és Társa Bt.
Nyomás és kötetés: Szekszárdi Nyomda Kft.

Felelős vezető: Vadász József igazgató
ISBN 963 9192 2x x / ISSN 1417-6114

Tartalom

Előszó

1. Bevezetés

2. Hogyan tekerednek gombolyaggá sejtjeink fehérjéi?

- 2.1. A fehérjék szerkezete
- 2.2. A fehérjéket összetartó erők
- 2.3. A fehérjeszerkezet kialakulása
- 2.4. Mi a stresszfehérjék szerepe a fehérjetekeedésben?
- 2.5. A baktérium máshogy tekeri a fehérjéket mint az ember

3. A stresszfehérjék családjai

- 3.1. A sejtek szemétszedői
- 3.2. A szétcincálók
- 3.3. A huzigálók
- 3.4. Az oxidáció ellen védők
- 3.5. A hajlítógatók

4. A stresszfehérjék feladatai a sejtben

- 4.1. Egy fehérje születése
- 4.2. A citoplazma rendje
- 4.3. Jelátvitel
- 4.4. Membránfoltozás
- 4.5. Hogyan megy át a tevé a tú fokán?
- 4.6. Minőségellenőrzés a sejtben
- 4.7. A selejt sorsa
- 4.8. A sejtmag különös világa
- 4.9. Sejthalál

5. Amikor a sejt bajba kerül

- 5.1. Mit érez bajnak a sejt?
- 5.2. Mi történik, ha bajba kerül a sejt?
- 5.3. Hogyan termelődnek a stresszfehérjék?
- 5.4. A helyreállítás folyamata

6. Stresszfehérjék az orvostudományban

- 6.1. Stresszfehérjék védőhatásai: szívinfarktus, agyvérzés és más bajok
- 6.2. Stresszfehérjék indukciója a szervátültetés során
- 6.3. Segítség a cukorbetegségben
- 6.4. Stresszfehérjék az öregségben, avagy a hosszú élet titkai
- 6.5. Amikor a minőségi kontroll túlzásba megy
- 6.6. Neurodegeneratív betegségek: Alzheimer-kór, Parkinson-kór, prion és társaik
- 6.7. Immunitás – autoimmunitás – stresszfehérjék
- 6.8. A stresszfehérje mint rákgyógyszer
- 6.9. Stressz-chip: a stresszfehérjék jelzőszerepe

7. Stresszfehérjék és evolúció

- 7.1. A stresszfehérjék szerepe a földi élet kialakulásában
- 7.2. A stresszfehérjék mint az evolúciós ugrások segítői
- 7.3. Stresszfehérjék és az eukarióták kialakulása

8. Ahol a stressz mindennapos: élet extrém körülmények között

- 8.1. A hőtűrők
- 8.2. A fagyoskodók
- 8.3. Megnyomottak, beszóztak és sugártűrők
- 8.4. Élet a Földön kívül

9. Zárszó

Függelék

Irodalom

Biológiai szakkifejezések, fogalmak magyarázata

Tárgymutató

Érdekes történetek jegyzéke

Kiegészítő információk jegyzéke

Kérdések jegyzéke

Ábrák jegyzéke

Táblázatok jegyzéke

Előszó

Sejtjeink fehérjéi a földi élet kialakulását és fennmaradását biztosító legfontosabb molekulák közé tartoznak. Nélkülük egyetlen életfunkciónk sem működne, e sorok írója nem írna, az olvasó pedig nem olvasna, mert mindazok a folyamatok, amelyek e tevékenységekhez nélkülözhetetlenek, reménytelenül lassan és térbeli rend nélkül cammognának szervezetünkben. A reakciókat felgyorsító fehérjék enzimek, amelyek mindegyike rendkívül válogatós, csak néhány más molekulával hajlandó kölcsönhatásba lépni, és általában csak egy kémiai folyamat sebességét növeli. Ez a szelektivitás jellemző a sejtjeink szerkezetét kialakító fehérjékre is. Pontos kapcsolódásuk nélkül amőbaként terülnénk szét, és sejtjeink buta hólyagocskákként hömpölyögnének bennünk fel s alá.

Az élethez nélkülözhetetlen fehérjék funkcióit pontos térbeli szerkezetük szabja meg. Az elmúlt két évtized tudományos sikereinek egyike volt, ahogy megfejtették, milyen mechanizmusok szabályozzák a fehérjék szerkezetének kialakulását és az egyedi szerkezet különböző káros hatások utáni helyreterkedését. Az egymást követő felfedezések révén egy olyan ősi védekező rendszerre, a stresszfehérjék családjára bukkantak, amely a törzsfajlás igen korai szakaszától szinte változatlanul segíti a földi élet fennmaradását. Szervezetünk ezen elsődleges védelmi rendszerének felhasználásával az elmúlt néhány évben előbbre léptünk számos betegség: a szívinfarktus, az agyvérzés, a különböző fertőzések, az autoimmun betegségek, a cukorbetegség és a rák gyógyítása terén.

Több mint tíz éve, az inzulin hatására kialakuló jelátviteli folyamatok kutatása közben, mondhatni véletlenül nyertem bepillantást a stresszfehérjék világába. A téma már a kezdeti kísérletek közben megfogott sokrétűségével, izgalmával. A stresszfehérjék nagyon ravaszak: szinte soha nem úgy viselkednek, ahogy várná az ember. Ugyanakkor kutatásuk közben a magamfajta matató a legelméletibb fejtegetésektől a legköznapiabb alkalmazásokig mindenfélét bekeáshatja magát. A sokrétűség miatt a stresszfehérjék igényes vizsgálata nemegyszer olyan általános kérdésekhez vezet, amelyeket sajnos napjainknak a részletekben elvesző kutatója mellőzni hajlamos. Ezt az izgalmas területet foglalom össze munkámban. Ha az ember egyidős az első fehérjeszerkezet meghatározásával (Kendrew és mtsai., 1958), e könyv megírásának idején már lehet, hogy okos, de szinte biztos, hogy még nem bölcs. Emiatt meggondolandó, hogy szerencsés-e ilyen félkész állapotban könyvírásba bonyolódni. Mentségemre azért felhozom, hogy a kötetet a sok éven át előadott, és évente soktucat hallgató – köztük számos bölcsész – által

látogatott előadássorozatomban alapján írtam, ahol a nagyobb bakik és a területtel ismerkedő neofita buzgalom túlzásai már kipotyogtak. Így remélem, hogy – zsenge korom ellenére – a fejezetekben az olvasónak sikerül ízelítőt adnom mind a témával kapcsolatos konkrét ismeretekről, mind választ keresnem az ezek által felvetett általános kérdésekre. Ha ezen felül még abból az önfelelt örömből is át tudok adni valamit, amit a fehérjék kutatása és a könyv megírása számomra jelent, munkám nem volt hiábavaló.



Érdekes történetek. A tudomány mai állásának ismertetése mellett néha a fantáziám szárnyalni hagyom és mesélni kezdek. A korrektség érdekében azonban ezeket a részeket (Rodolfó és Koch Sándor – 1999 – után szabadon: „Csak a kezem nézzék, vigyázat, csalog!”) a bal oldali kis emberkével (vidorka) jelölöm. Így ezek a részek igen fontos dolgokat mesélnek el, de nem biztos, hogy holnap is igazak lesznek.



Kiegészítő információk. Azok a részek, amelyek mellett egy kedvetlen kisember (szomorka) található, holnap is igazak lesznek, de közérdeklődésre valószínűleg számot nem tartó dolgokat tartalmaznak. Így ezeket a kisbetűs szakaszokat csak az olvassa el, akit a téma mélységeiben is jobban érdekel.



Kérdések. A tudományban az egyik legfontosabb dolog az, hogy megtanuljunk kérdezni. Buta kérdésre a természet nem ad választ, ahhoz pedig, hogy jó kérdést tegyünk fel, sokszor évek munkája szükséges. Ez az egyik oka annak, hogy néhány kérdést a szövegből kiemeltem, és a mellékelt kisemberrel (tudorka) külön is felhívtam rá a figyelmet. A kérdések hangsúlyozásának másik oka az, hogy újra és újra kiderüljön: a tudás nem lehet soha végleges, lezárt. Különösen igaz ez a stresszfehérjék területére, ahol – az intenzív fejlődés miatt – még a szokásosnál is gyakrabban kell átértékelni addigi ismereteinket. Ha az Olvasónak a kérdésekre bármilyen jó válasza van, kérem keressen meg az oldal alján található címek egyikén.

Itt szeretnék köszönetet mondani mindenkinek, aki a könyv megjelenését segítette. Elsősorban a Vince Kiadónak, Staar Gyulának, Kapitány Katalinnak és számos tanítványomnak bátorításukért, unszolásukért, Koltai Évának a nagyszerű illusztrációkért, Vígh Lászlónak a korrekt és részletes lektori véleményért, családomnak a megírás alatti türelemért, és nem utolsósorban annak a munkatársakból, egyetemistákból és középiskolásokból verbuválódott csapatnak (Horváth Péter, Hosszú Krisztina, Müller Viktor, Papp Dóra, Paragh György, Perjés Ábel, Rácz Attila, Schnaider Tamás, Söti Csaba és Tóth Gergely) a megjegyzéseiért, akik segítettek a szöveget még érthetőbbé, olvashatóbbá varázsolni. Hogy mekkora sikerrel, arról nagyon nagy örömmel fogad bármilyen észrevételt a szerző:

Budapest, 2000. április
Péter

Csermely

postacím: 1444 Budapest, pf. 260.
drótposta: csermely@puskin.sote.hu
honlap: <http://www.chaperone.sote.hu>

1. Bevezetés

Amitől nem kell nyomban elkeseredni

A stresszfehérjéket a szakirodalom igen sok névvel illeti. Emiatt úgy érzem, hogy érdemes ezeket az elnevezéseket (lásd *1. táblázat*) egy kicsit körbejárni. A stresszfehérje elnevezésben a „stressz” a fehérjék termelődésére utal, ugyanis minden, a sejtre nézve káros hatás után ezen fehérjék szintézise figyelhető meg. A legtöbb károsító hatásra adott sejtvesztés során a stresszfehérjék szintézise fokozódik, ami azért is szembeszökő, mert ilyenkor a többi fehérje képződése jórészt leáll, és így a stresszfehérjék lesznek szinte az egyedüli fehérjék, amelyek keletkeznek. (E folyamat részleteivel az 5. fejezetben foglalkozom.) A legelső stressz, ahol e fehérjék keletkezését és fontos védő szerepét felismerték, a hősokk volt. Emiatt a stresszfehérjék számos képviselőjét hősokkfehérjének hívják, amely angolul elnevezése „Heat shock protein”, rövidítve Hsp. A sejt azonban szinte mindent, ami a környezet hirtelen változásaként jelentkezik, stresszként él meg. Így stressz, ha elfogy az oxigén, de az is, ha újra megérkezik. Stresszválasz keletkezik akkor is, ha a diák vizsga előtt áll, de akkor is, ha vizsga után leissza magát. Néha a túltermelést okozó legjellemzőbb stresszválasz alapján kapta az adott fehérje nevének, így számos fehérjét glukóz-regulált fehérjének (Glucose regulated protein, Grp) hívnak stb.

Hogy a helyzet még bonyolultabb legyen, a stresszfehérjéket szintézisük legjellemzőbb oka mellett funkciójuk alapján is elnevezik. Mint ahogy majd a 2.4. fejezetben részletesen kifejtem, a stresszfehérjék egyik legfontosabb feladata, hogy más fehérjék tekeredését elősegítsék. Erre a funkcióra utalva a stresszfehérjéket molekuláris chaperonoknak is nevezik. (A chaperon francia eredetű szó, gardedámot jelöl. A gardedám az az idős hölgy volt, aki a bálozó fiatal lánykakat kísérte, és ügyelt a leányzók tisztességére. A sejtben a molekuláris chaperonok feladata hasonló. Védniük kell az ártatlan fehérjéket attól, hogy alkalmatlan partnerekkel tartós komplexet képezzenek, uram bocsá' tisztességtelenül összeragadjanak, azaz aggregáljanak.) A stresszfehérjék funkciójáról a bevezetőt követő három fejezetben olvashatnak részletesebben. A molekuláris chaperon kifejezés magyar fordítása egy általam ugyan nem ismert, de nagyra becsült debreceni nyelvújító leleménye, a dajkafehérje. Noha a kifejezés nem oly frivol, mint angol megfelelője, mégis nagyszerűen utal a stresszfehérjék bensőséges kapcsolatára a tapasztalatlan, védelemre szoruló többi fehérjével.

Idáig jutva az olvasónak feltételezhetően már zsong a feje a megnevezésektől és a pokolba kíván minden nyelvújítót, ezek közé valamilyen díszkondérba lelkesen elhelyezve a könyv szerzőjét is. Mentségemre csak annyit mondhatok, hogy ígéretet teszek a fantáziátlan szószerzésre ezen a területen, és szinte minden előfordulásnál az *1. táblázatban* szereplő seregletet egyszerűen és kizárólag stresszfehérjének fogom hívni. Akik visszaemlékeznek az általános iskolai fogalmazásórák „Szóisméltés!!!” című égvörös

aláhúzásaira (esetleg maguk is szoktak volt ily módon húzigálni), azoktól előre elnézést kérek. Szintúgy a területen jártas kollégáktól, akik jól tudják, hogy nem minden stresszfehérje chaperon, nem minden stresszfehérje hősokkfehérje, nem minden chaperon stresszfehérje, és így tovább. Az elnevezések az 5. fejezet olvasása után világosabbá válnak majd.

1. táblázat. A stresszfehérjék elnevezései

A szintézisre utaló nevek	A funkcióra utaló nevek
stresszfehérjék hősokkfehérjék Heat shock proteins (Hsp) glukóz-regulált fehérjék Glucose regulated proteins (Grp)	molekuláris chaperonok= =dajkafehérjék

A könyv utolsó részeiben a stresszfehérjék hasznáról lesz szó. Arról, hogyan segítenek e fehérjék minket, a Föld régebbi és jelenlegi élőlényeit abban, hogy alkalmazkodjunk a folyamatosan változó körülményekhez és betegségeinkhez. Ahhoz azonban, hogy a stresszfehérjéket például az orvostudományban alkalmazni tudjuk, jó lenne ismerni funkciójukat, hiszen csak így várható, hogy használat közben nem érnek majd kellemetlen meglepetések. Mivel a funkció jelentős része a fehérjék tekeredésével függ össze, a második fejezet jelentős része a fehérjék szerkezetének kialakulását követi nyomon.

2. Hogyan tekerednek gombolyaggá sejtjeink fehérjéi?

A bevezetőben utaltam arra, hogy a stresszfehérjék legfontosabb funkciója a sejtjeinkben keletkező vagy elromlott fehérjék betekeredésének segítése. Miért kell segítség a betekeredéshez? Egyáltalán: hogyan tekerednek be a fehérjék? Milyen szerepet játszanak ebben a stresszfehérjék? Ezen kérdések megválaszolásához szükség van arra, hogy áttekintsük a fehérjék szerkezetének legfontosabb ismérveit.

2.1. A fehérjék szerkezete

Kémiai szerkezetüket tekintve (és a térszerkezetről most megfeledkezve) a fehérjék olyan lineáris makromolekulák, amelyek akkor keletkeznek, ha az aminosavak peptidkötésekkel egymáshoz kapcsolódnak. Valahol 10 000 és 20 000 Dalton (10-20 kiloDalton, azaz rövidítve: kDa) molekulatömeg között lehet az a határ, ami felett a polipeptideket már fehérjének nevezzük. A valóságban a fehérje persze nem vonalszerű. Minden, egymástól különböző aminosavsorrenddel jellemezhető fehérje egyedi, mind a fehérjére, mind pedig a fehérje aktuális környezetére jellemző térszerkezetet vesz fel. Ilyen térszerkezetekből már sok tízezernyi atomi pontossággal ismerünk. Mit lehet ezek után a szerkezetről mondani? Annyit, hogy szép. Esetleg: tessék megnézni az adatbázisban. Okosakat mondani akaró könyv azonban nem elégedhet meg ennyivel. Így megpróbálja kihalászni azokat az általános elveket, amelyek alapján a szerkezet felépül. Mivel az Egésszel a tudományos megismerés nem tud mit kezdeni (az EGÉSZ-et leíró struktúrálatlan ismeretek közvetítésére a művészetek és a vallás a tudománynál sokkal alkalmasabbak), részekre kell ezt is osztanunk. A fehérjeszerkezetet általában négy (manapság már öt) szerkezeti szintre osztjuk (2. táblázat). Mint az már az eddigiekből is kiderült, meggyőződésem, hogy a szétosztogatás valahol nagyon nem helyes, de emberi korlátozottságunkban a megismerést mindenesetre könnyebbé teszi.

A továbbiakban e felosztás szerint foglalom össze az egyes szerkezeti szintekről elmondható legfontosabb (és legalábbis számomra legérdekesebb) tudnivalókat.

2. táblázat. A fehérjék szerkezeti szintjei

A szerkezeti szint neve	Jelentés
elsődleges szerkezet	a fehérje aminosavsorrendje
másodlagos szerkezet [harmadfeledleges szerkezet	α -hélix, β -redős lemez, β -kanyar másodlagos szerkezeti elemek csoportjai]
harmadlagos szerkezet	egyláncú fehérje teljes térszerkezete
negyedleges szerkezet	komplex fehérje teljes térszerkezete

Mit tudhatunk meg a fehérjék aminosav-sorrendjéből?

A legegyszerűbb válasz: mindent. Mint később látni fogjuk, a fehérjék aminosav-sorrendje (például vizes közegben) szinte teljesen meghatározza szerkezetüket és tulajdonságaikat. Ismereteink, módszereink gazdagodásával hamarosan olyan szintre érünk, ahol az új fehérje „jellemrajzát” a korábban felderített fehérjék szerkezetének hasonlóságai alapján (pusztán a felépítő aminosavak sorrendjének ismeretében) szinte teljes mértékben meghatározhatjuk.

A másodlagos szerkezet megjósolható. Egészen egyszerű algoritmusokkal is becslés adható arra, hol várható az α -hélix, a β -redős lemez, illetve a β -kanyar szerkezet megjelenése a fehérjén belül (Chou és Fasman, 1974; Garnier és mtsai., 1976). Az újabb eljárások az egyes aminosavak hélixképző vagy redős lemezképző hajlama helyett az egyedi téralkatok energetikai viszonyait is figyelembe veszik, és számos esetben a szerkezetjólásban neurális hálózatszerű „tanuló” programokat is felhasználnak (Brenner, 1992; Eisenhaber és mtsai., 1996; Munoz és Serrano, 1994; Ouali és King, 2000; Rost és Sander, 1993). Így a korábbiaknál sokkal pontosabb becslések tehetők.

A harmadlagos szerkezet becsülhető. Az utóbbi években születtek azok a módszerek, amelyek segítségével a fehérjék aminosavsorrendjéből harmadlagos, azaz teljes térbeli szerkezetükre lehet következtetni. A harmadlagos szerkezet jóslásának — az elméleti biokémikusok esztétikai élvezetén túl — azért van nagy jelentősége, mert e struktúra leggyakoribb kísérletes meghatározásához (amely a röntgensugarak szóródásából következtet a fehérje szerkezetére) a fehérjét kristályosítani kell. Megfelelő nagyságú kristály növesztéséhez sokszor évekre van szükség. (A hosszú gürcölés után kifejlesztett kristályok általában magas víztartalmúak, így néha előfordul, hogy a kézbevétele során a szemünk láttára mállanak szét. Minden tisztelet tehát e szép és hazánkban is felfutóban lévő szakma művelőinek.) A harmadlagos szerkezet meghatározásának másik ismert módszere a magmágneses rezonancia spektroszkópia (NMR), ami ugyan oldott fehérjét igényel, de a mérés során kapott hatalmas adatmennyiség miatt ezzel a módszerrel ma még csak nagy nehézségek árán lehetséges a 40-50 kDa-nál nagyobb fehérjék szerkezetének meghatározása.

Az aminosavsorrendből a harmadlagos szerkezetre az aminosav-oldalláncok kölcsönhatása során fellépő különböző erők becslésével és a fehérjelánc

energiájának minimalizálásával következtethetünk. Más módszerek a fehérjeszerkezet kialakulása során fellépő entrópiaváltozásokat (lásd később) is figyelembe veszik. A legújabb eljárások segítségül hívják az alakfelismerésre alkalmasabb, úgynevezett „logikai” számítógépeket is. E módszerek jelenleg csak akkor vezetnek sikerre, ha ismert valamilyen hasonló fehérje pontos szerkezete (Abagyan és mtsai., 1994; Brenner, 1992; Peitsch, 1995; Rost és Sander, 1993). Mivel azonban a fehérjék meglepően kevésfajta (jelenlegi ismereteink szerint néhány tucat) alapváz szerint tekerednek (Orengo és mtsai., 1994), ez — az első ránézésre igen szigorú feltétel — már ma is nagyon sok fehérje háromdimenziós szerkezetének becslését teszi lehetővé.

Következtethető a fehérjemolekula elhelyezkedése a sejten belül. (a) Az aminosavsorrend alapján eldönthető, hogy a fehérje membránba ültetetten vagy szabadon fordul-e elő a sejtben. A lipideknek a membránok közepén elhelyezkedő szénhidrogénláncai nem képesek hidrogénhid-kötések kialakítására. Így ahhoz, hogy a *fehérjemolekulák a membránba épülhessenek*, olyan hidrofób szakasznak kell lennie aminosavsorrendjükben, amely eleget tesz annak a kritériumnak, hogy nincs szüksége a környezetével alkotott hidrogénhid-kötésekre. Az ilyen szakaszok (20 aminosavnál többet tartalmazó hidrofób α -hélixek, illetve α -helikális, β -redős lemez részletek kombinációi) kialakulása az aminosavsorrend ismeretében megjósolható (Kyte és Doolittle, 1982). **(b)** Az eukarióta sejtek számos membránnal határolt sejt szervecskéből (sejtmag, mitokondrium, lizoszóma, endoplazmatikus retikulum, peroxiszóma stb.) épülnek fel. A sejt szervecskéik belsejébe a frissen szintetizált fehérjemolekulák különböző transzportrendszerek segítségével jutnak be (lásd 4.5. fejezet). A transzportrendszerek a szállítandó fehérje rövid aminosavszakaszait, úgynevezett *transzportszignáljait* ismerik fel. Így a fehérje aminosavsorrendje által kódolt transzportszignálok felvilágosítást adhatnak a fehérje elhelyezkedésére a sejten belül.



Honnan tudja a fehérje, hogy merre kell elindulnia?

Megjósolható a fehérjemolekula stabilitása. Szervezetünk fehérjeit életük során különböző káros hatások (például oxidáció, cukoraddíció, részleges denaturáció stb.) érik. Emiatt szükségessé válik a funkciójukat kevésbé vagy egyáltalán nem betöltő fehérjemolekulák lebontása, amit a sejt lizoszomális vagy a lizoszómákon kívül működő fehérjebontó (proteolitikus) rendszerei végeznek. A részleges vagy teljes proteolízis jónéhány esetben (például a sejt ciklust szabályozó ciklinek lebontásakor) fontos szabályozó szerepet tölt be. A fehérjemolekulák féléletideje a percek és a napok között változik. Bizonyos aminosavak (például prolin-glutaminsav[asparaginsav]-szerin-treonin tartalmú, az aminosavak egybetűs kódjával az angol pestis szóval megegyező PEST-nek rövidített) szigetei igen labilissá teszik az őket tartalmazó fehérjéket. Ennek valószínű oka az, hogy különböző proteázok ezeket a szekvenciákat ismerik fel. A gyors fehérjebontásra utaló szekvenciákat *degronoknak* hívják (Laney és Hochstasser, 1999). Ezek és más szerkezeti jellemzők alapján az aminosavsorrendből a fehérje várható élettartamára is következtethetünk.



Mi alapján válogatódnak ki a hosszú életű fehérjék?

Felsorolhatók a fehérje funkcióját szabályozó legfontosabb folyamatok. A fehérjék szintézisük után számos, úgynevezett poszttranszlációs módosuláson (például foszforiláción, glikoziláción, lipidaddíción, metiláción, szulfátaddíción stb.) mennek keresztül. Az ezeket a folyamatokat katalizáló enzimek csak bizonyos, meghatározott fehérjerészleteket ismernek fel, így a fehérjék aminosavsorrendjéből későbbi módosulásai is megjósolhatók. A poszttranszlációs módosítások a fehérjefunkciók szabályozásának legfontosabb eszközei közé tartoznak.

Ötleteket kaphatunk a fehérje funkciójára. Az aminosavsorrendből nyerhető információk közül a legfontosabbat, a fehérje funkciójának, aktivitásának jóslását az információk értelmezését bemutató rész végére hagytam. A későbbiekben részletesebben is kifejtem, hogy a fehérjék bizonyos szakaszai (doménjei) meglehetősen változatlansággal őrződtek meg az evolúció során. Ebből fakadóan számos fehérjeszerkezeti elemhez meghatározott fehérjefunkciók (például más molekuláknak: fehérjének, DNS-nek, RNS-nek, ionoknak a kötése vagy bizonyos enzimaktivitások) rendelhetők. Ma már jónéhány olyan komplex informatikai szolgáltatás létezik, ahol a beküldött aminosavsorrend alapján a fehérje egész „jellemrajzát” visszaküldik (Combet és mtsai., 2000; Hoersch és mtsai., 2000; Peitsch, 1995).

A fehérjék aminosavsorrendjéből nyerhető információsereg nemcsak azért fontos, mert a szekvencia analízisével a fehérje egész „jellemrajzát” a kezünkbe adja, hanem a különböző genetikai manipulációkkal megteremti a lehetőségét bizonyos fehérjetulajdonságok tervezett és célzott megváltoztatásának is. A Human Genom Projecttel (HUGO), azaz a teljes emberi genom szekvenciájának felderítésével egyre több olyan fehérje aminosavsorrendjét ismerjük meg, amelyet még soha senki nem különített el, nem analizált. Az említett módszerekkel nyerhető információk (amelyek kezelésével egy egész új tudományterületet, a bioinformatika foglalkozik) hozzásegítenek ahhoz, hogy ezen funkciótlan fehérjék tényleges fiziológiai szerepét hamarabb megtalálhassuk.

A fehérjék másodlagos szerkezete

Mint az a 2. táblázatban már szerepelt, a fehérjék másodlagos szerkezetét az egymáshoz kapcsolódó aminosavak által meghatározott α -hélix, β -redős lemez, illetve β -kanyar szerkezeti elemek jelentik. Ahhoz, hogy megértsük, ezek a szerkezeti elemek hogyan jöhetnek létre, érdemes megismerkedni a fehérjealkotó aminosavakat összetartó peptidkötés néhány tulajdonságával. Akit azonban a kémiaibb fejtegetések kevésbé hoznak tűzbe, nyugodtan ugorja át a következő bekezdést.

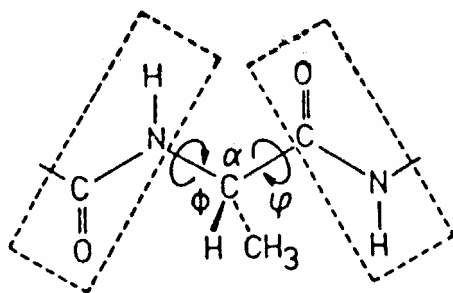


A peptidkötés és a Ramachandran-diagram. A peptidkötés (1. ábra) kialakulása során egy molekulányi víz kilépése közben az egyik aminosav karboxil ($-\text{COOH}$) csoportjából egy karbonil ($>\text{C}=\text{O}$) csoport, a másik aminosav aminocsoportjából ($-\text{NH}_2$) pedig

egy >NH csoport keletkezik. Az >NH csoport nitrogénatomján a három kötő elektronpár mellett még egy nemkötő, magányos elektronpárt is találhatunk. Ez az elektronpár azonban nem csak a nitrogénatom erőterében tartózkodik, hanem közös elektronpályára lép a karbonilcsoport második kötését képző két elektronnal is, azaz szakkifejezéssel: delokalizálódik. Az elektronok három atomra (N,C,O) kiterjedő delokalizációja miatt a peptidkötés planáris, merev szerkezetű. Így a fehérjék peptidláncában forgás csak az aminosav-oldalláncokat hordozó, úgynevezett α -szénatom melletti két kötés mentén lehetséges (1. ábra). Ezen két kötés helyzetét jellemző szögpar azonban a peptidkötést alkotó csoportok és az aminosav-oldalláncok térigénye miatt nem vehet fel tetszőleges értékeket. Ha a fehérjékben ténylegesen előforduló szögparok értékeit ábrázoljuk, az úgynevezett *Ramachandran-diagram*hoz jutunk (2. ábra). A Ramachandran-diagramot megfigyelve azt tapasztalhatjuk, hogy a lehetséges szögparok zöme viszonylag kis szigetekre koncentrálódik. Egy-egy ilyen sziget egy meghatározott másodlagos fehérjeszerkezeti elemnek (α -hélix, β -redős lemez, β -kanyar, illetve más típusú hélixek) felel meg.

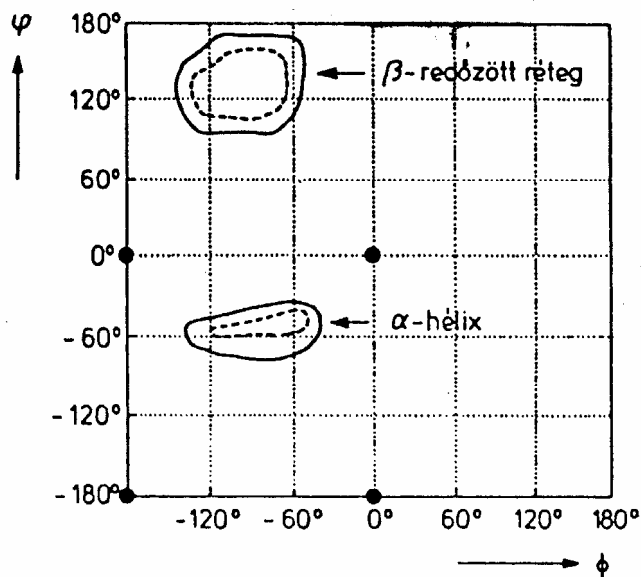
A peptidkötésre vonatkozó eszmefuttatás csak azt kívánta bizonyítani, hogy az α -hélix, β -redős lemez, illetve β -kanyar szerkezeti elemek a fehérjékben nemcsak valamiféle hóbort, szépségre törekvő hajlam vagy az α -hélixeket először leíró *Linus Pauling* és *Robert Corey* (Pauling és mtsai., 1951) Nobel-díj vágya miatt jöttek létre, hanem azért is, mert ezek azok az egyedül lehetséges szerkezeti elemek, amelyeket az alkotó aminosavak térbeli kiterjedése megenged. Nos, ha legújabb legonkban csak ezek az elemek találhatóak, ideje, hogy részletesebben is megismerkedjünk velük.

Az α -hélix. Az α -hélixet (3. ábra) alkotó aminosavak olyan jobbmertes spirált hoznak létre, amelynek a menetemelkedése körülbelül 3,4 aminosav. Így az α -hélixben megközelítően minden hetedik aminosav egymás fölött található. A hélixet a tengelyével közel párhuzamos hidrogénhid kötések tartják össze. (A hidrogénhid kötések részletes ismertetésére a 2.2. fejezetben térek ki.) Az α -hélixek elektromosan nem semlegesek, hanem dipólusok. Ez azt jelenti, hogy a (képzelt) szabad α -aminocsoportot tartalmazó N-terminális régiójuk hozzávetőlegesen +0,5, a szabad karboxilcsoportot tartalmazó C-terminálisuk pedig körülbelül -0,5 töltéssel rendelkezik.



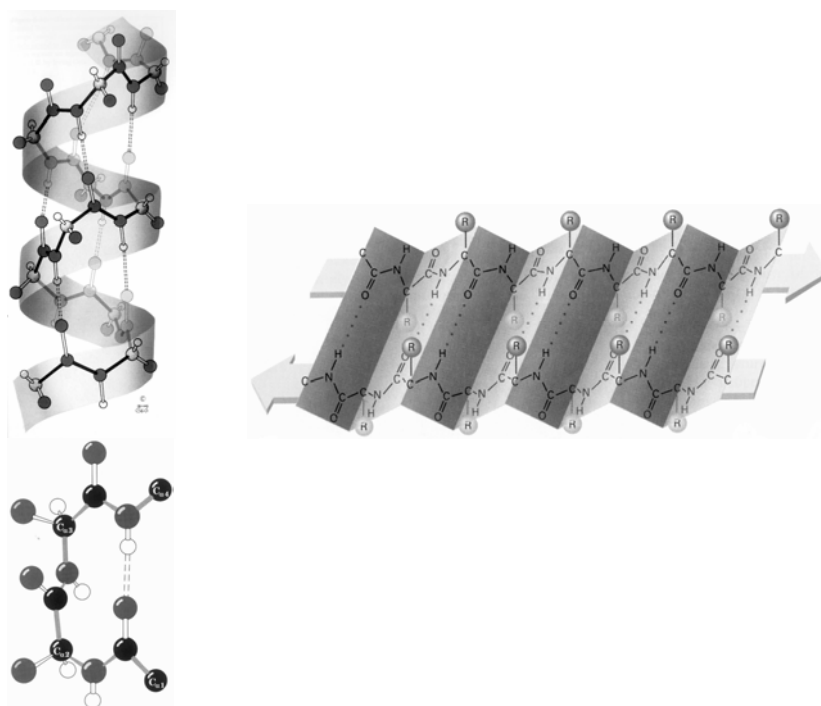
1. ábra. A peptidkötés

Az ábrán a két sík a peptidkötés geometriai elrendezésére utal, a ϕ és ϕ' szögek pedig az α -szénatom melletti egyszeres kötések forgásszögeit jelölik



2. ábra. A Ramachandran-diagram.

A diagram az aminosav-oldalláncok melletti α -szénatom peptidláncbeli kötéseinek lehetséges ϕ és ψ térszögeit tünteti fel (Ramachandran és Sasisekharan, 1968 után). A β -kanyar a β -redőzött réteg területén található. (Az ábra bővebb magyarázata a szövegben.)



3. ábra. A fehérjék másodlagos szerkezetének α -hélix, β -redős lemez, illetve β -kanyar szerkezeti elemei

Az α -hélix elektromos résztöltései miatt a hélix N-terminális végén elhelyezkedő savas aminosavak (aszparaginsav, glutaminsav) és a C-terminális végén elhelyezkedő bázikus aminosavak (lizin, arginin) töltéskiegyenlítő hatásukkal stabilizálják a helikális szerkezetet. Nem mondható ez el a glicinről és a prolinról. Az oldalláncként csupán egy protont tartalmazó glicin túl hajlékony molekula ahhoz, hogy a hélixekben jól érezze magát. Az egyetlen

olyan gyűrűs aminosav, amelyben a peptidkötést létesítő nitrogénatom is a gyűrű része, a prolin, ami pont az ellenkező végletet képviseli: a prolin azért hélixtörő, mert túlzottan merev szerkezete nem tudja felvenni a hélix által megkövetelt formációt. Ráadásul a hélixekeket összetartó hidrogénhid kötésekben hidrogéndonorként nem tud részt venni, mivel >NH csoportjáról a hidrogén hiányzik.

A β -redős lemez. A β -redős lemezben (3. ábra) az aminosav-sorrendben egymástól távolabb lévő peptidkötések között alakulnak ki a hidrogénhid kötések. A hidrogénhidak itt a β -redős lemez tengelyére merőleges irányban találhatóak és a peptidlánc sokkal nyújtottabb állapotban helyezkedik el, mint az α -helicális struktúrában. A β -redős lemezben a peptidláncok lefutása egymással párhuzamos (parallel) vagy ellentétes (antiparallel) lehet aszerint, hogy a két egymáshoz kapcsolódó peptidlánc N-terminális (képzeltbeli szabad aminocsoportot tartalmazó) végei egymás mellett vagy egymástól távol helyezkednek el (3. ábra).

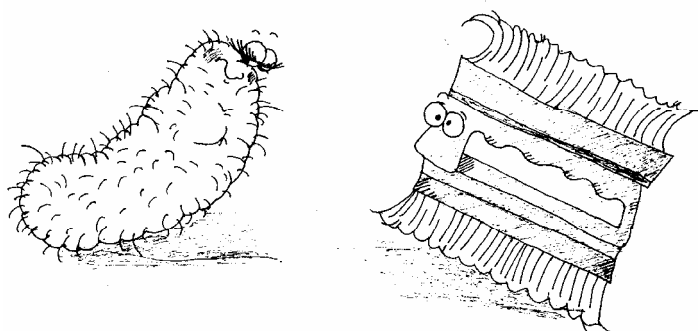
A β -kanyar. Négy aminosav a 3. ábrán bemutatott módon β -kanyar (β -görbület, β -turn) struktúrát képezhet. A β -kanyart az első és a negyedik aminosav közötti hidrogénhid kötés tartja össze. A β -kanyarban a polipeptidlánc megfordul, emiatt ezek a szerkezeti elemek igen gyakran a fehérjemolekula külső részén találhatóak. A fehérjefelszínen megjelenő β -kanyar részletek részt vesznek a fehérjemolekulák egymáshoz kötésében. Sejtjeinkben igen sok jelátviteli folyamat fehérjekomplexek kialakulásával és elbomlásával jár. E molekuláris történésekben számos esetben a felszíni β -kanyarok kitüntetett szerepet játszanak. A fehérjékben a β -kanyarnál egy aminosavval rövidebb γ -kanyar is előfordulhat.

A másodlagos szerkezeti elemek közül az α -hélixben a hélix terjedelmesebb aminosav-oldalláncai számos térállásban a peptidlánchoz közel kerülhetnek. Emiatt a nagyobb térigényű oldalláncok csak nagyon kevés térállásban fordulhatnak elő, forgási szabadságuk kicsi. Ez a hatás kedvezőbbé teszi a β -redős lemez vagy a β -kanyar szerkezeti elemek kialakulását, ahol a megnyúlt struktúra miatt még a terjedelmesebb oldalláncok sem ütköznek, kocognak a peptidlánccal. Ugyanakkor a kialakuló hidrogénhidak szerkezet az α -hélixben sok esetben nagyobb stabilizáló erőt képviselhet, mint a β -redős lemezben vagy a β -kanyarban (Srinivasan és Rose, 1999). Valószínűleg e két, egymás ellen ható stabilizációs lehetőség versengése az, amely eldönti, hogy a lehetséges két fő térszerkezeti forma, az α -helicális és a kinyújtott, β -kanyar-jellegű közül melyik alakul ki. Ha a két szerkezet kiegyenlítően fordul elő, a fehérjerész valószínűleg nem vesz fel konkrét másodlagos szerkezetet, rendezetlen marad. Mivel az egyedi hidrogénhid kötések a β -redős lemezek egy részében rövidebbek, és ezáltal erősebbek, mint az α -hélix hidrogénhid kötései (Maktahadze és mtsai., 1994), nem meglepő, hogy sok fehérjeszerkezetben (így a 6.6. fejezetben bemutatott prionok esetén) a β -redős lemez struktúra stabilabb az α -helicális formánál. A másodlagos szerkezet végleges eldöntésébe az aminosav-sorrendből következő helyi hatások mellett természetesen a fehérje teljes térszerkezetéből adódó kényszerítő hatások is belejátszanak. Így kerülhet sor arra, hogy például egy α -helicális fehérjerészlet a kész fehérjében egy másodlagos szerkezettel nem jellemezhető, rendezetlen állapotot vegyen fel.

Ilyen esetben a lokális hatások alapján várható α -hélix kialakulása minden bizonnyal a teljes fehérje más részeinek kedvezőtlen torzulásához vezetett volna, és a végleges rendeződés során előállt a „sok lúd disznót győz” esete, azaz a kezdeti α -hélix a fehérjék demokratikus hagyományainak értelmében a tekeredés végefele beadta a derekát, és kénytelen-kelletlen kitekeredett.

A másodlagos szerkezet mint a „reklám helye”

Az eddigiekben említett másodlagos szerkezeti elemeknek van egy olyan fontos, közös tulajdonsága, amelyről még nem esett szó. Mind az α -hélix, mind a β -redős lemez, mind pedig a β -kanyar „kívül hordja” aminosav-oldalláncait. Az α -hélix tekeredése olyan szoros, hogy belül még egy vízmolekula sem fér el, nem hogy aminosav-oldallánc. Így az α -hélix olyan lesz, mint egy nagy szőrös hernyó (hernyófókok kedvéért: kémcsőkefe), amelyről körbe meredeznek az aminosav-oldalláncok. A β -redős lemez pedig azokhoz a takarékos körömkefékhez lesz hasonlatos, amelyeknek alul is, és felül is van sörtéjük. Koch Sándor (1999) gondolatmenetét idézve: a fehérjék a specificitásukat meghatározó „lényeket”, a „reklámot” kívül hordják. Ezzel ellentétesek a nukleinsavak (leginkább az örökítő információt hordozó DNS), amelyek a specifikus információt a molekula belsejében két sor negatív töltésű foszforsav mögé rejtik el, hogy a víz hidrolitikus hatása ne tehessen kárt bennük.



A fehérjék kitarulkozó és a nukleinsavak rejtőzködő természete lehet az egyik oka annak is, hogy mai elképzeléseink szerint a földi fejlődés az élet előtti, úgynevezett abiotikus evolúció során áttért az RNS-alapú katalízisről a fehérjealapúra. Ennek részleteiről a 7. fejezetben lesz szó.



Néhány különleges hélix. Az α -hélix sündisznó jellegéből néhány esetben további stabilizáló erő fakad: a leucin-cipzárnak elkeresztelt szerkezetben (amely számos olyan fehérjepárt köt össze, amelyek a gének átíródását indítják el) két, egymással szembekerülő α -hélixben minden hetedik aminosav leucin. Az α -hélix előzőekben ismertetett menetemelkedése miatt ezek a leucinek éppen egymás alatt helyezkednek el, mintegy „varratot” képezve az α -hélix palástján. Mivel a leucin a leginkább hidrofób aminosavak egyike, a két egymással szembeforduló „leucinvarrat” könnyen megtalálja egymást, és a 2.2. fejezetben sorra kerülő hidrofób effektus miatt összetapad. Egy másik érdekesség, amikor a kifelé álló oldalláncból fakadó stabilizáló erő kialakulásához csupán egy α -hélix szükséges. Ilyenkor az egymás feletti, hetedik pozíciókba nem leucin, hanem aromás gyűrűvel rendelkező aminosav, például fenilalanin, tirozin vagy triptofán kerül. A közel kerülő aromás gyűrűk laza elektronszerkezete ilyenkor nemcsak a gyűrűn belül terül szét (delokalizál), hanem a gyűrűket egymáshoz is

tapasztja. (A delokalizált elektronok hasonló kölcsönhatásán alapul a grafit egyes síkjainak összetapadása is.)

A fehérjék harmadfeledleges szerkezete

Az előzőekben ismertetett másodlagos szerkezeti elemek (α -hélix, β -redős lemez, illetve β -kanyar) sok esetben meghatározott kombinációkban fordulnak elő. Ezeket a kombinációkat harmadfeledleges szerkezetnek hívjuk (angolul supersecondary structure). A harmadfeledleges elnevezés (ami a „két egész és a harmadik egy fél” kifejezés régebben alkalmazott neve) arra utal, hogy ezek a szerkezetek a másodlagos és a harmadlagos szerkezet között helyezkednek el. Megkülönböztetésük azért is indokolt, mert ezen szerkezeti elemek nagy konzervativitással öröklődnek a fehérjék molekuláris evolúciója során. A konzervatív öröklődés egyik legfontosabb oka, hogy az α -hélixek és a β -redős lemezek az egyedüli olyan fehérjeformációk, amelyek hézagmentesen képesek egymáshoz illeszkedni. A tömör felépítés a globuláris fehérjék hidrofób magjának igen fontos szerkezeti sajátossága (lásd később). Ugyanakkor azon struktúrák száma, amelyek ennyire szorosan tudnak egymáshoz illeszkedni, meglepően csekély (Orengo és mtsai., 1994), így nem csoda, hogy a sikeres összeállítások (amelyek megegyeznek a leggyakoribb harmadfeledleges szerkezetekkel) megőrződtek az evolúció során.

Egy vagy több harmadfeledleges szerkezeti elem fehérjedomént alkot. A *fehérjedomén* az evolúció során olyan, viszonylag konzervatíván megőrzött fehérjeelem, amelyhez meghatározott funkció rendelhető. Így például beszélhetünk nukleotidkötő-, kináz-, illetve foszfatáz-doménekről. A fehérjemolekulában több domén is előfordulhat. A különböző domének igen gyakran csak egy vékony, struktúrálatlan fehérjeszakasszal kötődnek egymáshoz, amely biztosítja (egymástól többé-kevésbé független) szerkezetváltozásukat, és azt eredményezi, hogy az egyes fehérjedomének részleges fehérjehasítással egymástól elkülöníthetők legyenek. (Ilyenkor a fehérje hasításához használt proteáz enzim jobban hozzáfér a szabadon hagyott összekötő fehérjeszakaszokhoz, mint a domének zártabb, tömörebb belsejéhez.)

A domének állandósága a *moduláris evolúció* elméletével magyarázható (Patthy, 1999). A moduláris evolúció feltételezése azokon a megfigyeléseken alapul, amelyek kimutatták, hogy az egymástól igen különböző funkciójú fehérjékben igen gyakran hasonló (és hasonló részfunkciókat betöltő) domének fordulnak elő. A sejt „nem pazarol”. Ha „rátalált” arra, a fehérjedoménre, amelyik a fehérjét az aktin szálakhoz (mikrofilamentumokhoz) hozzáköti, akkor ugyanez a domén fogja rögzíteni a sejt anyagcseréjében szerepő enzimet vagy a jelátvitelben használatos fehérjét is az aktinhoz. A fehérjedoméneket kódoló génszakaszok gyakran feldarabolódás nélkül cserélődnek, vándorolnak a különböző gének között az evolúció során. Az evolúció moduláris: az új fehérjéket nem morzsákból, hanem nagyobb szeletekből rakosgatja össze. Ahogy az idő halad, a kirakósjáték elemei a mutációk révén egyre kopnak, töredeznek. A hosszú fejlődés során kiszelektálódott fehérjedomének megőrzését az is indokolja, hogy viszonylag kevés olyan fehérjetekeredési alapstruktúra ismeretes, amely ne menne tönkre akkor, ha aminosavaiból néhány véletlenszerűen (mutációval) kicserélődik (Orengo és mtsai., 1994). Emiatt ezek az „evolúcióképes” fehérjeformák a földi élet megőrzésre érdemes, nagy kincsevő léptek elő.



Miért van ilyen kevés fehérje-szerkezet?

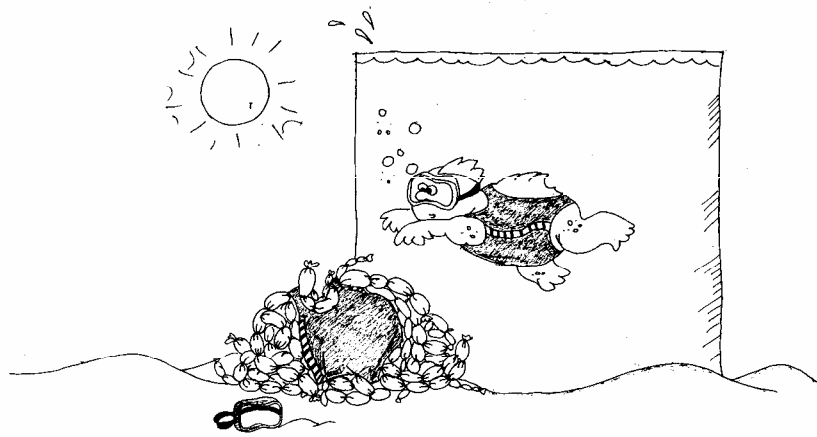
A fehérjék harmadlagos és negyedleges szerkezete

A fehérjék teljes térszerkezetét leíró harmadlagos (illetve a többláncú vagy az egy fehérjelánc mellett valamilyen más, nagyobb molekulát is tartalmazó fehérje negyedleges) szerkezetéig jutva kezd elfogyni a könyvbe írható általános megjegyzések sora. Mint azt már korábban említettem, nagy szerencsénkre a fehérjék azon ritka polimerek közé tartoznak, amelyeknek legtöbbször csak egy olyan szerkezetük van, amely kitüntetten kis energiájú. Ha rengeteg, egymáshoz közeli energiájú állapot is mind az energiaminimumon lenne, az roppantul nagy gondot okozna, hiszen a sejtműködés állandósága igencsak veszélybe kerülne a többdimenziós csikicsukit játszó résztvevőkkel. Ha a rengeteg helyett fehérjéinknek mondjuk csak két energiaminimuma lenne, szervezetünk tele lenne a szivacsos agylágyulást okozó prionokhoz hasonló fehérjékkel. A prion ugyanis egyike az eddig ismert kevés kivételeknek, ahol két hasonló energiaminimummal rendelkező szerkezet is stabil. (A prionokról bővebben a 6.6. fejezetben esik még szó.) A fehérjék egyedi szerkezete tehát az emberiség nagy szerencséje.



Miért van a fehérjéknek csak egy energia-minimuma?

Zsírok befelé! Globuláris (gombócalakú) fehérjéknél a víz szerkezete a fehérje általános elrendeződését eléggé megszabja (mivel a földi élőlények fehérjei elenyésző számú kivételtől eltekintve vizes közegben léteznek, az ismertetést csak erre az esetre korlátozom). A víz gyönyörűen felépített hidrogénhidás hálózata miatt a víz hidrogénhidjainak bármilyenű roncsolása energetikailag igen kedvezőtlen (2.2. fejezet hidrofób effektus c. rész). Így nem csoda, hogy a globuláris fehérjék hidrofób aminosavai, amelyek a vízzel csak igen korlátozott kölcsönhatásra képesek, a fehérje belsejébe kerülnek. A fehérje külső részén csak azok az aminosav-oldalláncok maradhatnak, amelyek hidrofílek (vízkedvelők), illetve ezen felül esetleg olyan töltések, amelyeket csak a nagy vízgömbű (hidrátburkú) ellenionok képesek semlegesíteni. Ha a fehérje véletlenül hidrofób közegbe kerül, a viszonyok megfordulnak és „kiköpi a belét”. Ami eddig belül volt, kívülre kerül és fordítva. Ilyenkor természetesen az enzimeknek az a kis zsebe, amely a kémiai katalízist hordozó aminosav-oldalláncokat megfelelő térhelyzetben tartalmazta, szinte biztos, hogy teljesen átalakul. Ebből következően a fehérje még akkor sem lenne képes enzimaktivitást mutatni, ha az a hidrofób közegben az ép szerkezetű enzim számára lehetséges lenne.



Belül kristály. A globuláris fehérjék belül rendkívül tömörök. A térkitöltés átlagos mértéke 0,75, azaz a teljes térrész 75 százaléka fehérje és 25 százaléka lyuk. Ez a térkitöltés még a szerves kristályokban tapasztalható 0,74-es értéknél is nagyobb, és igencsak meghaladja a folyadékokra jellemző 0,65-ös értéket (Richards, 1977, Schultz and Schirmer, 1979). Sejtjeink fehérjéiben belül tehát alig van lyuk! E sajátosság ismeretében talán jobban érthetővé válik az az előbb kinyilatkoztatott fehérjetulajdonság, hogy a legtöbb fehérjének egy és csak egy olyan szerkezete van, amely tartósan stabil. Korábban szó esett már arról, hogy az α -hélix és a β -redős lemez nagyobb lyukaktól mentesen egymáshoz illeszthető (a harmadik gyakrabban előforduló szerkezeti elem, a β -kanyar a fehérjék külsején fordul elő, így hézagmentes illesztésére nincs szükség). A lyukmentesség kritériuma valószínűleg az egyik legfontosabb elem, ami egy adott fehérje tekeredése során leginkább szelektálja a lehetséges szerkezetek számát egészen addig, amíg csak egy marad a versenyben.

Van itt azonban még valami. Gondoljunk csak bele, hogy a fehérjét alkotó jópár α -hélixnek és β -redős lemeznek mennyire pontosan és egyedi módon kell elhelyezkednie ahhoz, hogy a fehérje belseje tényleg lyukmentes legyen. Ráadásul a rendeződés gátolt, hiszen az egyes α -helikális és β -redős elemek meglehetősen rövid madzagokkal még össze is vannak kötözve. Ha a madzagok engednének is valami mozgást, a víz a tekeredés közben a fehérje hidrofób részeit összenyomja. Megdöbbenően kevés olyan szerkezet létezik, amelyik összekötözve, összenyomva is képes egy hézagmentes hidrofób belső kialakítására. Mai ismereteink szerint a földi élet elképesztő változatossága az alapvető fehérjeszerkezetek alig pártucnyi tagra kiterjedő elképesztő szegénységéből áll össze (Orengo és mtsai., 1994). Jópár esetben még ezek a sokszorosan szelektált struktúrák sem tudnak önmaguktól a lyukmentes formába betekeredni. Ilyenkor van szükség a stresszfehérjék segítségére.

A belső lyukak hiánya nagy kavardást okoz. Miért ez az irtózás a lyukaktól? Könnyen belátható, hogy szerkezet ide, szerkezet oda, azért a fehérjéket sem lehet vákuumtartálynak elképzelni. Ha a nagyobb lyukat be kell tölteni és erre a fehérje nem képes, csak a víz marad. A fehérje hidrofób belsejében márpedig víznek épp az előbb mondottak miatt helye nincs. Nincs más megoldás: kinnal vagy keservvel, de hézagmentes tekeredés kell.

Mocorgás. Mint minden magára valamit adó irományban, e könyvben is elő kell néha kerülnie a tézis után az antitézisnek. (Hogy szintézis jut-e, azt inkább

az olvasóra bízom...) Az előző bekezdésekben meglehetősen vehemenciával győzködtem mindenkit, hogy a globuláris fehérjéknek egy és csak egy stabil formája van. E bekezdés meg azért született, hogy meggyőzze az olvasót: ez nem igaz. A fehérjék ugyanis „lélegeznek”. Igaz ugyan, hogy van egy olyan alakjuk, ami alacsony energiájú, de emellett a legtöbb esetben létezik egy sor olyan térszerkezetük is, amelynek energiája a kitüntetett alakétól csak igen picit különbözik. Azaz helyesebb nem egy kitüntetett minimumról, hanem inkább minimumcsoportról beszélni. Emiatt tud a fehérje kis energiabefektetéssel mocorogni, lélegezni (amely utóbbi kifejezés az angolszász irodalom breathing-jének szolgai fordítása).



A víz mint kenőanyag. A fehérjék mocorgását a víz nagymértékben segíti. A későbbiek során részletesen leírom, hogy a víz merev, csaknem kristályos szerkezete milyen nagy akadályokat gördít a fehérjék betekeredésének útjába azzal, hogy túlzottan összenyomja a fehérjemolekulát. A víz azonban nem csak kristály. Úgy is tud viselkedni mint egy kölyökbirkákból álló nyáj. A vízmolekuláknak együtt félelmesen nagy a nyomóerejük, egyedül viszont játékos báránként ugrálnak ide-oda. Éppen ez az ide-oda ugrálás az a víztulajdonság, amely segíti a fehérjék mocorgását. Ugrálás közben ugyanis az egyedi vízmolekulák mindig máshol alakítanak ki hidrogénhid kötésekkel a fehérjemolekulákkal. Ezáltal a fehérjék szerkezetváltásának útjában álló energiagátakat lebontják, és addig macerálják a fehérjét, amíg az a legkedvezőbb formációt fel nem veszi (Barron és mtsai., 1997).



A fehérjék emlékezete. A vízmolekulák maceráló hatása nélkülözhetetlenebb a fehérjék normális életében mint azt elsőre gondolnánk. Vízmentes közegben a fehérje ugyanis befagy, eredeti szerkezetét szinte teljesen megőrzi. Így, ha egy olyan proteázenzimet, amely vízmentes közegben is működik, az aktivitását fokozó molekula jelenlétében vízmentesítünk, majd az aktivizáló molekulát a vízmentes közegből eltávolítjuk, az enzim az aktivátor nélkül is aktívabb marad. Vizes közegben elvégezve ugyanezt a kísérletet, az aktivátor eltávolítása után az aktivitás az eredeti szintre zuhan vissza. Az enzim tehát vízmentes közegben megőrzi aktivált szerkezetét, tehát emlékszik arra, hogy korábban egy molekula révén aktiválódott. Erre azért kerülhet sor, mert a fehérje szerkezete a vízmentes közegben befagyott, merev állapotban van. Ha a kísérlet során cseppnyi vizet juttatunk a vízmentes közegbe, az enzim mocorogni kezd, és rögtön elfelejti mindazt a szerkezetében megőrzött tudást, ami addig jellemezte (Klibanov, 1995). Sajnos az emberi memória működése nem ilyen egyszerű. Teljes vízmentesítésünkkel emlékezetünk javítása tehát nem oldható meg, annál is inkább, mert egy ilyen beavatkozást még egy sivatagi beduin sem élne túl.

Hiába no, ha alszunk, ha napozunk, fehérjéink folyton-folyvást mocorognak. Ügyes. De mire jó ez? Fehérjemocorgás nélkül a földi élet mérhetetlenül primitív alakban maradt volna meg. Miért? A mocorgás (amelyet a minimumállapot meglepően nagy szerkezeti szabadságának lehet mondani) teszi lehetővé, hogy a bennünk lezajló folyamatokat meggyorsító és irányító enzimeinket szabályozni tudjuk, számos esetben pedig azt is, hogy az enzimreakció kiindulási anyaga, a szubsztrát, egyáltalán betaláljon az enzim „szájába”, azaz arra a helyre, ahol majd átalakul.

Fibrilláris (fonalszerű) fehérjék

A figyelmes olvasónak bizonyára feltűnt, hogy az eddigiekben vissza-visszatért a globuláris (gombócszerű) jelző. Mi van a többi fehérjével? A fibrilláris (fonalszerű) fehérjék struktúrája milyen? A fibrilláris fehérjék térszerkezetének eddigi mellőzésére az ad okot, hogy egyedi fehérjeszálaik különálló

térszerkezetét nem lehet az eddigiekben ismertetett elvek alapján leírni, mivel ezek a molekulák oligomerek, de leginkább polimerként fordulnak elő. A fibrilláris fehérjék egyedi fehérjeszállai egymást stabilizálják, és az ilyen elemi szálcscskákból felépülő teljes, komplett szállról körülbelül ugyanazok mondhatók el, mint a globuláris fehérjékről. Könnyen belátható, hogy egy sokszálú molekulaköteg stabilizálása a legtöbb esetben még nagyobb figyelmet igényel, mint egy egyedi gombócé. Emiatt nem véletlen, hogy a fibrilláris fehérjék (például kollagén) szerkezetmegtaláló türelemjátékának külön segítő mechanizmusai alakultak ki, amelyeket a 4.6. fejezetben ismertetek.

2.2. A fehérjéket összetartó erők

A fehérjék létrejöttének elengedhetetlen feltétele a peptidkötések kialakulása. Ha viszont a fehérjéket csak a peptidkötések tartanák össze, akkor egy fehérjének számtalan téralkata egyaránt stabilis lenne. A fehérjék natív szerkezetét számos más kötés, erő stabilizálja (Chothia, 1984; Dill, 1990).

Diszulfidhíd kötés

A fehérjéket összetartó kötések közül a legnagyobb energiája a diszulfidhíd kötésnek van, amely két cisztein aminosav-oldallánc egymáshoz közel eső –SH csoportjainak enyhe oxidációjával létrejövő, –S–S– képlettel leírható kovalens kötés. (A diszulfidhíd kialakulásakor az oxidáció nem oxigénbevitel, hanem hidrogénelvonás révén valósul meg vagy másképp fogalmazva: a folyamat során a kénatomok elektront adnak le.)

Hidrogénhíd kötés

Az egyedi kötések közül a hidrogénhíd kötés erőssége átmenet a kovalens és a másodlagos kötések kötéserőssége között. Az α -hélixeket és a β -redős lemezeket stabilizáló, peptidkötésekből származó hidrogénhíd kötések mellett az aminosav-oldalláncok (például szerin, treonin –OH csoportok, aszparaginsav, glutaminsav karboxilcsoportjai, hisztidin imidazolgyűrű nitrogénjei, lizin amino csoportja stb.) is képesek hidrogénhíd kötések kialakítására, amelyek mind fontos szerepet töltenek be a fehérjék harmadlagos és negyedleges szerkezetének kialakításában. A hidrogénhíd kötésre képes csoportok számára a hidrogénhíd kialakítása szinte kötelező. Ezzel összhangban, csupán 10 százalékra tehető a peptidkötés azon $>NH$ és $C=O$ csoportjainak a száma, amelyek nem képeznek hidrogénhidat. A következő, apróbetűs részben a hidrogénhíd kötés jellemzőit foglalom össze.



A hidrogénhíd kötés. A hidrogénhíd kötés egy kvázi-kovalens kötés, amelyben a központi proton „átugorhat” a donor hídfőatom szigma (σ) kötéséből az akceptor hídfőatom magányos elektronpárjához és átmenetileg az utóbbival létesíthet kötést. A proton ilyen furcsa viselkedésére („ugrálására”) az ad lehetőséget, hogy kis mérete révén a protonnak is van (bár az elektronnál jóval kisebb mértékben) hullámtermészete. Így a hidrogénhíd kötés létesítő proton a két elektronpár tartózkodási maximuma közötti „senki-földjén” (energiagáton) saját kvantummechanikai helybizonytalanságából adódó úgynevezett „alagúteffektussal” jut át. A hidrogénhíd kötés kialakulásához természetesen szükséges, hogy a donor hídfőatom a protont „elengedje”. Ehhez az kell, hogy az eredetileg a hidrogénnel kötést létesítő elektronpár közel legyen a donor hídfőatomhoz, azaz a donor hídfőatomnak nagy elektronegativitásának

kell lennie. (Ahhoz, hogy a proton az „átugrás” után vissza is tudjon „ugrani” természetesen az akceptor hídfőatomnak is hasonlóan nagy elektronegativitásúnak kell lennie.) A peptidkötések >NH csoportjának hidrogénje és karbonilcsoportjának oxigénje (ha elrendezésük megfelelő, azaz lineáris) ideális partnerek hidrogénhid kötések kialakítására. A hidrogénhid kötés két hídfőatomjának távolsága egyben a kötés energiáját is megszabja. A kötés energiája akkor a legnagyobb, ha a két hídfőatom távolsága optimális.

Sókötés

A sejtjeinkben, szervezetünkben előforduló semleges pH-n a savas aminosav-oldalláncok (például aszparaginsav, glutaminsav) negatív, a bázisosak (például arginin, lizin) pozitív töltésűek. A pozitív és negatív töltések „párosodásából”, az úgynevezett sóhidak vagy más néven sókötések képződéséből jelentős energianyereség származik. Ha nem egy teljes töltés alakul ki a fehérjemolekulán belül, hanem a különböző elektronegativitású atomok miatt csak elektroneltolódás következik be, résztöltések keletkeznek. Ezeknek az ellentétes résztöltéseknek a párosodása is energianyereséggel jár. A Coulomb vonzóerőknek azt a részét, amely nem teljes töltések között, csupán résztöltések kialakulása révén keletkező dipólusok között hatnak, másodlagos kötőerőknek vagy másnéven van der Waals-erőknek hívjuk.

Hidrofób kölcsönhatások

A fehérjék szerkezetének kialakításában szerepet játszó erők közül az úgynevezett hidrofób kölcsönhatások maradtak a végére. Mint ahogy azt már a 2.1. fejezetben említettem, globuláris fehérjék vizes oldatában (és a vizes oldatokból kristályosított fehérjekristályokban) a hidrofób aminosav-oldalláncok a fehérje belsejében találhatóak, a hidrofíl oldalláncok pedig a fehérje felszínén. Korábban úgy gondolták, hogy ezt az általánosan jellemző elrendeződést a hidrofób oldalláncok van der Waals-féle vonzása stabilizálja. A hetvenes évek elején javarészt *Charles Tanford* (1980) munkássága alapján jöttek rá, hogy a hidrofób kölcsönhatások mértéke jóval meghaladja azt a szintet, ami pusztán a van der Waals-kötőerők hatásával magyarázható. Kiderült, hogy a globuláris fehérjék harmadlagos szerkezetének stabilitását egy, a fehérjétől független tényező, a víz szerkezete biztosítja. A víz sok szempontból szinte „kvázikristályos” anyagként viselkedik a benne található nagyszámú hidrogénhid kötés stabilizáló hatása miatt. Könnyen belátható, hogy ezen hidrogénhid kötések megbomlása igen nagy energiavesztéssel jár. Hidrofób anyagok képtelenek a vízmolekulákkal hidrogénhid kötések kialakítására, így a víz/hidrofób határfelületen a víz hidrogénhidas szerkezete megtörik. Emiatt a jelentős energiavesztéssel járó szerkezettorzulás miatt a víz igyekszik a hidrofób anyagokat a lehető legkisebb térfogatra összeszorítani (gondoljunk például a vízben lebegő olajcseppekre), hogy ezáltal minimalizálja az érintkező felületet. Így már könnyen érthető, hogy nem a fehérjemolekula hidrofób magjának önvonzása, hanem a fehérjét körülvevő víz hidrogénhidas szerkezetének lehető legteljesebb megőrzése az a hajtóerő, amely a fehérjék „bent hidrofób, kint hidrofíl” harmadlagos szerkezetét stabilizálja. Az előbbiekből egyszersmint az is következik, hogy a fehérjék alakjára az őket körülvevő közeg viszonylag kis változásai is igen nagy hatással lehetnek.

A fehérjék szerkezetének kialakításában és megőrzésében a legnagyobb szerepet az utoljára említett hidrofób és van der Waals-erők játsszák. A fehérjemolekulákon belüli hidrogénhid kötések hatása számottevő (egy aminosavra átlagosan 0,75 hidrogénhid kötés esik), míg az egyenként nagy energiát képviselő só-kötések és diszulfidhidak összességükben (csekély számuk miatt) csak kevéssé járulnak hozzá a fehérjeszerkezet kialakulásához.

2.3. A fehérjeszerkezet kialakulása

A 2.1. fejezetben már némileg körüljártuk, milyen bonyolult rendeződésbeli probléma a fehérjeszerkezet kialakulása, amit az összekötött pálcikák hézagmentes elrendezéséhez lehetne hasonlítani. A víz összenyomó hatása miatt a kisméretű fehérjéknél igen gyorsan rendeződnek. A másodperc ezredrésze, vagy milliomodrésze alatt végbemenő folyamatokat nagyon nehéz nyomon követni. A nagyobb fehérjék persze lassabban tekerednek, de azoknak meg a szerkezetét nem tudjuk még pontosan leírni bonyolultságuk miatt. (Ki van ez találva kérem.) És akkor még nem is beszéltünk arról, hogy a sejt tényleges, *in vivo* körülményei között a vizsgálni kívánt fehérjénk nem egyedül tekeredik, hanem körbe van véve mindenféle zavaró szeméttel. Így nem csoda, ha a fehérjék szerkezetének kialakulását érintő vizsgálódás két irányba indult el: külön kezelve a kísérleti körülmények között megvalósítható *in vitro* tekeredést, és ismét csak külön a sejtes körülmények között vizsgált *in vivo* folyamatot.

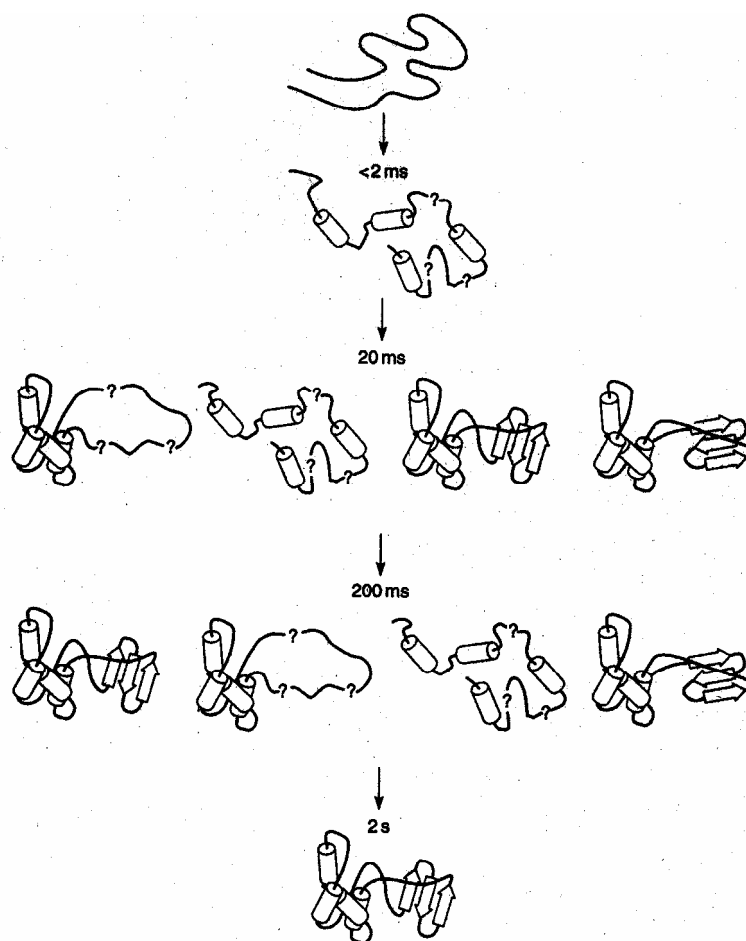
A fehérjék szerkezetének kialakulása *in vitro*

In vitro körülmények között a fehérjét először valamilyen reverzibilis hatással tönkretesszük, azaz denaturáljuk, majd a denaturálószeret eltávolítva, különböző mérési eljárásokkal a fehérje szerkezetének kialakulását folyamatosan követjük. Az elemzés során nyilvánvalóvá vált, hogy a fehérjék harmadlagos szerkezetének kialakulása nem egymásra épülő lépések egyenes láncolata, hanem olyan folyamat, amelyben számtalan zsákutca van és a natív, energiaminimumot jelentő szerkezetét kereső fehérjemolekulának sok, különböző térszerkezetű változata egyidejűleg megtalálható (Bryngelson és mtsai., 1995; Dill és mtsai., 1995; Thirumalai és Guo, 1994). A szerkezet kialakulása gyors lépésekkel indul, a folyamat lassú, sebességmeghatározó lépései a natívhoz közeli állapot kifejlődésére jellemzők (4. ábra).

A fehérjeszerkezet kialakulásának első, gyors lépései

Az első lépések során azok az egymás melletti aminosav-oldalláncok rendeződnek össze, amelyek α -helikális, illetve β -kanyar szerkezetek létrehozására képesek. Ennek három fontosabb oka van: **(a)** az egymás melletti aminosav-oldalláncok könnyen megtalálják egymást (az aminosav-oldalláncok lokális koncentrációja 10^8 és 10^{11} mol/liter közé esik!), **(b)** a közel fekvő aminosavak közötti hidrogénhid kötések létrejöttének valószínűsége magas, és **(c)** a stabilizálódó fehérjeszerkezet csak viszonylag kis fehérjerészletre terjed ki, így a rendezettség növekedése (az entrópia csökkenése) viszonylag kicsi (a termodinamikai vonatkozások kifejtését lásd később). A β -redős lemezek azért követik az α -hélix és a β -kanyar megjelenését, mert bennük az egymástól

távollévő aminosavak között létesülnek hidrogénhid kötések, ami mindhárom szempont alapján sokkal nehezebben következik be.



4. ábra. A fehérjeszerkezet kialakulásának lépései *in vitro*.

A hidrofób összerogyás kezdeti gyors lépése után lassabb rendeződés következik. A tekeredés folyamatát olvadt gombóc állapotú köztitermékek és aggregációveszéllyel járó zsákutcák jellemzik (Dobson és mtsai., 1994 nyomán).

A tekeredés¹ során — az α -hélixek és a β -kanyarok kialakulásával párhuzamosan — az előzőekben részletezett hidrofób effektus miatt a fehérje hidrofób magja „összerogy”. Ezen hidrofób kollapszus (összerogyás) során a fehérjében egy vagy több olyan hidrofób csomó (tekeredési mag, folding nucleus) alakul ki, amely a további rendeződési folyamatokat nagymértékben gyorsítja. A fehérjeszerkezet kialakulásának ezen autokatalitikus (öngyorsító) sajátossága nélkül a világegyetem egész eddigi életkora sem lett volna elegendő ahhoz, hogy akár egyetlen darab fehérjemolekula teljesen betekeredjen.



A Levinthal-paradoxon. A fehérjetekeredés sebességének becslésével először *Cyrus Levinthal* (1968) foglalkozott. Kimutatta, ha a fehérjéket olyanoknak képzeljük el, mint a digitális számítógépeket, akkor véletlen válogatást feltételezve (azaz végigjárva az összes lehetséges téralkatot és minden ponton megállapítva, hogy elérte-e a fehérje a minimális energiaszintet) már a száz aminosavat tartalmazó, éppenhogy csak fehérjeméretű polipeptidnél

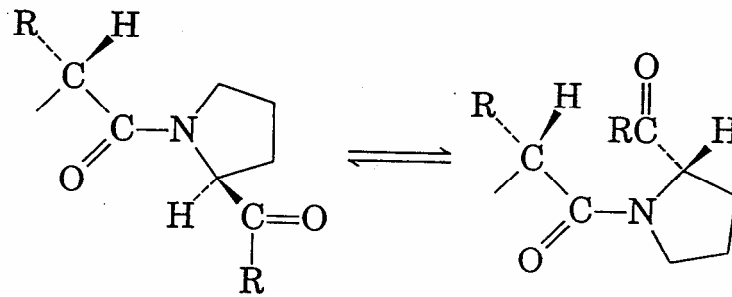
is a teljes tekeredési próbasorozat 10^{87} másodpercet venne igénybe. Ez „némileg” hosszabb, mint a világegyetem becsülhető életkora, ami 10^{18} másodperc. Ezt a látszólagos ellentmondást hívjuk *Levinthal-paradoxonnak*. Az ellentmondást a következő megfontolásokkal lehet feloldani: a végállapot nem egyedi, hiszen a fehérje, mint arról korábban volt szó, lélegzik. A folyamat nem véletlenszerű, hiszen a közben kialakuló kötések és szerkezeti elemek a következő lépéseket meghatározzák. Ehhez kötődik a legfontosabb érv: a fehérjék tekeredése autokatalitikus, azaz a már kialakult α -hélixdarab végigtekeri a teljes α -hélixet, az egyik β -redő indukálja a hozzá kötődő másik kialakulását stb. Nem utolsósorban a kialakuló tekeredési magok az egész folyamatot a tér egészében rendezik. Végezetül a Levinthal-paradoxon ellen hat az is, hogy a denaturált állapot a legújabb adatok szerint (Denisov és mtsai., 1999; Neira és mtsai., 1999) nem is olyan rendezetlen, mint ahogy azt eddig hittük.

A harmadlagos szerkezet kialakulásának ezen kezdeti lépései kisméretű (általában 20-30 kDa alatti) fehérjéknél rendkívül gyorsan, a másodperc tört része alatt lezajlanak. Ezután egy stabil, köztes állapot, az úgynevezett „olvadt gombóc” (molten globule) keletkezik. Az olvadt gombóc másodlagos szerkezeti elemei (így bizonyos β -redős lemezek is) többé-kevésbé kialakultak, a harmadlagos szerkezete azonban ide-oda változik. Az olvadt gombóc formában lévő fehérjemolekula a hidrofób összerogyás miatt elég kompakt, a denaturált fehérje összes térfogatának mintegy 10-20 százalékát teszi ki, és térfogata csak 10-20 százalékkal nagyobb a natív fehérje térfogatánál. A harmadlagos szerkezet kialakulatlansága miatt az olvadt gombóc még tartalmaz felszíni hidrofób részleteket. Az olvadt gombóc szerkezetben még előfordulnak vízmolekulák, amelyek a natív szerkezet kialakulása során „kipréselődnek” a hidrofób környezetből.

Az olvadt gombóc felszínén maradt hidrofób részeire külön is szeretném hívni a figyelmet. A sebtében végrehajtott pakolgatás után ez az a rendetlenségre utaló jel, ami végzetessé válhat a félkész fehérje életére. A hidrofób felszín ugyanis ugyanazon oknál fogva nem létezhet stabilan, mint ami az egész hidrofób összerogyást létrehozta. A víz ezt is el akarja tüntetni. Igenám, de a hidrofób oldalláncok a fehérje belsejébe nem férnek be, mert a hirtelen összerogyás miatt a belső részek rendezettsége még nem optimális, és a szóban forgó hidrofób darabkát kizárta. Így az elrejtés egyetlen útja az marad, ha két ilyen hidrofób darabka egymással összeragad. Ez azonban sajnos az őket hordozó fehérjék összeragadását is jelenti. Az ily módon képzett aggregátum igen veszélyes, mert jónéhány esetben szétszedése reménytelen feladat még az erre „szakosodott” stresszfehérjék számára is. (Ezek működéséről részleteiben a 3.2. fejezetben számolok be.) Az aggregáció nehéz megszüntetése az oka annak is, hogy miért nem lehet főtt tojásból nyers tojást készíteni. Így nem csoda, hogy a stresszfehérjék egyik legfontosabb feladata a tekeredő fehérjék megóvása az összeragadástól. *In vitro* kísérleti körülmények között az összeragadás elleni védelmet úgy oldják meg, hogy a sejtben szokásos fehérje-koncentrációkhoz képest a vizsgált fehérjéket ezerszeresére, esetleg tízezerszeresére hígítják. Mivel ilyenkor más tekeredő fehérje még köszönőtávolságban sincs, az aggregáció még védelem nélkül sem komoly veszélyforrás.



Miért olyan nehéz szétszedni az aggregátumokat?



5. ábra. A prolin melletti cisz-transz peptidkötés.

A prolin gyűrűs szerkezete miatt a mellette lévő peptidkötés mindkét térállásban csaknem egyformán instabil, így a szokásos „transz” helyzet mellett mintegy 5-6 százaléknyi „cisz” térállású forma is előfordul.

A fehérjeszerkezet kialakulásának záró-, sebességmeghatározó lépései során alakulnak ki az egyedi, nagyenergiájú kötések, így a diszulfidhidak és a sókötések. Ebben a fázisban kerül sor a prolin melletti peptidkötések cisz/transz izomerizációjára is (az egyetlen olyan peptidkötés, amely az általánosan jellemző transz helyzet mellett cisz állapotban is előfordulhat, 5. ábra).

E zárólépések azért maradnak a folyamat végére, mert legtöbbször a fehérjeláncban egymástól távoli csoportok kölcsönhatását feltételezik. Az ilyen kapcsolatok túl nagy rendeződést, azaz energetikai fogalmakkal operálva túl nagy entrópiavesztést jelentenének a fehérje tekeredésének korábbi szakaszában. A tekeredés zárómozzanataként viszont már eljutottunk abba a helyzetbe, amikor a fehérje többi része már betekeredett, és ez a kölcsönható csoportokat elég közel hozta a közöttük létesülő kötés kialakulásához. A közelség azonban még nem jelenti azt, hogy a két csoport irányultságában is optimális helyzetet vett fel a kapcsolat kialakításához, ezért a kötésben a résztvevő csoportoknak legtöbbször még tekerni kell valamicskét a fehérjén. Ez a fehérje más részein gyakran „nagyenergiájú”, a lokális energiaminimumnál magasabb energiaállapotban lévő szerkezeti elemeket hoz létre. Ezeket a magas energiájú részleteket a kialakuló diszulfidhíd, illetve sókötés a saját energiájával stabilizálja. E nagyenergiájú helyek fennmaradásának jelentőségére a folyamat energetikai (termodinamikai) jellemzése során még visszatérek.

Az elmondottakból tehát már érthető, hogy valóban, a diszulfidhidak és a sókötések kialakulása miatt maradt a folyamat végére. De mi ebben a lassú? A fehérjetekeredés sebesség-meghatározó (azaz leglassabb) lépését minden bizonnyal máshol kell keressük. Az igazán lassú, nyögvenyelős folyamat a tekeredő fehérje belső, hidrofób magjának átrendeződése az „olvadt gombóc” állapotnál tömörebb, natív szerkezetté. Ez azért igényel sok időt, mert a hidrofób összerogyás során a fehérjét a víz túl szorosan préselte össze, és emiatt a tekeredő fehérje belsejében nem maradt elég tér arra, hogy a rosszul összetekeredett hidrofób polipeptidlánc a natív szerkezetet felvehesse.



Hosszú távú memória a sejtben? Némelyik fehérje (például az alkalikus foszfatáz enzim) igen furcsa szerzet. Denaturáció után körülbelül egy óra alatt szinte teljes egészében helyreáll az enzimaktivitása. Trükkös szerkezetvizsgálati módszerekkel, például a fehérje belsejében helyet foglaló triptofán aminosavak vizsgálatával kideríthető volt, hogy a teljesen aktív alkalikus foszfatáz még hetekkel (!!!) a denaturáció után sem állította helyre eredeti belső szerkezetét (Subramaniam és mtsai., 1995). Az alkalikus foszfatáz nem felejt! Szinte „haláláig” emlékszik az inzultusra. Ha más fehérjék is így viselkednek, és ezek a finom, belső szerkezeti különbségek valamilyen módon a fehérje külső viselkedésében is tetten érhetők, azt kell hogy mondjuk, a sejtnek van egy olyan, igen egyszerű és kis helyen elférő mechanizmusa, amellyel emlékezni képes a bántalmakra. Jobban tesszük tehát, ha holnaptól egészségesebb életmódra térünk át, mert könnyen lehet, sejtjeink „listázzák bűneinket”: az orwelli „Nagy Testvér” belülről figyel.



Így tekeredik az RNS is! Ha egy átlagos egyetemi hallgatót, mondjuk a büfében két szendvics között az ember megkérdez, hogy milyen alakúnak képzeled el az RNS molekulát, akkor először lehet, hogy félrenyel a meglepetéstől, de végül is jó eséllyel azt fogja válaszolni, hogy az RNS molekula olyan lehet, mint a DNS: valamilyen helikális szerkezetbe feltekeredett, hosszúkás alakú képződmény. A valóság ezzel szemben egészen más. Minden RNS molekulának (és itt most leginkább a hírvivő RNS-ekre gondolok), sajátos, egyedileg meghatározott alakja van. Ez a speciális alak nagyon fontos szerepet játszik abban, hogy az RNS molekulát a sejt különböző fehérjei felismerjék, és sorsát megfelelőképp alakítsák. Igenám, de ennek a jól meghatározott alaknak valahogyan ki kell alakulnia. Bizony, a fehérjék mellett az RNS is tekeredési problémákkal küzd. Az utóbbi évek kísérletei (Sclavi és mtsai., 1998) arra a megdöbbentő tényre engedtek következtetni, hogy az RNS molekulák betekeredése is hasonló lehet a fehérjék tekeredéséhez: a kezdeti gyors összerogyást a molekula lassú rendeződése követi.

A fehérjeszerkezet kialakulásának energetikai viszonyai

A továbbiakban a fehérjeszerkezet kialakulására jellemző energiaváltozásokat foglalom össze. Mivel azonban sejtem, illetve sejteni vélem, hogy a termodinamika a legtöbb olvasó számára olyan, mint Drakula grófnak a feszület, ezért arra biztatom az önsanyargatásnak nem hódolókat, hogy nyugodtan ugorjanak a következő nagybetűs részre.



A fehérjék tekeredésének termodinamikája. Ahogy a fehérje szerkezete kialakul, a fehérje egyre rendezettebb állapotba kerül, azaz entrópiája csökken, entrópiaváltozása (amit ΔS -sel jelölünk) negatív. A rendeződés során különböző kötések alakulnak ki. A kötések képződése többnyire energianyereséggel jár. Így a folyamat hőtermelő. E folyamatokról termodinamikai megfogalmazásban elmondhatjuk, hogy entalpiaváltozásuk (amelyet ΔH -val jelölünk) negatív. Írjuk fel a termodinamika második főtételét! Mindezt ne azért tegyük, hogy mazochisztikus hajlamainknak hódoljunk, hanem azért, mert a második főtételből kiszámolható, szabadentalpia-változásnak nevezett mennyiség (amelyet ΔG -vel jelölünk) előjele szabja meg, hogy a folyamat lejátszódhat-e. Ha a ΔG értéke negatív, a folyamat végbemegy, ha pozitív, a folyamat megfordul. A második főtételt kifejező egyenlet a következő:

$$\Delta G = \Delta H - T \times \Delta S$$

Az egyenletben szereplő jelölések közül eddig egyedül a „T” nem szerepelt, amely a Kelvin fokban kifejezett abszolút hőmérsékletet jelöli. Az egyenletből látható, hogy az entrópiacsökkenés (ΔS) az entalpiacsökkenés (ΔH) ellen dolgozik. Ez a hatás akkor érvényesül igazán, ha a hőmérséklet magas. Mit jelent ez a megállapítás? Fehérjetekeredés közben a ΔH értéke az előzőekben elmondottak alapján negatív érték. Ez nagyon jó, mert segíti a ΔG értékét

abban, hogy negatív legyen. Igenám, de a ΔS is negatív érték, ami a ΔS előtt álló negatív előjel miatt lerontja a ΔH hatását. Mégpedig annál jobban, minél magasabb a hőmérséklet. Biztosak lehetünk tehát abban, hogy minden fehérjére található egy olyan hőmérséklet, amely felett a fehérje nem be-, hanem kitekerekedik. Mít találtunk meg? *A fehérjék hődenaturációjának termodinamikai okát.* A tojás, a vacsora azért fő meg, mert a fehérjetekeredés termodinamikai viszonyai épp ilyenek, mint ahogy leírtuk. (Erre persze valaki azt mondhatja, hogy a termodinamikai fogalmakat definiálták épp olyannak, hogy megjósolják a tojásfőzés eredményét. Ebben a vélekedésben van persze némi igazság, csak azt sem árt észben tartani, hogy ez a fogalomrendszer azért a tojáson kívül még sokmindentre hasonló pontossággal alkalmazható.)



Miért olyan instabilak a fehérjék? A tekeredéssel járó rendeződés

(entrópiaváltozás) és a kötések kialakulása miatt bekövetkező energia-felszabadulás (entalpiaváltozás) hatása meglehetősen kiegyenlített, így a folyamat szabadentalpia-változása (ΔG) elég kicsi, -20 és -70 kJ/mol közé esik. Az összes energianyereség néhány hidrogénhid kötési energiájával egyenlő. Ha a fehérjeszerkezet kialakulását nagyobb szabadentalpiacsökkenés kísérné (a fehérje a natív téralkat kialakulásával mélyebb energiagödörbe zuhanna), a kialakult szerkezet igen stabil lenne. Ez erőteljesen csökkentené annak a valószínűségét, hogy a natív fehérje téralkat-változásokon menjen keresztül, ami gátat szabna a legtöbb enzimfunkciónak és jelátviteli folyamatnak. Ha a natív fehérjealak kialakulásával járó szabadentalpia-csökkenés háromszor-öttször nagyobb lenne, a földi élet nem (vagy nem fehérjékre alapozottan) jött volna létre.

Amint azt a fehérjetekeredés zárólépéseinek ismertetése során már említettem, a fehérjék natív struktúrájában a szerkezeti részletek döntő többségének energiaminimuma lokálisan nagyenergiájú részleteket, úgynevezett *aktív helyeket* hoz létre. Ezek az aktív helyeken olyan feszültség lép fel, amely a fehérjemolekula további átalakulásával már nem tud stabilizálódni. Az ilyen aktív helyek csak akkor stabilizálódnak tovább, ha valamilyen más molekulát kötnek meg. Termodinamikai szempontból a fehérjék aktív helyeinek létevel magyarázható az enzimműködés, hiszen ha a fehérjemolekula minden részlete az elérhető legstabilabb téralkatban lenne, nem tudna olyan átmeneteket létrehozni, amelyek átsegítik a szubsztrátot a katalizálandó reakció energiagátján.



Amikor a fehérje nehezen éri el az energiaminimumot. A

fehérjetekeredés energetikai viszonyaihoz az is hozzá tartozik, hogy a fehérjeszerkezet kialakulása nem minden esetben áll kizárólag termodinamikai kontroll alatt. Jónéhány nagyobb méretű fehérje nem éri el a lehetséges energiaminimumot. Miért van ez így? Ilyenkor az energiaminimum eléréséhez szükséges szerkezetváltozásoknak olyan nagy az aktiválási energiája, amely a változások sebességét igen csökkenti. Azt mondjuk az ilyen fehérjékre, hogy a szerkezetük kialakulása úgynevezett kinetikai kontroll alatt áll. Ha energiához jutnak vagy egy stresszfehérje segít, az ilyen fehérjék az átmenetileg stabil állapotból tovább tudnak lendülni, és képesek elérni a végleges, natív szerkezetüket. Tulajdonképpen ez a fajta megakadás és továbblendülés érvényes akkor is, amikor az olvadt gombóc köztes állapotból alakul ki a végleges natív szerkezet. A „kinetikai kontroll” alatt álló fehérjéket az különbözteti meg ettől az általános esettől, hogy ennél a kyszámú fehérjénél a köztes állapot is teljesen stabil. Ilyen fehérje a már korábban emlegetett prion (6.6. fejezet), de ide lehet sorolni bizonyos proteáz enzimek fehérjetermészetű gátlószereit, amelyek „állás közben” egy szerkezetváltó stabilizálódás révén elvesztik gátló tulajdonságaikat.



Amikor a fehérje szinte soha nem éri el az energiaminimumot. A

kinetikai kontroll másik esete az, amikor a natív (enzimaktivitást mutató) állapot és egyik másik tekeredési állapot energiája csaknem megegyezik, esetleg a natív állapot energiája a

nagyobb (!). Ilyenkor csak azok a fehérjék képesek enzimaktivitásukat megőrizni, amelyekben a két állapotot egy igen magas aktiválási energia választja el egymástól, azaz a fehérje áttekeredése nagyon lassú. A kényszerűen magas aktiválási energia miatt ezekben a fehérjékben a natív állapot igen stabil. Az ilyen fehérje nem mocorog, hanem mereven ül. Ha a natív állapotban az ilyen típusú fehérje szerkezete tömör, a fehérje rendkívül ellenállóvá válik a fehérjehasító enzimek támadásaival szemben. Elfedi az elvágható peptidkötéseit, és mivel nem mozog, azok soha nem is kerülnek elő. Ez a tulajdonság tehát ideális (és gyakran megtalálható) a sejt által a külvilágba kilökött proteázok (fehérjebontó enzimek) számára. (A hóhér megmenekül az akasztástól.) Ez idáig szép. De ha egy ilyen fehérje még csak egy kicsi lépést sem tud tenni a kitekeredés felé, mert merev, akkor odafele hogyan kelt át az aktiválási energiagáton? Hogyan tekeredett be? Úgy, hogy a betekeredés során a tekeredő fehérje még nem a végleges enzim volt, hanem annak egy nagyobb változata. A kezdeti, nagyobb fehérjében még nem volt ekkora energiagát, azaz be tudott tekeredni. A tekeredés végeztével a fehérje egyik csücske lehasadt, és kialakult az energiagáttal rendelkező merev állapot (Cunningham és mtsai., 1999). Azaz messze nem véltetlen, hogy a sejten kívüli proteázok szinte mindegyike egy kisebb-nagyobb részlet lehasadása után válik aktívvá.

Különbségek az *in vitro* és *in vivo* fehérjeszerkezet kialakulás között

A ribonukleáz enzim reverzibilis denaturációjának *Christian Anfinsen* és munkatársai által elvégzett kísérlete (Anfinsen, 1973) azért volt a fehérjebiokémiai kutatások Nobel-díjjal jutalmazott jelentős mérföldköve, mert bizonyította, hogy a fehérjére jellemző összes információ a fehérje primer szerkezetével (az aminosav szekvenciával) meghatározott, és hogy a fehérjeszerkezet kialakulása spontán folyamat.



Az Anfinsen-kísérlet. A kísérletben a ribonukleáz enzim szerkezetét kétféle anyag segítségével rontották el. A ribonukleázban található diszulfidhidak hasítását egy SH-csoportot tartalmazó kis molekula, a β -merkaptóetanol biztosította. Az enzimet összetartó hidrogénhidakat pedig egy olyan molekula, a karbamid vagy más néven urea hozzáadásával zavarták meg, amely maga is nagyon szeret hidrogénhidakat képezni. Nagy mennyiségű karbamid jelenlétében ugyanis a fehérjék aminosav-oldalláncai és peptidkötései a hidrogénhidakat nem a fehérje egy másik részletével, hanem a karbamiddal alakítják ki. β -merkaptóetanol és karbamid jelenlétében tehát a ribonukleáz kitekeredett, inaktív lett. Idáig a kísérlet legfeljebb egy biokémiai előadás demonstrációs kísérlete, és nem egy Nobel-díjas munka. Anfinsen azonban a denaturáció után lassan és fokozatosan elvonta mindkét denaturálószeret, a β -merkaptóetanol is, és a karbamidot is. Nagy meglepetésre a ribonukleáz visszanyerte eredeti aktivitását. Ebben az volt a különösen meglepő, hogy a ribonukleázban lévő négy diszulfidhíd (S-S híd) felbomlásával képződő nyolc SH-csoport összesen 105-féleképpen tudott volna kombinálódni, de ezek közül a kombinációk közül csak és kizárólag a natív szerkezettel rendelkező enzimre jellemző egyetlen SH-csoport párosodás alakult ki. Azaz a kísérlet bizonyította, hogy az aminosavsorrendben a fehérje alakja is kódolt. Mai eszünkkel tudjuk, hogy Anfinsennek nagy mázlija volt, hogy a ribonukleáz választotta kísérleti rendszernek. Sok más fehérje ugyanis segítség nélkül soha nem tekeredne vissza a natív szerkezetbe. A ribonukleáz azonban kisméretű enzim, így betekeredése segítség nélkül is csaknem zavartalan.



Kivétel az Anfinsen-féle alapelv alól. Anfinsen szerint minden fehérje alakját a fehérjét felépítő aminosavak sorrendje határozza meg. Még ma is „dogmaként” tanítjuk e megállapítást. Pedig ez alól is van kivétel. Ha a tekeredés során a fehérje több, egymáshoz közeli energiaszinten lévő állapotba huppanhat vagy a minimális energiájú fehérjealakot nagy energiagátak veszik körbe, a fehérje energiaminimuma nem egyértelműen meghatározott vagy nem elérhető. Ilyenkor könnyen elképzelhető, hogy a külső környezet megfelelő változásai más-más helyi minimumba lökdösik a fehérjét, azaz ugyanahhoz az aminosavsorrendhez több, a környezet által kialakított fehérjealak is tartozhat. Ennek a konformációs csikicsukinak igen jó példája a szubtilizin nevű proteáz, amelynek a C-terminális

végén lévő aktív centrumát az enzim N-terminális fehérjedoménje tekeri be. Ha a tekerésben segítő fehérjedomént megváltoztatjuk, a változatlan aminosavsorrendű katalitikus résznek eltérő alakja lesz (Shinde és mtsai., 1997). Valószínűleg csak idő kérdése, hogy a szubtilizin mellett még több Anfinsen-ellenes fehérjét találjanak.

Az Anfinsen-kísérlethez hasonló *in vitro* fehérje-renaturáció azonban számos ponton eltér a fehérjék *in vivo* körülmények közötti betekeredésétől. Az *in vitro* folyamat a nagyobb fehérjéknél órákat igényel (vagy teljesen megreked). Ezzel szemben az *in vivo* betekeredés legfeljebb perceket vesz igénybe. *In vitro* a fehérje-koncentrációt nem lehet sokkal 0,1 mg/ml fölé emelni, mert ennél lényegesen magasabb fehérje-koncentrációnál az olvadt gombóc hidrofób felszínei miatt a tekeredő fehérjék összeragadnak, aggregálnak. *In vivo* a fehérje-koncentráció ennél legalább százszor-ezerszer magasabb, aggregáció mégsem tapasztalható.

In vitro az egész fehérje egyszerre tekeredik. Képzeljük el, ahogy egy fehérjerészlet *in vivo* a riboszómából „kibújik”! A frissen szintetizált fehérjedarabnak először az N-terminális nyerheti el végleges állapotát, amit csak később követhet a fehérjedarab szintézisének végén megszülető C-terminális betekeredése. Ha a fehérjedarab két vége a születés során külön-külön tekeredik be, mi történik később, amikor a mindenféle káros hatások a kész fehérjét kitekerik? Honnan fogja tudni az egyik vége, hogy nem szabad a másik végéhez hozzátapadnia? (Javasolom az olvasónak, hogy a legtöbb ilyen tekerészeti probléma elgondolása során idézze eszébe nagymami legkedvesebb giccset a szalonból: két macska játszik egy gombolyaggal. A gombolyag a tekeredő fehérje, a két macska pedig egy-egy stresszfehérje. Ha egér is volt a képen, annak a helyébe nagyszerűen behelyettesíthető az a kutató, aki ennek a rendszernek a kutatására adta a fejét... Egyelőre azonban felejtjük el az állatokat és koncentráljunk a gombolyagra. Ha a gombolyag két végét eredetileg külön-külön tekertem össze, majd utána a két gombóc leesik, és a kapkodásban egy csomóba tekerem össze őket, szinte biztos, hogy az eredetileg különálló két gombolyagvég össze fog keveredni.) Biztos tehát, hogy van a sejtben egy olyan mechanizmus, amelyik arra ügyel, hogy a születő fehérjedarabkák eleje ne kezdjen el tekeredni addig, amíg a fehérjedarabka vége meg nem született. A frissen született fehérjék tekeredésének rejtjelmeire a 4.1. fejezetben térek vissza.



Foglaljuk össze a tekeredésben lehetséges, eddig felsorolt bajokat, illetve a segítség módjait! Megállapítható, hogy *in vivo* körülmények között kell, hogy legyenek olyan mechanizmusok, amelyek

- védik a frissen szintetizált fehérjét az aggregáció ellen,

- megakadályozzák, hogy „túl korai” (csak az N-terminálisra kiterjedő) betekeredés következzen be,
 - visszafordítják a tekeredő fehérjéket a tekeredés zsákutcáiból, illetve
 - meggyorsítják a fehérjeszerkezet kialakulásának záró, sebességmeghatározó lépéseit: a prolin melletti peptidkötések izomerizációját, a diszulfidhidak kialakulását és a hidrofób mag lassú rendeződését.
- E feladatokat a sejten belül a stresszfehérjék látják el.



Muszáj mindenkinek tekeredni?

Az előzőekben témérdek oldalon keresztül részleteztem, hogy mennyi minden szintje van a fehérjék szerkezetének, és hogy milyen nehéz, milyen sok segítséget igénylő feladat az, hogy a jobb sorsra érdemes fehérje mindezen akadály ellenére be tudjon tekeredni. Korábban már azt is említettem, hogy messze nem minden aminosavsorrend képes a betekeredésre, és a sikeresen tekerhető szerkezetek száma meglepően csekély (Orengo és mtsai., 1994). A természet azonban jónéhány esetben nem erőlködik, nem gyömöszöli bele a fehérjét a kisszámú alaksablon valamelyikébe: a tekerendő fehérje bizonyos részei vagy szélsőséges esetben a teljes egésze (!) egyáltalán nem tekeredik (Wright és Dyson, 1999). Az ilyen fehérjék nagyon alkalmasak arra, hogy más fehérjékhez, DNS-ekhez, RNS-ekhez kötődjenek, és arra is, hogy az ide-oda változó alakjukat egy kis hatás (például az egyik aminosav-oldalláncuk foszforilációja) az egyik vagy másik formában rögzítse. A tekeretlen vagy tekerhetetlen fehérjék a 4.3. fejezetben részletezett jelátviteli folyamatok ideális szereplői lehetnek.



Miért nem ragadnak a tekerhetetlen fehérjék mindenhova?

2.4. Mi a stresszfehérjék szerepe a fehérjetekeredésben?

A funkcióra utaló definíció szerint a stresszfehérjék olyan fehérjék, amelyek más fehérjék instabil alakjaihoz kötve, azokat stabilizálva, megszabják az adott fehérje sorsát a sejten belül (Ellis és van der Vies, 1991; Hartl, 1996).

A stresszfehérjék sejten belüli szintje a változatos környezeti stresszek hatására általában növekedni szokott (a stresszfehérje-szintézis mechanizmusának részleteit lásd az 5.3. fejezetben). Környezeti stressz hatására a sejten belüli fehérjék károsodása (alakváltozása) is bekövetkezik. A stresszfehérjék speciális családjainak tagjaira, például a főzésre keletkező hősokkfehérjékre (Hsp-kre), a cukormegvonás alkalmával keletkező glukózregulált fehérjékre (Grp-kre) és a többi stresszfehérjére azért van tehát stressz után fokozott mennyiségben szükség, hogy a stressz hatására károsodott fehérjék „helyretekerésében” jobban, nagyobb mértékben tudjanak közreműködni. A stresszfehérjék tehát a sejten belüli védekezési mechanizmus elemei. Ez a mechanizmus igen ősi, és nagyon valószínű, hogy valamilyen kezdetleges formája már az első földi élőlényekben is létezett (7. fejezet).



Miért van szükség sokféle stresszfehérjére?

Egyrészt azért, mert valószínű, hogy a különböző stresszt elszenvedett sejtekben a sejt fehérjéi különbözőképpen mennek tönkre. Glukózmegvonás során a fehérjék némelyikére ragasztott cukoregységek sérülnek a leghamarabb, míg hősokk alkalmával a fehérje szerkezetének egésze cincálódik szét. Másrészt az eukarióta sejt különböző részeiben legtöbbször más és más stresszfehérjék ővják társaikat a bajban. Így a glukózregulált fehérjék leginkább az endoplazmatikus retikulumban,

míg a hőszokkfehérjék inkább a sejt más részein találhatóak, mint ahogy azt a 4.6. fejezetben részletesen ismertetem.

Annak részletes ismertetésére, hogy melyik stresszfehérje melyik tekeredési bajra (aggregáció, N-terminális, tekeredési zsákutca és gyorsítás) jelent valamilyen gyógyírt, a 3. fejezetben kerül sor. Ebben a részben a stresszfehérjékre jellemző általános kérdésekkel foglalkozom. Melyek ezek?

A stresszfehérjék funkciójukkal összefüggő általános tulajdonságaira már a definícióból is következtethetünk. A stresszfehérjék a meghatározás szerint más fehérjék instabil alakjaihoz kötnek. Hogyan ismerik fel ezeket az instabil alakokat? Hogyan kötnek a stresszfehérjék „áldozataikhoz”? Hogyan segítenek? Honnan tudják, hogy már nem kell segíteni? Hogyan válnak le?

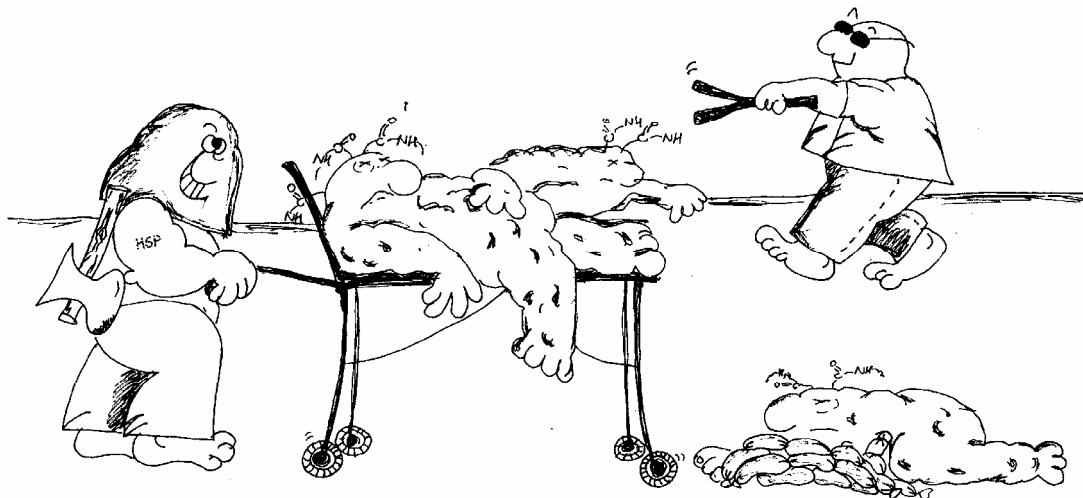
Mit köt? Hogyan köt?

A figyelmes olvasó talán rájött már arra, hogy mi a válasz a „Mit kötnek a stresszfehérjék?” kérdésre. Ha funkciójukból következően a stresszfehérjéknek olyan fehérjéket kell megkötniük, amelyek alakja hibás, akkor muszáj, hogy egy olyan szerkezetbeli elemet ismerjenek fel, amely csak a hibás fehérjékben fordul elő. Mi lehet tehát a legfontosabb szerkezetbeli különbség egy félkész és egy kész fehérje között? Ha visszagondolunk a tekeredés fázisairól mondottakra, és összehasonlítjuk a köztitermék (az olvadt gombóc) tulajdonságait a natív, kész fehérje sajátjaival, akkor azt mondhatjuk, hogy három lényeges különbséget lehet felfedezni: a natív fehérje tömöttebb, belseje rendezettebb és a natív fehérje felszínén nincsenek hidrofób részletek. A tömötségben jelentkező, mintegy 10 százalékos változást a stresszfehérje nem képes detektálni. Fehérjeszinten a puffadás mai tudásunk alapján észrevehetetlen. Ugyanígy nagyon valószínűtlen, hogy a stresszfehérjék röntgenszemeikkel belelátnak a közeli fehérje gyomrába, és meg tudják állapítani, hogy „bizony neked pajtás odabent a beleid még össze vannak gabalyodva”. Ha a kóros puffadások és a bélcsavarodás fehérjék között detektálhatatlan, marad a sérv mint egyetlen kórisme. A stresszfehérjék a károsodott, tekeretlen fehérjék kitüremkedő hidrofób felszíneit ismerik fel.



A kilógó peptidkötés mint a stresszfehérjéket mozgósító másik lehetőség jel. A beteg fehérjék más módon is elárulhatják magukat. A másodlagos fehérjeszerkezeti elemekről a fejezetben már említettem, hogy aminosav-oldalláncaikat kívül hordják, és emiatt az α -hélix olyan, mint egy szőrös hernyó, a β -redős lemez pedig mint egy sertéjével kifele összerakott körömkefe-pár. E szerkezeti elemek az aminosav-oldalláncok prezentálásával párhuzamosan elrejtik a fehérje peptidkötéseit. (Ez az egyik fontos oka annak a meglepő tapasztalati ténynek is, hogy hibátlanul betekeredett fehérjéket a hasító proteáz enzimek csak kevés helyen támadnak meg. Végző soron ezért savas a gyomrunk, és ezért főzzük meg ételünket is. A savasítás és a melegítés ugyanis a fehérjék szerkezetét fellazítja, és ezáltal peptidkötéseiket a bontóenzimek számára elérhetővé teszi.) Így az a fehérje „elég rossz bőrben van”, amelynek „kilógnak a peptidkötései”. Könnyen lehet, a stresszfehérjék egyik osztálya a kilógó peptidkötések felismerésére szakosodott. Ezek a stresszfehérjék valószínűleg a még annál is szerencsétlenebb fehérjéket ismerik fel, mint a hidrofób részeket felismerő társaik, hiszen a peptidkötéseiket kilógató fehérjéknek nemcsak a harmadlagos, hanem a másodlagos szerkezetük is károsodott. A peptidkötések szerepét a stresszfehérjék felismerő mechanizmusában még kísérletesen nem bizonyították. Azonban az ilyen stresszfehérjék a kilógó peptidkötésekkel rendelkező fehérje-torzszüleményeket a reménytelen tekerési

kísérletek után valószínűleg könnyebben tudják átadni (a 4.7. fejezetben részletezett) fehérjelebontó rendszereknek, mint a hidrofób felszíneket felismerő társaik. Nem véletlen, hogy a „peptidfelismerő” szerepre igen alkalmas Hsp70 és Hsp90 fehérjék, és nem a hidrofób felszíneket kötő Hsp60 az a két stresszfehérje, amelyeket a fehérjelebontó rendszerekkel asszociáltan találtak meg (Wigley és mtsai., 1999; lásd részletesebben a 4.7. fejezetben).



Hogyan köti meg a stresszfehérje a hidrofób kitüremkedéseket? Hidrofób felszínével, amely ezekhez a hibahelyekhez hozzáragad. A stresszfehérjék azon kevés fehérjék közé tartoznak, amelyek annak ellenére tudnak tartósan életben maradni, hogy hidrofób felszínekkal rendelkeznek. (Az egy külön misét érdemelne, és mind a mai napig nem teljesen tisztázott kérdés, hogy mi lehet a stresszfehérjék azon különleges tulajdonsága, amely megengedi e hidrofób felszínnek fennmaradását.)



Hogyan őrzi meg a stresszfehérje a hidrofób felszínét?



Amikor a hidrofób felszín hasznos. A fehérjebiokémiában járatosabb olvasó az előző eszmefuttatás olvastán felszisszen: ezt a jóembert elragadta a hév. Azt állítja, hogy a hidrofób felszínnek valami káros-kóros dolgok a fehérjék külsején, és mihelyt megjelennek, velük együtt jön a szanitéc, aki eltakarítja, de legalábbis eltakarja őket. No de kérem! Mi van azokkal a fehérjékkel, amelyek éppen hidrofób felszíneik révén kapcsolódnak egymáshoz vagy esetleg a sejt egyik membránjához? Hogyan működik a számos hidrofób fehérje-fehérje kapcsolat a jelátvitelben? Hogyan polimerizál az aktin, a tubulin, a bármi a sejten belül, ha a hidrofób felszín hiba, amit javítani kell? Valóban: a hidrofób felszín önmagában nem eltüntetendő hiba, és tényleg a sejt jelátviteli folyamataiban, szerkezetének kialakulásában kitüntetett szerepet játszik. De a szabad hidrofób felszín káros. Azért káros, mert két monomer aktin szabad hidrofób felszíne nemcsak egymáshoz, hanem akármilyen szabad hidrofób felszínű fehérjéhez is hozzátapadhat. Ez pedig a sejtes folyamatokat irányíthatatlanná teszi. A stresszfehérjék tehát irányító, segítő szerepet töltenek be minden olyan fehérje-fehérje kölcsönhatás (illetve fehérje-membrán kölcsönhatás) létrejöttében, ahol a hidrofób kapcsolódás játssza a főszerepet. Ennek a konkrét formáit a sejtszerkezetről és a jelátvitelről szóló 4.2. és 4.3.-as fejezetekben részletezem.

Mit tesz vele?

Ha már egyszer megkötötte a stresszfehérje „áldozatát”, vajon mit tesz vele? A válasz lényege egy szóval megadható: huzigálja. Tessék csak ismét nagymami

giccseére gondolni: a macska (kollektivista-avantgard giccspiktor felfogásában: több macska), amelyik játszik a gombolyaggal, tulajdonképpen kihuzigálja a fonalat. Ha a szálakat a képbeli helyzettel ellentétben valami (esetünkben a tekeredő fehérjét körülvevő víz) minden egyes huzigálás után újra meg újra visszanyomná a gombolyagba, előállna az a helyzet, amely újabb és újabb esélyt ad a gombolyagnak, hogy az egyedül helyes alakot öltse fel. (Mellékesen pedig frusztrálná a macskákat, de hát az élet már csak ilyen.) Ha a gombolyag még mindig nem rendelkezik a megfelelő alakkal, akkor még mindig kimaradt valami hidrofób részlet, amelyet a stresszfehérje (hergelődő macska) újra felismer és kihúz megint. Valóban: a helyes tekeredéshez a legtöbbször nagyon sok (legalább tucatnyi) elemi huzigálás szükséges.

Rendben. Tételezzük fel, hogy Sziszfusz névre hallgató cicánk végtelen türelemmel huzigál. Minek a rovására? Honnan kapja ehhez az energiát? A stresszfehérjék macskatápjá az adozin-trifoszfát molekula, az ATP. Kötésével a stresszfehérjék megváltoztatják alakjukat, hidrolízisével pedig eredeti állapotukba visszaalakulnak. Az ATP hidrolízise során (amely a stresszfehérjék úgynevezett ATP-áz aktivitása révén valósul meg) az ATP molekula egy molekula víz belépésével adozin-difoszfáttá, ADP-vé és foszfáttá hasad. Ilyenkor az ATP szélső két foszforsavát összekapcsoló, úgynevezett magasenergiájú kémiai kötés felhasadásával energia szabadul fel.

Te jó ég! Ez a stresszfehérje egy parazita. Ide-oda hajlítgatja magát és közben hidrolizáltatja az ATP-t. Aki tanult valamit a glikolízisről, a Szent-Györgyi–Krebs- ciklusról vagy a mitokondriumok energiatermelő folyamatairól, az most csóválja a fejét. Nem jó ez így. A sejt hosszú és bonyolult folyamatokban halmozza fel az ATP-t, amelyet ezek a látszólagos jótündérek elvesztegetnek. Nem így van. A stresszfehérjék „ATP-ciklusa” során a stresszfehérje váltakozva magas és alacsony affinitású komplexet képez a tekerendő fehérjével (részletesebben a 3.3. fejezetben). Ezek megkötése nélkül az ATP-áz aktivitás csekély. Az ATP hidrolízise során felszabaduló energia viszont nemcsak a stresszfehérje alakját változtatja meg, hanem ezzel együtt a stresszfehérjéhez hozzáragadt tekerendő fehérje is kifeszül. Így a huzigálás egy elemi lépése legalább egy ATP hidrolízisét igényli. Számítások szerint egy átlagosan elrontott fehérje megjavításához körülbelül 100 ATP hidrolízise szükséges. Sejtjeinknek igen költséges dolog tehát a gazdájuk fehérjekárosodást okozó helytelenkedése. Ezzel együtt azonban még mindig olcsóbb a stresszfehérjéket táplálni, semmint a kérdéses fehérjét újra szintetizálni, hiszen egy 100 aminosavas még alig-fehérje szintézise is körülbelül 400 ATP-nyi energiát igényelne még abban a legkényelmesebb esetben is, ha kész aminosavakból indulunk ki.

Az eddigiekben a stresszfehérjék működésének néhány általános szempontját tekintettük át. Az egyes stresszfehérjék működésének konkrét elemeit a 3. fejezetben foglalom össze.

Mikor kész? Hogyan ereszti el?

A képzeletbeli stresszfehérje-cicus már órák óta huzigálja a tekeredő fehérjét jelképező gombolyagot. Ki mondja meg neki, hogy álljon le? Ha a stresszfehérjéknek a hibás fehérjéket megkötő „kötőszignáljára”, a hidrofób felszínre visszagondolunk, a válasz adódik: ha már elfogyott a felszíni

hidrofób elem, a stresszfehérje nem talál fogást az immár betekert fehérjén a következő menetben, azaz: elereszti.

Amikor a hóhért akasztják... Ki tekeri a stresszfehérjéket?

Amikorra az ember eddig ér az ismertetésben, már mindenki érti, milyen módon és miért tekerednek a fehérjék általában. De hogyan tekerednek a stresszfehérjék? Tulajdonképpen megdöbbentő, és lassan már botrányos is, hogy korrekt, kísérletes választ erre az igen helyénvaló kérdésre jelenleg nem tudunk adni. Az általános hiedelem az, hogy a stresszfehérjék egymást, illetve magukat tekerik. Az ettől különböző magyarázatot (tudniillik, hogy nem kell őket tekerni, mert oly különleges a szerkezetük) egy kicsit valószínűtlenné teszik azok a kísérletek, amelyek a stresszfehérjék denaturálhatóságáról, de nem meglepően magas stabilitásáról számolnak be. Ha a stresszfehérjék magukat tekerik, akkor természetesen előállt a tyúk-tojás probléma másodfajú esete: ki volt az Első Tekerő?

A kérdésre a válasz első fele abban áll, hogy a stresszfehérjék ugyan segítik a többi fehérje tekeredését, de számos fehérje tekeredéséhez nem nélkülözhetetlenek. Még a legmakrancosabb fehérjéből is be tud tekeredni néhány darab minden segítség nélkül. A kérdésre adott válasz második felét majd a 7. fejezetben részletezem, amikor bemutatom, hogy nem okvetlenül muszáj a stresszfehérjék által képviselt, bonyolult evolúciós fejlődést feltételező mechanizmusokat elképzelni a fehérjetekeredés segítésére. Megy az akkor is, ha a vizet megcukrozzuk, pici mosóport rakunk bele, esetleg beleköpünk... Persze ilyenkor a segítség nem olyan hatékony. De az első stresszfehérje ne válogasson.

A fehérjék helyes szerkezetének kialakításán túl a stresszfehérjék segítenek a citoplazma rendjének kialakításában, a jelátvitel és a sejtciklus szabályozásában, a sejten belüli membránokon keresztül megvalósuló fehérjetranszportban, a fehérjelebontásban és még számos más létfontosságú folyamatban a sejten belül. Ezekről a sejtes funkciókról a 4. fejezetben lesz szó. Stresszfehérjék (például hősokkfehérjék) indukciójával (például lázas állapotban) a betegségek által megtámadott szövetek, szervek gyorsabb regenerációja érhető el. A stresszfehérjéket a modern klinikai gyakorlat egyre szélesebb körben használja az agyvérzés vagy a szívinfarktus megelőzésére, illetve következményeinek enyhítésére. A klinikai alkalmazásokat a 6. fejezetben foglalom össze.



Amikor a fehérje magát tekeri: intramolekuláris chaperonok.

Nem minden fehérje tekeredéséhez kell külső segítség. A kinetikai kontroll ismertetésénél már említettem azokat a fehérjéket (legtöbbször proteáz enzimeket), amelyek frissen szintetizált formája egy később lehasadó részletet is tartalmaz (Cunningham és mtsai., 1999). Ez a fehérjedomén a fehérje legkorábban szintetizált, N-terminális részlete. Ezekben a fehérjékben a később lehasadó részlet segíti a fehérje többi részének a betekeredését, emiatt e fehérjéket intramolekuláris chaperonoknak is szokták nevezni. Az ilyen önkiszolgáló fehérjék a tekeredésüket segítő N-terminális domén nélkül nem tudják felvenni aktív formájukat. Abban az esetben viszont, ha az N-terminális részlettől megfosztott, és ezért tekeredésképtelen fehérjéhez visszaadjuk az N-terminális domént, megint képes lesz újra betekeredni (Shinde és Inouye, 1993).

2.5. A baktérium máshogy tekeri a fehérjét mint az ember

Milyen buta cím, gondolná – joggal – az olvasó. Hát persze, hogy a teremtés koronája másként teker, mint a beleiben kóborló milliárdnyi baktérium. A baj csak ott van, hogy – mint azt már említettem – a stresszfehérjék családja a földi lét egyik legszigorúbb konzervativitással örökölt rendszere. Így az általunk képviselt tekerési mechanizmusok – büszkeségünk ide vagy oda – szinte azonosak béllakóinkéval.

1997 óta, *Ulrich Hartl* munkássága alapján kezdjük sejteni, hogy azért valami különbség mégiscsak akad (Netzer és Hartl, 1997). A prokarióták translációja sokkal gyorsabb, mint az eukariótáké. Így a baktériumoknál a riboszómákból kibújó, frissen szintetizált fehérjék csak úgy belepotyognak a bakteriális citoplazmába, ahol döntő többségük az igen hatékony stresszfehérje rendszerek vendége lesz több-kevesebb ideig. Ha nem így tenne, összeragadnának velük együtt született társaikkal. Stresszfehérjék nélkül a bakteriális szülőszobából tehát csak többszörös sziámi ikrek kerülnének ki. Ezzel szemben az eukarióta (így az emberi) sejtek riboszómái stresszfehérjéket kötnek meg, és a riboszóma RNS komponense is olyan fejlett lett, hogy a stresszfehérjékkel együtt részt vesz a frissen szintetizált fehérje védelmében, N-terminálisának visszatartásában (2.3. fejezet), illetve tekeredésének segítségével. Kis túlzással azt mondhatjuk tehát, hogy a prokarióta koraszülöttekkel szemben az eukarióta (emberi) bébifehérje már kicsiny Pallas Athénaként, teljes fegyverzetben ugrik ki a riboszóma-Zeusz fejéből. Így az eukarióta citoszolban lévő stresszfehérjék csak néhány speciális bébifehérje (például fehérje kinázok, szteroid receptorok, aktin, tubulin) kezelésére szakosodtak, a többi frissen született fehérje még a riboszómához közel elnyeri végső formáját. Természetesen az eukarióta sejt citoplazmatikus stresszfehérjei is – a baktériumok stresszfehérjéivel azonosan – fontos szerepet töltenek be a stressz hatására elromló fehérjék visszatekerésében.



Judit Frydman (Thulasiraman és mtsai., 1999) újabb kutatásai ennek az elképzelésnek egy egészen frappáns bizonyítékát hozták: kísérleteikben olyan elrontott stresszfehérjét raktak bakteriális és eukarióta sejtek citoplazmájába,

amely elereszteni nem, csak megfogni képes a helytelenül betekert fehérjéket. Ez a csapda a baktériumokban tele volt rontott bébifehérjékkel, ezzel szemben eukarióta sejtekben teljesen üres maradt. Ez volt az a ritka példa, amikor egy negatív kísérlet okozta a legnagyobb örömet, bizonyítva, hogy eukariótákban a frissen szintetizált fehérjék korrekt állapotban, illetve a riboszómákhoz kapcsolódott saját stresszfehérjék által kötött, gondozott formában hagyják el születésük helyét, a riboszómát.

Az eddigi eszmefuttatásokban végig nem tisztáztam, hogy milyen baktériumról is beszélek. A „szokványosabb” eubaktériumról vagy a nemrég felfedezett és külön rendszerezett ősbaktériumról? E kérdés azért nem mellékes, mert a régebbinek gondolt (és ezért így elnevezett) ősbaktériumokról — nem utolsósorban stresszfehérjék vizsgálata alapján — kiderült, hogy az eukarióta sejtekkel még talán több azonosságot mutatnak, mint eubaktérium társaik (Gupta, 1998; Woese és Fox, 1977). Sajnos a frissen szintetizált fehérjék tekeredését egyelőre csak eubaktériumokban és eukariótákban nézték meg, ősbaktériumban (Woese és Fox, 1977) még nem. Így jelenleg nem tudjuk, hogy az ősbaktérium a tekeredés szempontjából ember-e vagy baci.



Mit tesznek a dologtalan stresszfehérjék az eukarióta

szervezetekben? Az előző eszmefuttatás szerint eukariótákban a stresszfehérjék meglehetősen dologtalanok, mert a citoplazma fehérjéi születés közben már betekerednek. Baktériumokban viszont a stresszfehérjék állandó munkára kényszerülnek, mert a frissen született bakteriális fehérjék csak úgy hömpölyögnek ide-oda a baktérium citoplazmájában. Ez a kép meglehetősen egybevág a 4.2. fejezetben részletesen kifejtett, egyelőre hipotetikus elképzeléssel, amely szerint az eukarióta stresszfehérjék egyik legfontosabb szerepe békeidőben (azaz a stresszmentes sejtben) az, hogy az eukarióta citoplazmának a bakteriális citoplazmáénál sokkal magasabb rendjét fenntartsák. Ez a „rend” persze nem lehet merev, mert akkor az eukarióta sejt meghalna. A 4.2. fejezetbeli elképzelés szerint az eukarióta sejt stresszfehérjéi tehát huzigálásuk zömét az eukarióta sejt citoplazmájában lévő transzportfolyamatok fenntartására és rendezésére fordítják.

3. A stresszfehérjék családjai

Mint ahogy arról már az 1. fejezetben szó esett, a stresszfehérjék csoportosítása nem egyszerű feladat. A nehézségek leginkább abból adódnak, hogy az elmúlt két-három évtized intenzív kutatásainak ellenére sincs még letisztázott képünk a fehérjék feladatairól, illetve a megismert feladatok fontossági sorrendjéről. Emiatt a legtöbb összefoglalóban a stresszfehérjéket fokozott szintézisük kiváltó oka szerint (például hősokkfehérje, glukózregulált fehérje, lásd az 1. fejezetben lévő *1. táblázatot*), illetve molekulatömegük szerint csoportosítják. Mivel az elmúlt évek során kezdett valamilyen képünk kialakulni arról, mi is az egyes stresszfehérjék legfontosabb feladata, a következő fejezetben az egyes stresszfehérje-családokat a jelenlegi tudásunk szerint feltételezett legfontosabb funkcióik alapján mutatom be. Az áttekinthetőség, és a témában valamelyest járatosabb (vagy a Függelékben megadott irodalmak segítségével utánaolvasni kívánó) olvasó eligazítására a *3. táblázatban* növekvő molekulatömegük szerint sorolom fel a stresszfehérjék legfontosabb családjait (Feige és mtsai., 1996; Lindquist, 1986; Welch, 1992), és megadom, hogy a könyv melyik részén kerül sor részletes ismertetésükre. A táblázat a legfontosabb prokarióta stresszfehérjék elnevezését is tartalmazza, hogy segítséget adjon a tájékozódáshoz a stresszfehérjék „névdzsungelében”.

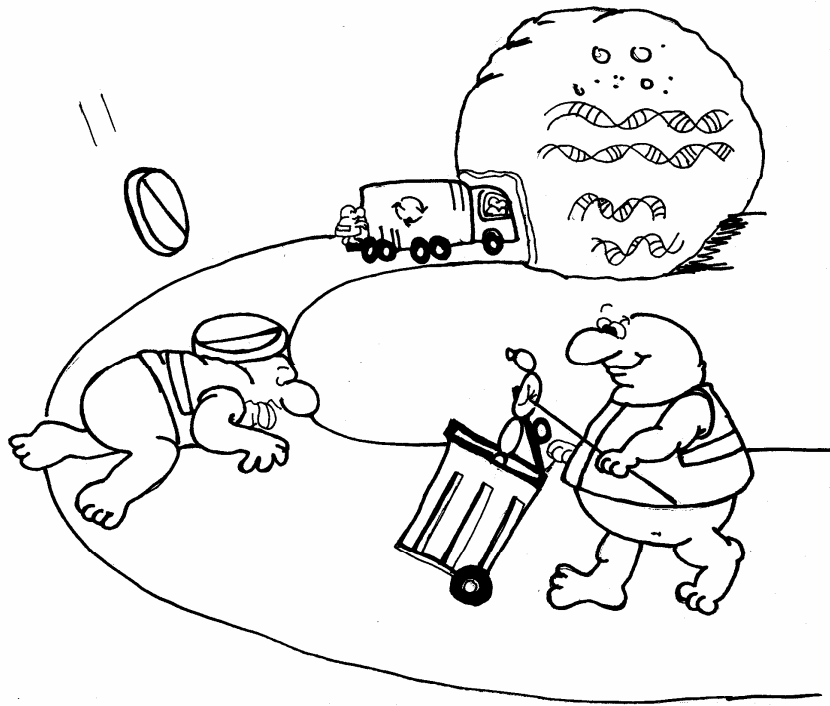
3. táblázat. A stresszfehérjék családjainak legfontosabb funkciói

A stresszfehérje családok molekulatömegük szerint	Legfontosabb prokarióta képviselők	Az egyes családok fő funkciói és részletes ismertetésük helye
kisméretű hősokkfehérjék (Hsp27*) Hsp60 stresszfehérje-család	GroEL (ko-chaperon: GroES)	a fehérjék aggregációjának gátlása (3.1. fejezet) a fehérje-betekeredés segítése (3.3. fejezet)
Hsp70 stresszfehérje-család	DnaK (ko-chaperon: DnaJ, GrpE)	a fehérje-betekeredés segítése (3.3. fejezet)
Hsp90 stresszfehérje-család	HtpG	a fehérjék aggregációjának gátlása (3.1. fejezet)
Hsp100 stresszfehérje-család	ClpA	a fehérjeaggregációjának szétszedése (3.2. fejezet)
protein diszulfid izomerázok	DsbA	a diszulfidhidak helyes kialakításának segítése (3.4. fejezet)
peptidil-prolil cisz/transz izomerázok		a prolin melletti peptidkötések helyes térszerkezetének kialakítása (3.5. fejezet)

*A Hsp megjelölés az angol „heat shock protein”, azaz hősokkfehérje elnevezésre utal.

3.1. A sejtek szemétszedői

A fejezet címe láttán könnyen lehet, hogy az olvasó valamilyen méltatlan, kevésbé megbecsült feladatra gondol. Pedig a szemétszedésnél kevés fontosabb tennivaló akad. (Aki kételkedik, csak egy pillanatra gondoljon bele mondjuk egy hónapig tartó kukássztrájk várható következményeibe.) A klasszikus definíció szerint mindaz szemét, ami nincs a helyén. Ha a szemét fogalmát így definiáljuk, a stresszfehérjéknek a sejt belső rendjének fenntartásában végzett munkáját (amelyet a 4.2. fejezetben ismertetek részletesen) is szemétszedésnek lehet tekinteni. Ebben a fejezetben a stresszfehérjéknek azt a feladatát foglalom össze, amely a károsodott fehérjék (azaz: a szemét) befogásában és kezelésében testesül meg. Mint ahogy azt már a 2. fejezetben részletesen bemutattam, a fehérjekárosodás hidrofób fehérjefelszínnek megjelenéséhez vezet, ilyenkor a legtöbb fehérje „kiköpi a belét”. A hidrofób felszínű fehérjék a víz összenyomó hatása miatt egymással összetapadnak, azaz aggregálnak. Az aggregáció elleni védelem a stresszfehérjék egyik legfontosabb feladata.



A fehérjék összetapadása ellen szinte minden véd. A stresszfehérjék minden családjá alkalmas erre a feladatra, de ha kellő mennyiségben van jelen, akkor még olyan fehérjék is képessé válnak erre, mint a tubulin vagy a vérben jelenlévő albumin és globulin. Az aggregáció ellen védő anyagnak nem is muszáj fehérjetermészetűnek lennie. Elég ha cukrot, a membránokat felépítő lipideket vagy enyhe mosószerhatású anyagokat adunk nagy mennyiségben (csaknem mólos koncentrációban) az aggregálódó fehérjék oldatához (ezekre az úgynevezett kémiai chaperon molekulákra a 6.5. fejezetben még visszatérek). Mivel az aggregáció elleni védelem ilyen általános, csak azt a két stresszfehérje-családot, a kisméretű hőszokkfehérjék családját, illetve a 90 kDa-os hőszokkfehérje családot ismertetem ebben a fejezetben részletesen, amelyeknek az aggregáció elleni védelem kivül a fehérjetekeredéssel összefüggő szokásos feladatok közül más szerepe (mai tudásunk szerint) nincs.



Kóbor peptidek. A peptid is lehet szemét. A citoplazma egyik legfontosabb fehérjelebontó rendszerének, a proteaszómának részletes leírására a 4.7. fejezetben kerül sor. Annyit azonban a „szeméttudományok” kapcsán is érdemes megjegyezni, hogy a proteaszómában folyó fehérjelebontás végtermékei nem aminosavak, hanem néhány aminosavból álló peptidek (Kisselev és mtsai., 1998). A peptideket lesben álló peptidázok hasogatják tovább (Tamura és mtsai., 1998), de hogy ezek a peptidázok mennyire szorosan kapcsolódnak a proteaszómához, és milyen hatékonysággal fogják el a kiszökdő peptideket, arról nincs tudásunk. Mi történik, ha az elszökött peptidek kóborolni kezdenek a sejtben? Ilyenkor baj van. A véletlenszerűen egybenmaradt peptidek között ugyanis könnyen akadhat olyan, amelyik jól kötődik a sejt fehérjéinek valamely kötőfelszínéhez. Azonban a kóbor peptid által elfoglalt kötőfelszín „nem erre találták ki”. Így a szökevény peptid esetleg egy fontos jelátviteli utat gátol vagy valamely intermedier anyagcserebeli szabályozási folyamatot tesz lehetetlenné (Blum és mtsai., 2000). Bármilyen e fajta „közbeavatkozás” végzetes lehet a sejt számára. Emiatt a peptidek befogása létkérdés. Ebben a peptidkötésre képes stresszfehérjék rendkívül fontos szerepet tölthetnek be (Baranyi Lajos, Csermely Péter és Juhász Gábor, nem közölt adatok). Az elképzelést alátámasztják azok a megfigyelések, amelyek a Grp94 *in vivo* peptidkötését mutatják (Menoret és mtsai., 1999). A kóbor peptidek mellett az RNS vagy DNS

darabkák sodródása is veszély jelenthet. Ebből kiindulva elképzelhető, hogy bizonyos stresszfehérjék (például Hsp70 vagy Hsp90) RNS- vagy DNS-kötő tulajdonsága is része lehet a „nagy személtakarítási hadműveletnek”.

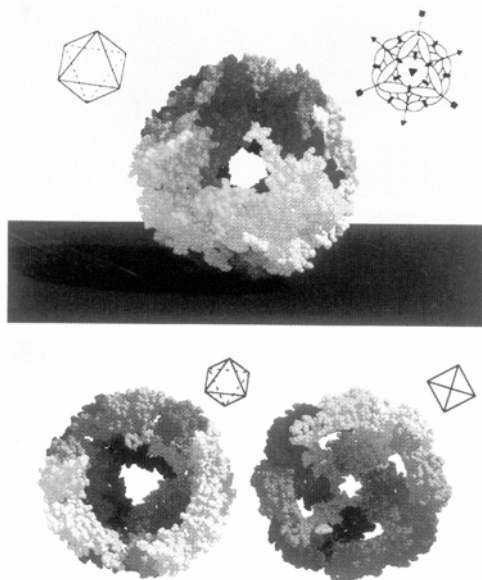
A kisméretű hőszokkfehérjék

A kisméretű hőszokkfehérjék családjába tucatnyi, egymástól néha meglehetősen különböző fehérje tartozik. A család legnépesebb csoportja a 25-27 kDa molekulatömegű hőszokkfehérjék családja. Tagjait általában a Hsp25, Hsp27 elnevezéssel illetik. Ezen stresszfehérjék közeli rokonai a krisztallinok, amelyeket először a szemlencsében találtak meg. A krisztallinokról nevezték el azt a közös C-terminális fehérjedomént, a krisztallin domént is, amely a stresszfehérjék ezen családjának majdnem minden tagjában megtalálható (Arrigo, 1998). Növényekben a család kisebb molekulatömegű változatai (le egészen a 12 kDa-os apróságokig) is előfordulnak, de ismeretes olyan túltáplált „kisméretű” hőszokkfehérje is, amely 40 kDa-nál is nagyobbra hízott.



Miért kell ennyiféle hőszokkfehérje?

Mi a közös e soktagú családban? A legtöbb kisméretű hőszokkfehérje kompenzálja a méretéből fakadó vélt hátrányait: óriási asszociátumokat képez. Ezek mérete elérheti az 1000-2000 kDa-t is, amely 40-80 kisméretű hőszokkfehérje komplexének felel meg. A *Methanococcus jannaschii* Hsp16 asszociátumának szerkezetét a 6. ábrán mutatom be.



6. ábra. A *Methanococcus jannaschii* Hsp16 kisméretű hőszokkfehérje komplexének szerkezte

Jelenlegi elképzeléseink szerint a kitekeredett fehérjék a lyukas labdaalakú komplex külső oldalára kötnek (Kim és mtsai., 1998 után)

A kisméretű hősokkfehérjék együttesének mérete igen széles tartományban változhat: az asszociátum a Hsp27-nek a stresszfüggő kinázok aktivációja során, illetve hősokk alatt bekövetkező foszforilációjával monomerekre esik szét. Mind a monomer Hsp27, mind asszociált formája képes a károsodott fehérjék megkötésére. Az asszociátum a felszínén köti meg szubsztrátjait, míg a monomer egy másként asszociáló nagyméretű komplexet képez velük (Haslbeck és mtsai., 1999). A kisméretű hősokkfehérjék önmagukban nem tudják a károsodott fehérjéket helyreállítani. Megkötésük után azonban át tudják adni őket a 3.3. fejezetben ismertetendő Hsp70-család tagjainak (Ehrensperger és mtsai., 1997; Lee és mtsai., 1997), amelyek immár képesek a károsodott fehérjék visszatekerésére. A kisméretű hősokkfehérjék tehát a stressz alatt addig őrizgetik az elrontott fehérjéket, ameddig a visszatekerésre szakosodott stresszfehérjék szabaddá nem válnak, hogy a kisméretű hősokkfehérjék által „feltálat”, károsodott fehérjéket kijavítsák.



Mitől átlátszó a szemlencse? Legidősebb fehérjematuzsálemeink.

A szemlencse igen különleges része testünknek. Nincs benne fehérjeszintézis és a szemlencsét alkotó fehérjék a külvilággal is igen kevésbé cserélődnek. Emiatt egy idősebb ember testében a szemlencse fehérjei a legöregebb fehérjék. Az öregedő fehérjékben nagyon sok kémiai változás történik. Ezekről részletesen a 6.4. fejezetben lesz szó. A korosodó fehérjék a kémiai változások miatt egyre jobban elromlanak. Ugyanakkor ahhoz, hogy a szemlencse átlátszó maradjon, a benne lévő fehérjéknek nagyon rendezettnak kell lenniük, és ezt a rendezettséget meg is kell őrizniük. Elromlott fehérje igen nehezen rendezhető. Így nem meglepő, hogy a szemlencsét alkotó fehérjék döntő többsége egy stresszfehérje, a kisméretű hősokkfehérjék családjába tartozó α -krisztallin. Az α -krisztallin nagyobb eséllyel veheti fel a küzdelmet maga és szomszédai deformálódása ellen, mint egy „szokványos” fehérje. Mi van, ha az α -krisztallin is csödöt mond? Ilyenkor sajnos a legtöbb esetben szürkehályog alakul ki, azaz a szemlencse elveszti átlátszóságát.

Az előzőekben említést tettem a Hsp27 foszforiláció hatására bekövetkező disszociációjáról. A Hsp27 monomer defoszforilált alakja gátolja az aktin-polimerizációt. Ezzel szemben a fehérje foszforilált formája stabilizálja a már kész aktin filamentumokat, és részt vesz a stressz hatására képződő, aktintartalmú, úgynevezett „stressz szálak” felépítésében. A kisméretű hősokkfehérjék a köztes filamentumok (például a dezmin) stabilizálásában is részt vesznek (van den Ijssel és mtsai., 1999). Mindezen felül a Hsp27 őrzi a citoplazma redukált állapotát, és képes gátolni a programozott sejthalál (apoptózis) kifejlődését is (Arrigo, 1998). A kisméretű hősokkfehérjék e sejtes funkcióiról a 3.4. és a 4.9. fejezetekben lesz részletesen szó. Mindeme sokrétű feladatok, de leginkább az elsőként említett szemétszedés miatt lehetnek fontosak a kisméretű hősokkfehérjék az úgynevezett termotolerancia kialakításában. A termotolerancia egy kezdeti, kisebb hősokk után alakul ki. Ilyenkor a sejt megedződik, és később olyan hősokkot is túlél, amely elsőre halálos lett volna a számára.

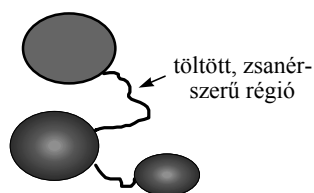
A 90 kDa-os fehérjecsalád

Három stresszfehérje tartozik ebbe a családba: a citoplazma legnagyobb mennyiségben előforduló stresszfehérjéje, a *Hsp90*, aminek endoplazmatikus retikulumbeli homológja a *Grp94*, mitokondriális homológja pedig a *Hsp75* (Csermely és mtsai., 1998; Pratt, 1997). Ezek közül a Hsp75-ről szinte semmit

sem tudunk, így a továbbiakban csak a másik két fehérje főbb tulajdonságait ismertetem.

A Hsp90 a citoplazma fehérjéinek akár 1-3 százalékát is kiteheti. Óriási mennyisége révén egy átlagos eukarióta sejtben sokkal ideálisabb szemétszedő, mint a kisméretű hősokkfehérjék. E szerepkörre annál is inkább alkalmas, mivel az elromlott fehérjék mellett peptideket, RNS- és talán más nukleotid darabkákat is köt (Csermely és mtsai., 1998). A Hsp90 a károsodott fehérjéket a kisméretű hősokkfehérjékhez hasonlóan addig tartogatja, amíg az újratekerésükre hivatott Hsp70-nek vagy Hsp60-nak át nem tudja adni őket.

N-terminális domén: ATP,
peptid és fehérje kötés
(geldanamycin érzékeny)



C-terminális dimerizációs domén:
peptid és fehérje kötés
(geldanamycin érzéketlen)

7. ábra. A Hsp90 szerkezete (Csermely és mtsai., 1998 nyomán)

A Hsp90 monomerek is asszociálnak egymással. A Hsp90 dimer formában fordul elő, de különösen hősokk hatására a tetramer, a hexamer és az oktamer Hsp90 formák is felszaporodnak. A fehérje vázlatos szerkezetét a 7. ábrán mutatom be. Az N-terminális domén röntgendiffrakciós analízise tisztázta, hogy ez az a fehérjedomén, amely a Hsp90 nukleotidkötéséért felelős. A nukleotid (leginkább ATP) kötése minden bizonnyal szerepet játszik a Hsp90 sejtben belüli funkcióinak szabályozásában (Csermely és mtsai., 1998; Prodromou és mtsai., 1997). A Hsp90 N-terminusán talált nukleotid-kötőhely igen sajátos szerkezetű: semmilyen „normális”, a sejtjeinkben előforduló fehérjével nem mutat hasonlóságot, csak a DNS betekeréséért felelős, ősbaktériumokban előforduló DNS-giráz molekula ATP-kötőhelyére hasonlít. Így nem meglepő, hogy a nukleotid-kötőhelyre bekötődő, egyre gyarapodó számú antibiotikum (a geldanamycin, a radicicol és társaik) a Hsp90 fehérjecsalád funkcióinak sejtes rendszerekben is specifikus gátlószereként viselkedik. A Hsp90 e tulajdonságával csaknem egyedülálló a stresszfehérjék között, ugyanis a többi stresszfehérjére nem ismeretesek olyan kémiai anyagok, amelyek hatékonyan és specifikusan gátolni tudnák az adott stresszfehérje működését.

A Hsp90-re a szemétszedő megjelölés annál is inkább ráillik, mert ez a fehérje a citoplazma talán legragadósabb fehérjéje. A fehérjének a 7. ábrán is bemutatott érdekessége, hogy a többi stresszfehérjével ellentétben nem egy, hanem jónéhány fehérje-kötőhelyet tartalmaz. Ezek más és más fehérjék és peptidek megkötésére képesek. Így nem meglepő, hogy se szeri, se száma azon fehérjéknek, amelyekkel a Hsp90 komplexet képez. Olyan ez a fehérje, mint egy sündisznó, amelyik végighempereg a sejtben, és tüskéire szűr mindent, ami csak a

közelébe téved. Vannak azért a Hsp90-hez célzottan kötődő fehérjék is. Ennek egyik példjaként a Hsp90 a sejtben az egyik legnagyobb fehérjetekelő apparátust, a foldosómát szervezi egybe. Ez a jónéhány stresszfehérjékből álló csomó felelős a szteroidhormon receptorok és számos, a jelátvitelben nélkülözhetetlen szerepet játszó fehérjemolekula helyes betekeredéséért (Pratt, 1997). A foldosóma működésének részleteit a 4.1. fejezetben ismertetem.



Amikor a kevés is sok: Hsp90 a sejtben. A Hsp90-t általában a citoplazma egyik legnagyobb mennyiségben előforduló stresszfehérjéjeként tartják számon. Ugyanakkor a részletesebb vizsgálatok során rendre kiderült, hogy a Hsp90-nek mintegy 5-8 százaléka a sejtben van vagy oda vándorol stressz hatására. Ez látszólag elhanyagolhatóan kis mennyiség. Azonban ha figyelembe vesszük azt is, hogy a Hsp90 teljes mennyisége az összes fehérjemennyiség akár 1-3 százaléka is lehet, a sejtben vándorló Hsp90 mennyisége egészen tetemesé válik. Egyre több jel utal arra, hogy ez a stresszfehérje ingázik a sejtben és a citoplazma között, és a sejtben a DNS és a hozzá kötődő hisztonok szerkezetének módosításával szabályozza a szteroidhormonok hatását (Csermely és mtsai., 1998, Liu és DeFranco, 1999).

A Grp94 az endoplazmatikus retikulum legnagyobb mennyiségben jelenlévő stresszfehérjeje. Szerkezete a Hsp90 7. ábrán bemutatott szerkezetéhez nagymértékben hasonlít. Sajátos vonásként a Grp94 – a Hsp90-nel ellentétben – kovalensen kötődő cukorrészeket is tartalmaz (glikozilált), és az endoplazmatikus retikulumnak a citoplazmában tapasztalhatóánál több nagyságrenddel magasabb kalcium-koncentrációján kalciumionokat köt meg. A Grp94 a Hsp90-hez hasonlóan valószínűleg „gyűjtögető” szerepet tölt be az endoplazmatikus retikulumban, de ennek a gyűjtögetésnek a mértéke és mikéntje még nem tisztázott. Elromlott vagy végleges szerkezetüket még el nem nyert fehérjék kötése mellett a Grp94 fokozott mértékben képes peptidok megkötésére is. A Grp94 peptidkötő tulajdonságának nagyon fontos szerep jut a peptidtermészetű antigének prezentációjában az immunválasz során, illetve a rákos megbetegedések és a vírusfertőzések elleni védőoltások kifejlesztésében. Mindennek a részletes ismertetésére a 6.8. fejezetben térek ki.



Antichaperonok I. A szemétszedő stresszfehérjék példája alkalmas arra, hogy említést tegyünk az antichaperon hatásáról, azaz arról, amikor a stresszfehérje megbolondul, és ahelyett, hogy megjavítaná, tönkreteszi a gondjára bízott hibás fehérjét. (Hasonlóképpen ahhoz az amerikai bébiszitterhez, aki a rábízott csecsemőt néhány jól irányzott rúgással akarta evésre biztatni...) Tekeredési katasztrófa áll elő, ha egy szemétszedő stresszfehérjét olyan fehérjével hozunk össze, amely magától is képes betekeredni. Ilyenkor a stresszfehérje nem tudja, hogy a mellette szenvedő fehérje valamikor majd magától is betekeredne: megfogja és őrizgeti, amíg egy arratévedő huzigáló típusú stresszfehérje ki nem menti a szerencsétlen tekeredni vágyó fehérjét a szemétszedő stresszfehérje karmai közül. (Hasonló eset ez, mint amikor a gondolataiba mélyedt vak bácsit a cserkészcsapat tagjai hatszor oda-vissza kísérgetik a zebrán vagy amikor a takarítónéni az elől hagyott mérési adatokat a kukába seprti.) Nem véletlen, hogy a baktériumokban, ahol az eukarióta sejteknél szabadabban kóborolnak a még be nem tekert fehérjék, nincs annyi szemétszedő stresszfehérje. Nincs rájuk szükség? Azt jelentené ez, hogy a baktériumokban nincs annyi szemét? Lehet, hogy az eukarióták azért annyira szemetesek, mert még mindig nem heverték ki a 7.3. fejezetben részletesen leírt, pármilliárd évvel ezelőtti egyesülés zavarait? Az antichaperonokra a 3.4., a 6.5. és a 6.6. fejezetben még visszatérek.



Miért van több szemét az eukarióták-ban, mint a baktériumokban?

3.2. A szétcincálók

Az előző fejezetben ismertett stresszfehérjék, a kisméretű hősokkfehérjék és a Hsp90 tehát szorgalmasan szedegetik a szemetet sejt szintre. Mi van, ha a sejt elönti a szemét? Vagy esetleg már megtelt a kuka? Ilyenkor a sejt katasztrófaközeli állapotba jut, ugyanis megkezdődik az össze nem gyűjtött szemét aggregációja. Nagy fehérjecsomók képződnek, amelyek minden további elromlott fehérje számára kicsapódási centrumként kezdenek viselkedni, azaz a stresszfehérjéknek vetélytársa akad a sejtben belül. Kialakul az a helyzet, amikor a szemétszedő a szeméttel magával verseng az újabb szemét kegyeiért.



Ilyenkor is van még kiút. Egyre több olyan stresszfehérjét ismerünk meg, amely képes a fehérjeaggregátumok feloldására. No azért ne tessék arra gondolni, hogy ezentúl a túlfőzött, kökemény, tízperces „lágytojáshoz” elég lesz hozzárakni egy kis stresszfehérje-koncentrátumot, és rögvest kedves kis háromperces lágytojás lesz belőle megint. A sejtes szétcincálók csak a laza aggregátumokat tudják feloldani. Hogy az előző mondatban a meglehetősen tudománytalannak hangzó „laza” szón mit is kell pontosan érteni, az nagyon sok kutatónak okoz e pillanatban is komoly fejtörést.



Mi dönti el, hogy az aggregátumot szét lehet-e cincálni?

A szétcincálásért a Hsp100-család tagjai a felelősek. A Hsp100 olyan stresszfehérje, amelynek monomerjei – hasonlóan a többi stresszfehérjéhez – egymással asszociálnak, és hexamert képeznek. A Hsp100 két ATP-kötőhellyel is rendelkezik, amely a szétcincálás fokozott energiaigényére utal (Schirmer és mtsai., 1996). A szétcincálást a Hsp100 a 3.3. fejezetben ismertetésre kerülő

Hsp70-nel és a Hsp70 segédfehérjéjével, a Hsp40-nel kölcsönhatásban végzi (Glover és Lindquist, 1998). A szétcincálás során a Hsp100 az, amelyik ténylegesen cincál, azaz a fehérjeaggregátum szerkezetét addig lazítgatja, amíg a leszakadó darabkákhoz a Hsp70/Hsp40 páros hozzá nem fér, hogy helyretekerje őket. Minden bizonnyal a Hsp100 szétcincálásban játszott aktív szerepe miatt létfontosságú a termotolerancia kialakításában. A termotolerancia, a kisméretű hősokkfehérjéknél már ismertetett módon azt a jelenséget írja le, amikor egy kezdeti, kisebb hősokk után a sejt megedződik, és később olyan hősokkot is túlél, amely edzetlen társainak halált jelent. A megedződés ebben a konkrét esetben azt jelenti, hogy az első figyelmeztetés hatására a sejt feltölti „Hsp100 készletét” és így a második hősokkot már lényegesen nagyobb cincálókapacitással várja, mint gyanútlan, meg nem edzett társai.



Hogyan cincál a Hsp100?

A bakteriális Hsp100 az aggregátumokat nemcsak feloldani, hanem egy vele rokonságban lévő bakteriális proteáznak, a ClpP fehérjének átadva a lebontásukat is el tudja érni. Hogy a Hsp100 hogyan dönti el, melyik fehérjét kell megmenteni, és melyiket lebontani, az még nagyon sok álmatlan éjszakát fog okozni a terület kutatóinak. Sajnos a baktériumokban és az élesztőben megismert Hsp100 stresszfehérje homológjait a magasabb rendű élőlényekben (így az emberben) csak a mitokondriumokon belül sikerült megtalálni (Santagata és mtsai., 1999). Lehet, hogy semmi se cincálja a mi citoplazmánkat? Halálra lennének ítélve? A helyzet azért annyira nem veszélyes. Egyrészt a még ismeretlen sok tízezernyi fehérje között csak akad egy citoplazmatikus szétcincáló, másrészt bizonyos mértékű cincálásra még az olyan köznapi fehérjék, mint a tejben megtalálható kazein is képesek (Bhattacharyya és Das, 1999).



Mikor ítélnék halálra egy fehérjét?



Az endoplazmatikus retikulum aggregátumait kívülről cincálják.

Egészen meglepő módon a citoplazmában elhelyezkedő Hsp100 az élesztő endoplazmatikus retikulumának belsejében aggregálódó fehérjék szétszedéséhez is szükséges (Hänninen és mtsai., 1999). A jelenség magyarázata még nem ismert, de elképzelhető, hogy az aggregátum egy csücskét az endoplazmatikus retikulum „kitolja” és így a citoplazma Hsp100-a hozzá tud férni. A tönkrement fehérjék ilyen kiszórása az endoplazmatikus retikulumból olyan trükk, amelyet a sejt a fehérjelebontás során is alkalmaz. Nagy meglepetésre ilyenkor a selejtes fehérjéket lebontó proteáz nem az endoplazmatikus retikulumban helyezkedik el, hanem a citoplazmatikus proteaszómával azonos (Plempner és Wolf, 1999; valamint 4.7. fejezet).



Hogyan lehet az endoplazmatikus retikulum ennyire lyukas?

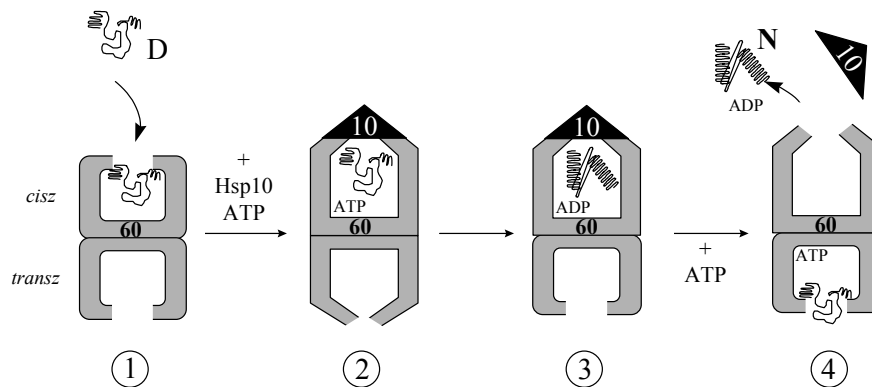
3.3. A huzigálók

Mint ahogyan azt az előző két fejezetben már leírtam, a helyes betekeredésre (újratekeredésre) váró fehérjéket a kisméretű hősokkfehérjék és a Hsp90 összegyűjtik, a Hsp100 pedig az aggregátumokról leválasztja. E három fehérjecsald egyik tagja sem képes azonban arra, hogy egymaga visszatekerje a kicsavarodott fehérjéket a helyes állapotukba. Ehhez a huzigálók két családjának egyike, a Hsp60 vagy a Hsp70 kell. Az előző fejezetekben ismertetett stresszfehérjék e két család tagjainak adják át a tekerendő fehérjéket. A család tagjainak közös vonása, hogy segédfehérjékkel (vagy az angolszász irodalomban elterjedt néven: ko-chaperonokkal) dolgoznak. A segédfehérjék leginkább ahhoz kellene, hogy a huzigálás energiaszükségletét fedező ATP hidrolízisét, valamint a huzigálandó fehérje kötődését és leválását kellőképp szabályozni lehessen.

A Hsp60, a stresszfehérjék ősanyja

A legkorábban megismert stresszfehérjék egyike a 60 kDa-os hősokkfehérje, a Hsp60 volt (Ellis és van der Vies, 1991). Ennek a fehérjének a tanulmányozását nagymértékben segítette, hogy a legegyszerűbb bakteriális rendszerben, a kólibaktériumban ez az egyik leggyakoribb stresszfehérje, és monomerjei egy igen stabil és igen szabályos, 14 tagú komplexet képeznek egymással. A komplex hasonlít két, talpával egymás felé fordított pohárhoz (8. ábra). A Hsp60 segédfehérjéje a Hsp10, amely egy héttagú asszociátumot képezve sapkaként ráül a Hsp60 egyik (8. ábra) vagy mindkét végére (azaz a Hsp60 néha a fenekén is sapkát hord).

A Hsp60 komplex pohárszerű szerkezete azért fontos, mert ezzel a szerkezettel a tekerendő fehérjét a pohár el tudja rejteni a külvilág elől. Az elrontott fehérje ugyanis a legtöbb esetben a Hsp60 üregének belső falához köt (8. ábra, ①). Amikor a Hsp60-üreget a Hsp10-sapka befedi (8. ábra, ②), az üregben rekedt fehérjét semmilyen külső körülmény (például aggregáció a többi fehérjével) nem zavarja abban, hogy natív szerkezetét megtalálja. Emiatt is nevezik a Hsp60-szerű stresszfehérjéket Anfinsen-ketreceknek, a fehérjetekeredés kutatásának egyik úttörője, *Christian Anfinsen* után. A 2.4. fejezetben már ismertetettek szerint a hidrofób felszín a legfontosabb árulkodó jel, ami arra utal, hogy hordozója „sérvet kapott, beteg”. Így a félig denaturált, kitekert fehérje kötődése általában a fehérje felszínre került hidrofób részei révén jön létre. Valóban, a Hsp60-hoz kötődő fehérjék nagyon sokszor a tekeredés köztes állapotában, az úgynevezett olvadt gombóc állapotban vannak, amelyre épp ezen hidrofób felszínek léte a jellemző. A Hsp60 nem egy ponton köti meg a tekerendő fehérjét, hanem körülöleli. A körülölelő üregbe azonban nem akármekkora fehérje fér bele. A legnagyobb méret, amelyet még egy Hsp60 „kezelt” tud, körülbelül 55 kDa. Az ennél nagyobb fehérjék vagy a következő fejezetben ismertetendő Hsp70 rendszer segítségével veszik igénybe a tekeredés során vagy pedig a Hsp60-hoz kötnek hozzá, de az üregből kilógnak, illetve esetleg az üreg belseje helyett a Hsp60 oldalával asszociálnak.



8. ábra. A Hsp60 működésének vázlatos mechanizmusa

Rövidítések: 60, Hsp60; 10, Hsp10 – a Hsp60 segédfehérjéje ; ADP, adenzin-difoszfát; ATP, adenzin-trifoszfát; D, tekerendő fehérjeszubsztrát; N, natív fehérje (Schneider, 2000 nyomán)

Az ATP és a Hsp10-sapka együttes kötése egy drámai szerkezetváltozást indukál a Hsp60-duplapohár felső részében (8. ábra, ①→② átmenet). A téralkat változás során a Hsp60 felső részei kinyúlnak, és a belső üreg mérete közel kétszeresére nő. Ráadásul a Hsp60 kinyúlása során a Hsp60-nak addig a fehérjéjé köté hidrofób részei becsomagolódnak a Hsp10 és a Hsp60 közös határfelületébe, és ezáltal a szubsztrát fehérje először kinyúlik, majd a Hsp60-ról leválik, és a pohár üregének közepébe potyog (8. ábra, ②). Ez a nyújtó-eleresztő mozgás (huzigálás) a fehérje tekeredésének a kulcsa. Miért? A hidrofób összerogyás során a víz csaknem kristályos szerkezete által túlzottan összenyomott fehérjéjé a Hsp60 ilyenkor széthúzza, és így a fehérje egy új esélyt kap a tekeredésre (Bukau és Horwich, 1998; Csermely, 1999a; Hartl, 1996). Ráadásul ez a „póttekeredés” a külső világ zavaró körülményeitől függetlenül játszódhat le.

A huzigálás alatt a tekerendő fehérje szerkezete meglazul. A fehérje belsejében lyukaknak kellene keletkezniük. A természet azonban nem nagyon szereti a vákumot. Amikor a Hsp60 ürege a duplájára nő (8. ábra, ①→② átmenet) több ezer vízmolekula áramlik be a stresszfehérje-komplex belsejébe. E vízmolekulák egy része a tekerendő fehérje belsejébe is bejut, és kitölti a kihúzás miatt keletkezett vákumot. A fehérjebelsőben vendégeskedő víznek azonban valószínűleg más szerepe is van a tekeredés folyamatában amellet, hogy pusztán térkitöltő legyen. A vízmolekulák a 2.1. fejezetben leírtak szerint a fehérjék szerkezeti átmeneteit a peptidkötésekkel alkotott, gyorsan ide-oda változó hidrogénhid kötésekkel meggyorsítják. (A víz az élet kenőanyaga, ahogyan azt a területet összefoglaló cikk – Barron és mtsai., 1997 – címe frappánsan megfogalmazta.) A fehérje belseje azonban hidrofób. Hidrofil víznek normális körülmények között semmi helye nincs ott, azaz a belső

átrendeződések sebessége roppantul kicsi. Így az, hogy a Hsp60 mintegy átmossa a tekeredő fehérjét vízzel, a tekeredés sebességének számottevő felgyorsulását, és az energiagátak jobb leküzdését okozhatja (Csermely, 1999a).



Hogyan huzigálja a Hsp60 az oldalról tapadó fehérjéket?

Rendben. A Hsp60-dulapohár felső része ravasz huzigálásaival, burkolásaival és a víz szörtyögtetésével igyekszik a helyes tekeredés útjára terelni a magukba gabalyodott fehérjéket. Mire jó a Hsp60 pohár alsó fele? Egy másik kérdésként: a 8. ábra ②-es állapotú Hsp60-ja honnan tudja, hogy a hasában tekeredő fehérjét mikor kellene már eleresztenie? Mitől nyílik ki az Anfinsen-ketrec? A válasz mindkét kérdésre abban rejlik, hogy a kötött adenosin trifoszfát (ATP) molekulákat a Hsp60 monomerek lassan elhidrolizálják. Hidrolízis közben a Hsp60 duplapohár alsó végének szerkezete megváltozik (8. ábra, ③) és szubsztrát, valamint Hsp10 kötésére képessé válik. A Hsp60-masina azonban olyan, mint egy hurkatöltő. Ha alul újabb szubsztrát köt hozzá, az alsó töltelék a felül lévő Hsp10-sapkát és a felső szubsztrátot az üregből kilöki (8. ábra, ④) (Bukau és Horwich, 1998). Emiatt a váltottütemű működés miatt nem válik az Anfinsen-ketrec Anfinsen-börtönné. Az ismertetés e pontján azonban meg kell jegyezni azt is, hogy bizonyos körülmények között a Hsp60 alsó része is sapkát kaphat, ilyenkor a dupla-pohár egy amerikai futballabdává alakul, és a tekeredés mechanizmusa kicsit más lesz (Török és mtsai., 1996).

Az eddigiekben leírt „chaperonciklus” ideje körülbelül 13-15 másodperc. Ennek a ciklusidőnek a hosszát leginkább az ATP hidrolízisének ideje szabja meg. Emiatt fontos, hogy a Hsp60 (a többi stresszfehérjével együtt) meglehetősen csapnivaló ATP-áz. Valamirevaló ATP-hasító enzim világgá bújdosna szégyenében, ha ilyen cammogó sebességű ATP-hidrolízissel rendelkezne. Ha a Hsp60 ATP hidrolízise egy kicsivel gyorsabb lenne, a tekerőmasina túl hamar köpné ki a tekeredő fehérjét. Márpedig a koraszülés ilyen kis méretekben sem hasznos. Ugyanakkor 15 másodperc nem sok. A legtöbb olvasó e bekezdést sem tudná ezalatt végigolvasni. Ennyi idő elég lenne a fehérjének a tekeredéshez? A legtöbbször sajnos nem. A fehérje — dajkálás ide, dajkálás oda — legtöbbször csak csöbörből vödörbe, azaz az egyik tekeredési csapdából a másikba (vagy akár ugyanabba a csapdába) kerül. Mit lehet ilyenkor tenni? Előlről kezdeni az egészet. Az Anfinsen-massázsszalonnak vannak törzsvendégei. Némelyik fehérjét a Hsp60 akár tíz egymást követő cikluson is végigdögönyöz (Houry és mtsai., 1999). Mindez azonban rengeteg (akár 60-100) ATP-be kerül. Ráadásul itt nem is a kliens fizet... Nem csoda, ha egy idő után a még mindig selejtes fehérje nem a következő ciklusra kap ingyenjegyet, hanem a kidobóemberek várják, akik a lebontó apparátus torkába taszítják. Hogy ki, és mi alapján dönti el, hogy meddig terjed a masszázsszalón potyázói iránt tanúsított türelem, az a terület sok izgalmas, de még nem válaszolt kérdéseinek egyike.

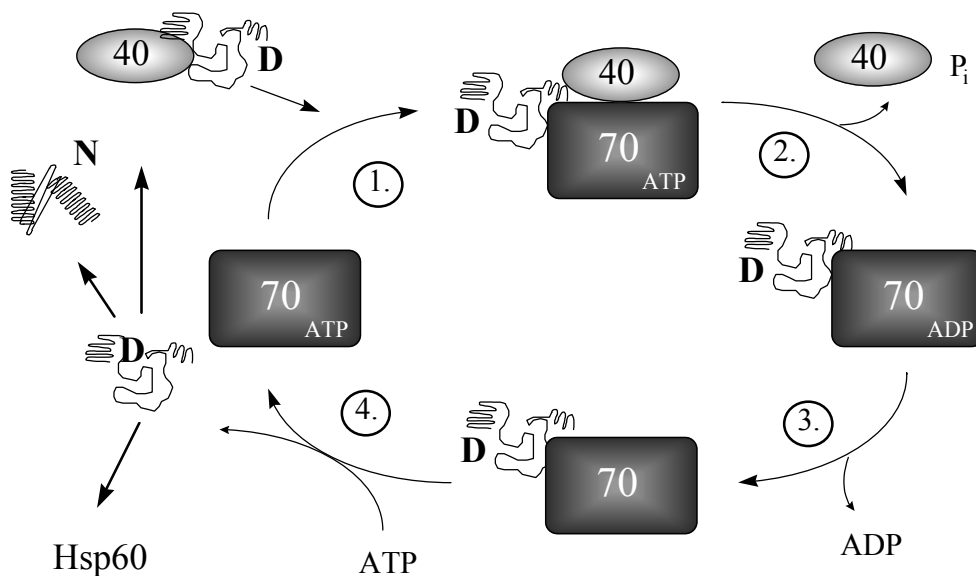
Eukarióták citoszoljában a Hsp60-szerű szerkezet kétszer hat helyett kétszer nyolc, egymáshoz csak főbb vonásaiban hasonló alegységből áll. Az eukarióta Hsp60 nem olyan általános huzigáló, mint bakteriális megfelelője, hanem leginkább az aktin és a tubulin betekerésére szakosodott (Bukau és Horwich,

1998; Hartl, 1996). Itt a Hsp10 valószínűleg nem sapkát, hanem a Hsp60-nal asszociáló gombócot képez, és odatereli az aktint, a tubulint és más szubsztrátokat a Hsp60-hoz (Vainberg és mtsai., 1998).

A Hsp70-család tagjai

A másik legfontosabb cincálók, a Hsp70-család tagjai sokkal változatosabb csoportot alkotnak, mint az előzőekben ismertett bakteriális és eukarióta Hsp60. A citoszolban és a sejtmagban kimutatható egy állandóan jelenlévő (konstitutív) és egy hőindukált *Hsp70*, ezenkívül ismert a mitokondriumban és az endoplazmás retikulumban előforduló Hsp70 (ez utóbbit *Grp78*-nak hívják), sőt, a családnak vannak 50-60 kDa-os és 110 kDa-os rokonai is. A Hsp70 *E. coliban* fellelhető változatát *DnaK*-nak hívják. A Hsp70-család tagjait egy még színesebb segédfehérje csapat segíti munkájában. A Hsp70 ATP-kötőhelye a fehérje N-terminális részén foglal helyet, és nagymértékben hasonlít az aktin, illetve a glikolízisben résztvevő enzimek ATP-kötőhelyéhez (Bork és mtsai., 1992). A peptidkötő régió a Hsp70 „túlsó végén”, a C-terminálison található. A valóságban ez a két fehérjerészlet egymással igen szoros kapcsolatban áll. Hasonlóan a többi hősokkfehérjéhez, a Hsp70 is képes az oligomerizációra, de e tulajdonságának a működésére gyakorolt szerepe ma még nem ismeretes.

A Hsp70 működését vázlatosan a 9. ábra mutatja. A Hsp60 körülölelő, sok helyen kötő tulajdonságával szemben, a Hsp70 a tekerendő fehérjének csak egy rövid, körülbelül 5-7 aminosavra kiterjedő szakaszát kapcsolja magához. A megkötött peptidnek meglehetősen nyújtott állapotúnak kell lennie és tartalmaznia kell 2-3 hidrofób aminosavat is (Bukau és Horwich, 1998; Hartl, 1996). A kitekert fehérjét az esetek nagy részében nem maga a Hsp70, hanem a vele együttműködő egyik stresszfehérje, a Hsp40 köti meg. A Hsp40-szubsztrát komplex a Hsp70 ATP-kötött változatával asszociál (9. ábra, ①). A Hsp40 átadja a szubsztrátot a Hsp70-nek, és leválik a Hsp70-ről. Eközben az ATP-t a Hsp70 hidrolizálja (9. ábra, ②). Végezetül az ADP leválásával (9. ábra, ③) és az ATP újbóli kötődésével (9. ábra, ④) a szubsztrát leválik a Hsp70-ről. A Hsp70-t segítő Hsp40 *E. coliban* található homológja a *DnaJ* névre hallgat.



9. ábra. A Hsp70 működésének vázlatos mechanizmusa

Rövidítések: 70, Hsp70; 40, Hsp40 – a Hsp70 segédfehérjéje; ADP, adenzin-difoszfát; ATP, adenzin-trifoszfát; P_i inorganikus foszfátion; D, tekerendő fehérjeszubsztrát; N, natív fehérje (Schneider, 2000 nyomán)

A Hsp60-ról elmondottak ismeretében várható, hogy a szubsztrát-Hsp70 komplex létének időtartamát érdemes igen pontosan szabályozni. Így nem csoda, hogy segédfehérjék egész csapatának ez a feladata. A Hsp70-szubsztrát komplex féléletidejét elsőként az ATP hidrolízisének sebessége szabja meg (9. ábra, ②). Ezt egy CHIP nevű fehérjével gátolni lehet. A második szabályozási pont az ADP/ATP-csere sebessége (9. ábra, ③ és ④), amelyet egy Hip nevű fehérje gátol. A ciklust gátló fehérjék (CHIP és Hip) végső soron a kezelésbe vett fehérje tekeredését is gátolják. Talán hasonló okokra vezethető az is vissza, hogy az *E. coli* ADP/ATP-cserét szabályozó fehérjéje, a GrpE lerontja a baktérium ellenállóképességét az igen magas (50 fokos) hőkezeléssel szemben (Delaney, 1990).



Hogyan huzigálhat a Hsp70? Mára a különböző állapotú Hsp60/szubsztrát-komplexek összehasonlító elektronmikroszkópos és röntgendiffrakciós elemzése alapján egy egészen korrekt kép állt össze a Hsp60 által segített tekeredés molekuláris lépéseiről. Ezzel szemben semmit sem tudunk arról, hogy molekuláris szinten hogyan is segítheti az 5-7 tagú peptideket kötő Hsp70 a tekeredést. Sajnos a Hsp70 nem képez olyan szabályos komplexeket, amelyek elektronmikroszkópos analízisét el lehetne végezni, és kristályosítása is sokkal nehezebb, mint a Hsp60-é. A jelenlegi hiányos ismeretek szintjén még spekulálni is nehéz arról, hogyan is huzigálhat ez a stresszfehérje. A betekerendő fehérjén a Hsp70-„kötőhelyek” egymástól átlagosan 20-40 aminosavra helyezkedhetnek el, így könnyen elképzelhető, hogy egy fehérjéhez több Hsp70 kötődik. Ez különböző fázisban mehet végbe, és így a tekerendő fehérjének mindig más és más szegmensét csipkedi, huzigálja a körülötte szorgoskodó Hsp70 sereg. Hogy ebben a feltételezett ide-oda cibálásban van-e valami rendszer, és ha igen, a rendszert mi teremti meg, ma még nem tudjuk. Ha a segédfehérjék (Hip, CHIP és társaik) átadódna a ciklus egyik részén lévő Hsp70-ről a ciklust fáziskéséssel teljesítő másik Hsp70-re, és így végső soron körbemászálnak a tekerendő fehérjét körülöngő Hsp70-seregen, akkor ez

elvből rendező erőként is működhet. Az így létrejövő, és a tekerendő fehérjén hullámszerűen körbejáró huzigálás-sorozat alkalmas lehet a tekeredési csapdák némelyikének kimasszírozására.



Részt vesznek-e az ATP koncentráció változásai a Hsp70-sereg rendezésében?

3.4. Az oxidáció ellen védők

A sejt citoplazmájában redukáló környezetet találhatunk. Minden bizonnyal ez még annak a fotoszintézis előtti kornak a következménye, amikor a Földön az élet kialakult, és amikor a földi atmoszféra egésze még redukáló volt (Csermely, 1997a; Szathmáry és Maynard Smith, 2000). Sajnos közben a sejtet körülölelő világ oxidálódva vált. Ráadásul az eukarióta sejt a mitokondrium „befogadásával” nemcsak többletenergiához jutott, hanem egy állandó veszélyforrással is gyarapodott. A mitokondriumban folyó oxidáció ugyanis messze nem veszélytelen folyamat. A részlegesen lejártszó (selejtes) oxidáció következtében a mitokondriumból lépten-nyomon oxigén szabadgyökök távoznak. Az oxigén szabadgyökök reakciókészsége a molekuláris állapotú oxigénének a sokszorososa. A szabadgyökök hatására tönkremennek a lipidmembránok, a nukleinsavak, és a fehérjék is károsodnak. A fehérjetekeredésben zavarok állnak be, például a rossz helyen létrejövő diszulfidhidak kialakulásával vagy más oxidált aminosav-oldallancok (például metionin) torzító hatása révén. Különösen nagy baj támad akkor, ha hosszabb-rövidebb oxigénhiány (iszkémia) után megérkezik az oxigén. Az oxigénhiányos életmódra átállt sejt ilyenkor iszonyatos „reperfúziós károsodást” él át.

A citoplazmában tehát küzdeni kell az oxidáció ellen. Az oxidatív stressz hatására egy sor fehérje indukciója figyelhető meg a sejtben. Ezek közül a legfontosabb a hemoxigenáz (Elbirt és Bonkovsky, 1999; Maines, 1997). Ez a fehérje a hemoglobin oxigénszállításában is részt vevő hem lebontásában vesz részt. A fehérje által katalizált bontó reakció terméke a biliverdin, amely egy további lépéssel bilirubinná alakul. A bilirubin a biliverdinnel együtt egy antioxidáns, azaz olyan molekula, amely sok kettőskötése révén sikeresen meg tudja kötni az oxigén szabadgyököket. Így a hemoxigenáznak igen fontos szerepe van a citoplazma redukív környezetének megőrzésében.

A korábban említett kisméretű hőshockfehérjék (Hsp27 és homológjai) megemelik a redukált glutation szintjét a sejtben belül. A glutation olyan glutaminsav, cisztein és glicin tartalmú tripeptid, amely redukált állapotban a sejt redukív állapotának egyik legfontosabb öre. A baktériumokban nemrég fedeztek fel egy olyan stresszfehérjét, a Hsp33-at, amely oxidatív stressz hatására aktiválódik, és ilyenkor kezdi kifejtetni a fehérjék tekerésében végzett áldozatos munkáját (Jakob és mtsai., 1999). Hasonló eukarióta fehérjék felfedezése csak idő kérdése. E fehérjék mesterséges aktivációjával nagyon sokat lehetne segíteni a szívinfarktusos és az agyvérzéses betegek felépülésében (lásd 6.1. fejezet).



Hogyan aktiválja az oxidatív stressz a proteázokat?

A sejtnak azonban vannak olyan fehérjéi is, amelyeket a sejtmembrán külső felszínére kell kiültetni vagy a sejtközötti térbe kell kijuttatni. Az eredetileg redukált fehérje mindkét esetben a rendeltetési helyén óhatatlanul oxidálódni fog. Az oxidáció diszulfidhidak kialakulásával jár. Ha a diszulfidhidakat túl gyorsan alakítjuk ki, könnyen lehet, hogy helytelen állapotban fogják a fehérjét rögzíteni. Így a diszulfidhidak keletkezését a sejt elhagyására felkészítő sejtservecskében, az endoplazmatikus retikulumban egy egész masinéria segíti. A segítő enzimek legfontosabbika a protein diszulfid izomeráz (Raina és Missiakas, 1997). Az enzim (amelyet Anfinsen csoportjával párhuzamosan két magyar tudós, *Venetianer Pál* és *Straub F. Brúnó* – Venetianer és Straub, 1963 – fedezett fel) a cisztein oldalláncok SH csoportjainak reverzibilis oxido/redukcióját katalizálja, és közben segíti a diszulfidhidakkal stabilizálódó fehérje korrekt szerkezetének kialakulását. Az endoplazmatikus retikulum oxidációs állapota átmenet a citoplazma és az extracelluláris környezet redoxpotenciálja között. Ez a redoxgradiens a protein diszulfid izomerázzal együtt képes arra, hogy fokozatosan készítse fel a szekrécióra, illetve a plazmamembrán külső oldalára kerülő fehérjéket a sejtben kívüli tér sokkal oxidatívabb környezetére.

A protein diszulfid izomeráz két félből áll. A fehérje egyik fele tartalmazza azt a két cisztein csoportot, amely felelős a diszulfidhidak átrendezéséért, a másik fele pedig az enzim dajkafehérje hatását hordozza. A protein diszulfid izomeráz ugyanis olyan fehérjék rendbetételére is képes, amelyek egy árva diszulfidhidat sem tartalmaznak. A protein diszulfid izomeráz redox reakcióra képes feléhez hasonló a bakteriális tioredoxin fehérje vagy a glutaredoxin, amely különböző redox reakciókhoz szállítja az elektronokat, és segít a redukív környezet fennmaradásában.



Antichaperonok II. A protein diszulfid izomeráznál ez a 3.1. fejezetben már említett morbid eset akkor áll elő, amikor a protein diszulfid izomeráz mennyisége lényegesen kevesebb (például ötöde), mint a diszulfidhidjai átrendezésére kényszerülő fehérje mennyisége. Ilyenkor a protein diszulfid izomeráz ahelyett, hogy a helyes – természetesen molekulán belüli – diszulfidhidak kialakulását segítené, az átalakítandó fehérjék között diszulfidhidakat alakít ki, és az egész tekerendő fehérjesereget egy nagy, diszulfidhidakkal kovalensen összekötött csurmókká aggregálja. (Nesze neked dajkahatás.) Az antichaperonokra a 6.5. és a 6.6. fejezetben még visszatérek.



Hogyan biztosítja a szervezet a chaperon helyes arányát?

3.5. A hajlítógatók

A 2.3. fejezetben említést tettem arról, hogy a peptidkötések cisz/transz izomerizációja egyedül nem megy végbe, mivel az izomerizációhoz szükséges átforduláshoz a peptidkötésen keresztül kúszó, delokalizált elektronokat újra izolált állapotba kell vinni, amely csak energiabefektetés árán lehetséges. Általában nincs is értelme annak, hogy a peptidkötés izomerizálódjon, mivel csak a transz állapota stabil. Kivétel e szabály alól a prolin melletti peptidkötés (5. ábra), amely a prolin gyűrűjének nagy térigénye miatt cisz állapotban is közel azonos energiájú, mint transz helyzetben. A prolin melletti peptidkötések

átfordulása a fehérjének újabb lehetőséget biztosít arra, hogy a szerkezetében felgyült feszültségeket csökkentse. Az átfordulás aktiválási energiáját a peptidil-prolil cisz-transz izomerázok (vagy másnéven rotamázok) biztosítják. Ezeket az enzimeket a továbbiakban hajlítatóknak hívom. A hajlítgatás pontos mechanizmusa nem ismert, de a hajlítatóknak a célbavett prolin mellett az átfordulás időtartama alatt meg kell szüntetni a peptidkötésre jellemző delokalizációt.



Hogyan hajlítgatnak a hajlítatók?



A prolinok hasznáról. Az előző eszmefuttatás nyilvánvalóvá tette, hogy a prolin melletti peptidkötés elég magas energiájú, mivel ilyenkor mind cisz, mind transz állapotban nagy helyigényű csoportok kerülnek egymáshoz közel. A prolinokról a 2.1. fejezetben már megjegyeztem, hogy jelenlétük gátolja az α -hélixek és β -redős lemezek kialakulását. Felvetődhet a kérdés: miért vannak prolinok *egyáltalán* a fehérjékben? Miért nem tűnt el ez az aminosav az evolúció szemétdombján? A kérdésre csak az egyik válasz az előző bekezdésben említett cisz-transz térállásbeli többletlehetőség, amellyel a fehérje más aminosavnál nem elképzelhető irányokban is folytatódni képes. A másik válasz az, hogy a prolingazdag fehérjerész ideális kötőfelszín. Miért? (1) A prolingazdag fehérjerész a prolin gyűrűs szerkezete miatt meglehetősen merev. Így kapcsolódásával a fehérjerész tekeredési szabadsága nem sérül annyira, mint egy átlagos fehérjedarabé. A kapcsolódás során így a fehérjerész entrópiája nem csökken annyira, emiatt a kapcsolódás energetikailag kedvező. (2) A prolin akceptorként igen szívesen vesz részt a kapcsolódást elősegítő hidrogénhidak kialakításában. (3) A prolingazdag régió nem képez sem α -hélixet, sem β -redős lemezt. Így szükségszerűen a fehérje felszínén kell lennie. Mindezek alapján nem meglepő, hogy számos, kulcsfontosságú kapcsolófehérjében (mint például az RNS-polimeráz szabályozó C-terminális részében, az ingerületátviteli anyagokat tartalmazó lipidhólyagokat kihorgonyzó szinapszinban vagy a jelátvitelben szereplő, SH3-doménnel rendelkező kapcsolófehérjékben) a kötődést ilyen, prolingazdag szakaszok biztosítják (Williamson, 1994).

A hajlítatók szívesen kötnek olyan prolintartalmú mesterséges peptideket, illetve peptid analógokat, amelyek az immunrendszerre gátló hatásúak. Ezen kötődési sajátságai alapján a hajlítatókat három nagy családra lehet osztani, a Ciklosporin kötő ciklofileinekre, az FK506 jelű immunszuppresszív anyagot kötő FKBP-kre (FK506-binding proteins) és a parvulinokra. Mindegyik családba csaknem tucatnyi 12 és 150 kDa közötti, változatos szerkezetű fehérje tartozik (Hamilton és Steiner, 1998). Ebből a természetes állatkertből két szereplőt szeretnék bemutatni. Az egyik a kólibaktérium FKBP-szerű, *trigger-faktornak* nevezett hajlítató fehérjéje, amely becserkéski a frissen szintetizált fehérjéket, és közel tereli őket a 3.3. fejezetben leírt Hsp60 masinériához. A hajlítatóknak a frissen szintetizált fehérjék tekerésében és irányításában betöltött szerepére a következő (4.1-4.2.) fejezetekben még visszatérek. A másik bemutatandó hajlítató a parvulinok közé tartozó *Pin1* jelű peptidil-prolil cisz-transz izomeráz. Ez a fehérje nélkülözhetetlen ahhoz, hogy a sejtciklus zavartalanul lejátsszódjon, mivel részt vesz a sejtciklus jó pár kulcsfontosságú szabályozó-fehérjéjének aktivációjában. A *Pin1* ugyanis csak olyan prolinokat ismer fel, amelyek mellett szerin vagy treonin van, és ezeket az aminosavakat előzőleg már a sejtciklust szabályozó fehérje kinázok foszforilálták (Yaffe és mtsai., 1997). Az Alzheimer-kórban szenvedő betegek idegsejtjeiben a *Pin1*-et az idegsejtokban felgyülő

fehérjeaggregátumok tartósan megkötik, ami az idegsejt sejtciklusát kilöki a nyugalmi helyzetből, és a sejthalál irányába tereli (Lu és mtsai., 1999).



Hogyan lehet dolgozni a sejten belüli zsúfoltságban? Az eddigiekben ismertetett különféle mechanizmusok (szemétszedés, szétcincálás, húzigálás stb.) zömét olyan körülmények között vizsgálták, amelyek még köszönő viszonyban sem voltak a sejt valóságos viszonyaival. A legfontosabb különbség a laboratóriumi feltételek és a sejten uralkodó tényleges viszonyok között a molekulák sűrűségében tapasztalható. A sejten a fehérjék és más molekulák sokszázszor olyan sűrű szirupot alkotnak, mint amilyen oldatokat a kísérletezők használni szoktak. Mi történik, ha a kísérleti rendszereket töményíteni kezdjük? A beálló változásokat összefoglaló néven molekuláris zsúfoltságnak nevezik (Zimmerman és Minton, 1993). A töménység növelésével a molekulák körül szép lassan elfogy a hely, ami kedvez az egymáshoz tapadásnak, az aggregációnak. Ilyen körülmények között a stresszfehérjék még életmentőbbek lehetnek, mint ahogy azt eddig hittük. Valóban: a protein diszulfid izomeráz sokkal hatékonyabb védelmet nyújthat tömény oldatban, mint hígban (van den Berg és mtsai., 1999). A Hsp60-ról ilyen körülmények között kevésbé válik le a félkész termék, és a teljes húzigálás hatékonysága nő (Martin és Hartl, 1997). Zsúfolt körülmények között azonban nemcsak a hely, hanem a víz is elfogy, ugyanis a töménység növelésével egy idő után minden vízmolekula valamilyen fehérje vagy más anyag felszínéhez tapad. Ennek tekeredés lassulásához kellene vezetnie, hiszen a kötött víz kevésbé tud részt venni az egyes peptidkötéseknek a 3.3. fejezetben említett átalakításában, mint a szabadon mozgó vízmolekulák. Ugyanakkor, ha csökken az egymással rendeződni képes vízmolekulák száma, a víz által a tekeredésben lévő fehérjére kifejtett korlátozó hatás („víznyomás”) is csökken. A „víznyomás” csökkenésével a félkész fehérjék lazábbak lesznek, és belsejüknek több ideje lesz a natív állapot tömör szerkezetének kialakítására. Így a sejtes fehérjék helyes betekeredésének esélye stresszfehérjék nélkül is javul. Lehet, hogy a stresszfehérjék a sejten belül nem is annyira a tekeréssel vannak elfoglalva? Ha így lenne, mi lenne az igazi feladatuk? Az aggregáció gátlása, a szemétszedés mindenképp. A következő fejezetben azonban a stresszfehérjéknek éppen azokat a sejtes funkcióit foglalom össze, amelyekre akkor is szükség van, ha kényszertekergetésre nincs igény.

4. A stresszfehérjék feladatai a sejtben

Az előző fejezetekben fény derült arra, hogy a stresszfehérjék nagyon változatos módon képesek más fehérjék tekeredésének segítésében részt venni. Léteznek közöttük szemétszedők, amelyek összegyűjtik a tekerendő fehérjéket és továbbadják őket a huzigálóknak, amelyek a visszatekerésben vállalnak döntő szerepet. Külön mechanizmus alakult ki az aggregátumok felbontásának, a diszulfidhidak kialakításának és a prolin melletti peptidkötések hajlítgatásának is. Hogyan változnak ezek a feladatok, ha az ember a molekulák szintjéről eggyel magasabbra, a sejt szintjére lép? Milyen feladataik vannak a stresszfehérjéknek a sejtben? A válasz két részre osztható. Mint ahogyan azt már a 3. fejezet elején is említettem, a stresszfehérjék döntő része nyugalmi körülmények között is létfontosságú feladatot tölt be a sejt életében. E feladatokat foglalja össze e fejezet. A stresszfehérjéknek azokkal a funkcióival, amelyekre akkor van szükség, ha a sejt bajba jutott, az 5. fejezetben foglalkozom.

4.1. Egy fehérje születése

A fehérjék születéskori formálódásának segítéséről, a dajkafehérjéknek is nevezett stresszfehérjék ezen igazán testhezálló feladatáról már a 2.5. fejezetben szó esett. Kiderült, hogy a frissen szintetizált fehérjék tekeredésében alapvető különbségek vannak a baktériumok és az eukarióta szervezetek között. A baktériumokban a tekeredés zöme a születés után zajlik, így a már teljesen kész fehérjék közül a nagyobbakat egy külön rendszernek kell betekernie. A baktériumoknál fejlettebb élőlényekben ezzel szemben a fehérjék a riboszómához kötötten, a szintézissel párhuzamosan tekerednek be (Netzer és Hartl, 1997).

A baktériumokban a riboszómán szintetizált fehérjék további sorsát döntően méretük határozza meg. A 25 kDa-nál kisebb fehérjék zöme magától tekeredik be, a 25 és 55 kDa közötti fehérjék közül jónéhányan a Hsp60 rendszer segítségével veszik igénybe, míg a 60 kDa-nál nagyobb (egyre csökkenő számú) bakteriális fehérjék más stresszfehérjéket (például a Hsp70-család tagjait) hívnak segítségül ahhoz, hogy születésük formálódási gondjait megoldják (Houry és mtsai., 1999). A bakteriális Hsp60-hoz a frissen szintetizált fehérjék jelentős része a riboszóma elhagyása után talál el (Netzer és Hartl, 1997), de ismeretes az is, amikor a frissen született fehérjék a riboszómáról közvetlenül a Hsp60 rendszerre bújnak át. Ezt a folyamatot a 3.5. fejezetben már említett hajlítgató stresszfehérje, a trigger-faktor segíti (Hamilton és Steiner, 1998). A trigger-faktor-dönti el azt is, hogy a hidrofób szignállal rendelkező bakteriális fehérje membránfehérje vagy szekrécióra kerülő fehérje lesz-e. Ha a trigger-faktor köt a frissen szintetizált szignálpeptiddel rendelkező fehérjéhez, a fehérje szekretálódni fog, ha nem köt, a membránba kerül (Beck és mtsai., 2000). Hogy a trigger-faktor mi alapján válogat, még nem tudjuk.



Miért pont a hajlítgatók szakosodtak az irányításra a sejten belül?

Az eukarióta szervezetek sejtjeiben, így az emberi sejtekben is az éppen, hogy megszületett bébifehérjék bakteriális társaiknál jóval kisebb szabadsággal rendelkeznek. Ennek egyik oka az, hogy az eukarióta fehérjék átlagos mérete a bakteriális fehérjékéhez képest nagyobb. A méretnövekedés a tekeredési csapdák valószínűségét, és így a stresszfehérjék által nyújtott közvetlen segítség fontosságát is tetemesen megnöveli (Csermely, 1997b). Ha a betekerés segítésére az igény nagyobb, kézenfekvő megoldás, hogy ne engedje a sejt kóborolni a félkész fehérjéket, hanem még a riboszómához kötött állapotban gondoskodik arról, hogy tekeredésük teljes legyen. Valóban így is történik. Az eukarióta fehérjék jelentős része doménenként tekeredik be. Azaz, amikor az első önállóan tekeredő 100-300 aminosav kibújt a riboszómából, rögtön meg is kezdi a tekeredést (Frydman és mtsai., 1999). Az első domén tekerése után kerül sor a másodikra, ha van, a harmadikra, és csak az utolsó (C-terminális) domén tekeredése közben hagyja el az immár kész fehérje a riboszómát. A domének tekerésében a riboszómához kötött stresszfehérjék (így a Hsp70-család tagjai), de valószínűleg a riboszóma saját fehérjéi és RNS-ei is részt vesznek. Nemrégiben felvetődött az az elképzelés, hogy a bébifehérjék tekeredését segítő dajkacsapat további tagokkal, a fehérjeszintézis folyamatainak összerendezésében szerepet játszó iníciációs és elongációs faktorokkal is bővíthető (Caldas és mtsai., 2000).

Van azonban az eukarióta fehérjéknek egy olyan csoportja, amelyet nem érdemes, illetve nem is lehet véglegesen betekerni. Ezek azok a fehérjék, amelyek sejtbeli funkciójukat más fehérjékhez, illetve kisebb-nagyobb nem fehérjetermészetű molekulákhoz kötődve fogják betölteni. Képzeljünk el egy olyan fehérjét, ahol a tekeredés közben meg kell őrizni egy tömémentelen nagy hidrofób foltot a fehérje bal felén ahhoz, hogy a kész fehérje össze tudjon kapcsolódni a társaival. Könnyen belátható, hogy ez a feladat stresszfehérjék segítségével nélkül elképzelhetetlen, hiszen a 2.3. fejezetben leírtak szerint külső

segítség nélkül az ilyen „oldalt zsíros” fehérje összetapadna bármivel, ami szintén hidrofób felszínnel rendelkezik. Nem csoda tehát, hogy az olyan láncszerűen egymáshoz tapadó fehérjék, mint az aktin vagy a tubulin irányítgatására, pofozgatására egy különálló stresszfehérje rendszer alakult ki, az eukarióta citoplazma Hsp60-családjá. Ez a tekerőmasina nagymértékben hasonlít arra a kettős pohár alakú bakteriális Hsp60-ra, amelyet a 3.3. fejezetben már ismertettem. A citoplazmatikus Hsp60-at tehát készre tekert aktin monomerek hagyják el.

Mi stabilizálja az aktint a betekerés és a polimerizáció közötti időszakban? Az aktin monomerek őrizgetésére egy egész fehérjerendszer szakosodott a sejten belül (Sun és mtsai., 1995). Ennek a keresztbe-kasul kölcsönható fehérjecsaládnak a gondos szabályozásával éri el a sejt azt, hogy ott és csak ott kerüljön sor az aktin polimerizációjára, ahol arra szükség van. Végül, de nem utolsósorban ezek a monomer-kötő fehérjék biztosítják azt is, hogy mire a polimerizációra sor kerül, legyen még mit polimerizálni, azaz: a monomer aktív, és ne összehuppan, összeragadt állapotban legyen. A tubulin monomerek nem stabilak: két monomer összetapad, és egy dimert képez. Ez a folyamat a Hsp60-on kívül minimum öt további dajkafehérje közreműködését igényli (Lewis és mtsai., 1997). A tubulin dimer szerkezete az egyedi tubulin fehérjéket már eleve védelemmel látja el. Az aktinnal ellentétben, amely akárhol elkezdheti a polimerizációt a sejten belül, a tubulin csak a centroszómának nevezett, sejtmag melletti csomón tud növekedésbe kezdeni. A stabil tubulin dimereket a centroszóma kitekerné, és így készítetné polimerizációra? Ez is igaz lehet. Arra a kérdésre azonban, hogy mi stabilizálja a tubulin dimereket polimerizációjuk előtt, érzésem szerint még ebben az esetben sem született megnyugtató válasz.



Hogyan ragad a tubulin, ha nem ragad?

Az „oldalt zsíros” fehérjék egy másik válfaját alkotják azok az eukarióta fehérjék, amelyek csak a sejt aktivált állapotában képeznek komplexet egy másik fehérjével vagy nem fehérjetermészetű hidrofób anyaggal. Ezeknek a fehérjéknek egészen addig szükségük van egy átmeneti társra, amíg a ragadós felszínüket elfedő végleges partner a sejt aktivációja után meg nem érkezik. Legtöbbször az ideiglenes partner a 3.1. fejezetben szemétszedőnek titulált Hsp90, amely aktivációra képes állapotban tart számos fehérje kinázt, illetve nukleáris (sejtmagbéli) receptort mindaddig, amíg ezek aktivációjára valóban sor kerül. Ennek a folyamatnak a részleteivel a 4.3. fejezetben ismerkedünk meg.

A frissen született eukarióta fehérjéknek a méretnövekedésen és a szabadon hagyandó hidrofób felszíneken túl a harmadik nagy problémáját az eukarióta sejt szervezettsége jelenti. Az eukarióta fehérjék jelentős része nem marad a citoplazma lakója marad. A fehérjék nagy részét be kell juttatni a különböző sejtalkotókba (lásd 4.5. fejezet). A sejten belüli transzportfolyamatok közül a sejtmagba, a mitokondriumba, a peroxiszómába és más sejt szervecskébe irányuló fehérjetranszport a fehérjék szintézise után következik. Ez alól az általános szabály alól egy kivétel van: az endoplazmatikus retikulum. Az endoplazmatikus retikulumba a szekrécióra

kerülő, illetve a plazmamembránba kerülő fehérjék szintézisével párhuzamosan jutnak be. A bejutást egy hidrofób aminosavakból álló szignálpeptid teszi lehetővé, amelyet az endoplazmatikus retikulum membránján keresztülhatoló pórusrendszer egyik fehérjéje ismer fel. A születőfélben lévő fehérje „behatolását” az endoplazmatikus retikulumba, és betekeredését a retikulum lumenében stresszfehérjék egész csapata segíti. Érdekes és új megfigyelés, hogy a luminális tekeredést segítő stresszfehérjék közül az endoplazmatikus retikulum membránján keresztülnyúló kalnexin a membrán citoplazmatikus oldalán hozzátapad a riboszómához (Chevet és mtsai., 1999). Ez a kapcsolat a frissen szintetizált fehérje bejutásának és a benti tekeredéséhez nyújtott segítségnek igen nagyfokú összehangoltságára utal.

4.2. A citoplazma rendje

A sejt citoplazmáját nagyon sokan egyfajta sűrű húslevesnek képzelik el (Goodsell, 1991), amelyben éppúgy kószálnak az egyedi fehérjék, mint a kóristalányok a karácsonyi forgatagban. A valóságban a sejt, különösen az eukarióta sejt, nem ilyen. Már az előző fejezeteknek az a megállapítása is valamiféle sejtes belső rendet sugallt, amely arra figyelmeztetett, hogy a baktériumokkal szemben az eukarióták citoplazmájában a frissen szintetizált fehérjék ténfergése általában nem megengedett. A legtöbbször jól meghatározott pályája van egy fehérjének a sejten belül, kezdve onnan, hogy a sejtmagból a fehérjét kódoló RNS az 1999. évi élettudományi Nobel-díjas *Günther Blobel* hipotézise szerint csak az egyik magpóruson, azaz igen irányítottan jut ki (Blobel, 1985). Nem mindegy tehát, hogy a sejt jobb vagy bal oldalán nézzük a sejtmagot. Másfajta fehérjék szintézise zajlik le az egyik, és megint másfajtáké a másik oldalon. Ez a rendezettség minden bizonnyal a továbbiakban is megőrződik, fennmarad.

Mi tartja fenn a citoplazma rendjét? Kézenfekvő, ha a baktériumokban nem vagy csak igen csökevényesen jelenlévő aktin-, illetve tubulinszálakat tesszük felelőssé a sejt rendjének kialakításáért. Valóban, a mikrofilamentális és mikrotubuláris rendszer (számos sejtben a kettő közé eső vastagsággal rendelkező, úgynevezett intermedier filamentumokkal együtt) a sejt rendje kialakításának és fenntartásának nélkülözhetetlen eleme. Mikrofilamentumok és mikrotubulusok híján számos transzportfolyamat reménytelenül lelassul és összekuszálódik a sejten belül, az osztódásban komoly zavarok állnak be, és a sejt maga is mozgásképtelenné válik. De vajon elegendőek-e ezek a szálak a százezernyi fehérje korrekt szétválasztásához és irányításához?

Az első igen frappáns bizonyítékot arra, hogy a citoplazmában egy olyan kiterjedt hálózat is található, amely nem azonosítható a jól ismert filamentális rendszerekkel, a nagyfelbontású elektronmikroszkópia kifejlődése szolgáltatta a hetvenes évek végén. A modern sejtbiológia egyik megalapítója, *Keith Porter* és munkatársai figyeltek fel arra, hogy detergenssel kezelt sejt citoplazmájának elektronmikroszkópos képe egy hálózatos elrendeződést mutat (Schliwa és mtsai., 1981). Ez a hálózat, amelyet ők „mikrotrabekuláris hálózat”-nak neveztek el (microtrabecular lattice), sokkal kiterjedtebb és finomabb struktúra volt annál, minthogy a mikrofilamentális vagy a mikrotubuláris rendszerrel azonosítani lehetett volna. Az első észlelések után óriási vita bontakozott ki a szakmán belül. Igen sokan a citoplazmatikus hálózatot az alkalmazott elektronmikroszkópos technikák és/vagy a

detergenskezelés (amely kilyukasztja a sejt külső membránját, és ezáltal a sejt belsejének jelentős része a lyukakon kifolyik) műtermékének tartották. Ugyanakkor a későbbi mérések nagyon sok olyan indirekt bizonyítékot tártak fel a citoplazmában lévő fehérjék és a citoplazmatikus víz mozgékonyaságáról, amelyek arra engedtek következtetni, hogy mégiscsak kell lennie valamilyen belső, gézszerű hálózatnak a citoplazmán belül, amely szabályozza az anyagforgalmat (Clegg, 1984; Jacobson és Wojcieszyn, 1984; Luby-Phelps és mtsai., 1988). Nem olyan régen hasonló hálózatot a sejtmagon belül is sikerült kimutatni (Hendzel és mtsai., 1999).



Csatornázás a citoplazmán belül. A sejten belüli csatornázásról szólva ne valamiféle szutykos munkálatokra gondoljon az olvasó, amelyek a sejt szennyét lennének hivatva elvezetni. A szó az angolszász szakirodalomban meghonosodott channeling kifejezés fordítása, amely arra a jelenségre utal, amikor két egymást követő kémiai reakció során az első reakciót katalizáló enzim a reakció termékét mintegy „beleköpi” a második reakciót katalizáló enzim aktív centrumába. Ilyenkor a két reakció között a közterméknek nem kell bolyongania ahhoz, hogy a második reakciót katalizáló enzimet megtalálja, ami a reakcióút hatékonyságát nagymértékben növeli. Természetesen ahhoz, hogy két enzim ilyen szervezeten tudjon együttműködni, térben is egymás mellett kell hogy legyenek és finom elrendezésüknek (pozícionálásuknak) is megfelelőnek kell lennie. Mindehhez valamilyen magasabb rendű struktúra kell, amely ezeket az enzimeket összetartja. A legtöbb esetben az összetartó váz szerepét a mikrofilamentális, illetve a mikrotubuláris rendszer tölti be. Ettől eltérően, számos jelátviteli sorozatreakcióban speciális rendezőfehérjékre csimpaszkodnak rá a jelet egymásnak továbbító enzimek. Ugyanakkor nem kizárt, hogy az enzimszervezésnek vannak olyan, finomabb formái is a sejt citoplazmájában, amelyeket még nem tudunk kellőképp felderíteni.

Sajnos a citoplazmatikus háló, a mikrotrabekuláris hálózat elemeinek izolálása mind a mai napig nem sikerült. A szokványos biokémiai módszerek hatástalansága arra utal, hogy valószínűleg olyan kölcsönhatások építik fel a feltételezett szerveződést, amelyek elég kis affinitásúak és/vagy igen dinamikusak, emiatt könnyen megbonthatók. Milyennek kell lennie tehát a feltételezett citoplazmatikus hálózat építőköveinek? Olyan fehérjéknek,

- amelyekből sok van a sejten belül,
- amelyek kötődnek a citoplazma ismert rendező elemeihez, a mikrofilamentumokhoz és a mikrotubulusokhoz, és
- amelyek képesek kötni nagyon sokféle sejtalkotót (fehérjét, nukleinsavat stb.), de ennek a kötésnek alacsony affinitásúnak és/vagy dinamikusnak, azaz időben gyorsan változónak kell lennie.

Ha átgondoljuk a stresszfehérjékről eddig megismerteket: hogy a sejt fehérjéinek 5-10 százalékát alkotják, hogy szinte minden molekulához kötnek, de ez a kötés alacsony affinitású és időben nem állandó, hogy a stresszfehérjék legtöbbje köt mind a mikrofilamentumokhoz, mind pedig a mikrotubuláris rendszerhez, akkor láthatjuk, hogy a stresszfehérjék ideális alkotóelemei lennének a feltételezett citoplazmatikus hálózatnak (Csermely és mtsai., 1998). A stresszfehérjék membránkötése (4.4. fejezet) a citoplazmatikus hálózat kihorgonyzásának újabb eleme lehet. Annak ellenére, hogy a stresszfehérjéknek a citoplazmatikus anyagforgalom irányításában játszott szerepét sikerült igazolni (Pratt és mtsai., 1999), a hipotézis bizonyításához még számos kísérlet szükséges.

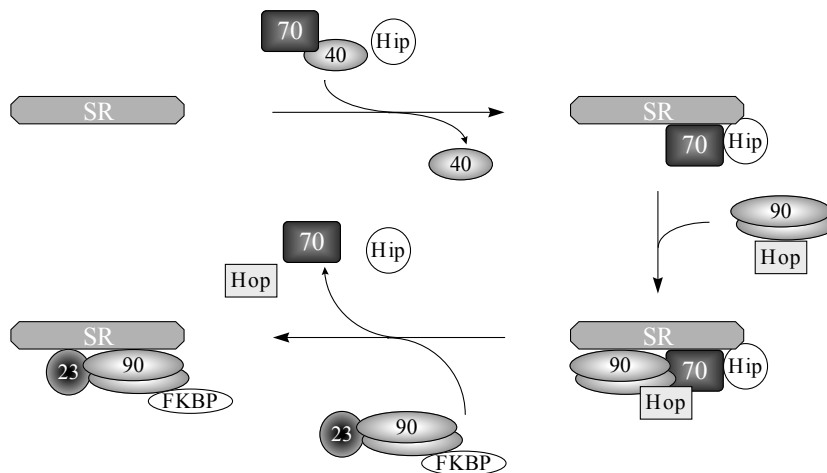
4.3. Jelátvitel

Az előző fejezetben áttekintést adtam arról, hogy az eukarióta sejt milyen rendezett, és ismertettem azt a feltételezést, amely szerint a stresszfehérjék ennek a rendezettségnek igen alkalmas építőkövei lehetnének. Ha az eukarióta sejt ilyen gondosan ügyel arra, hogy belső szerkezetét megőrizze, vajon mi történik akkor, ha sejtet kívülről olyan ingerek érik, amelyek hatására válaszkényszerül? Lehet-e a stresszfehérjéknek valamilyen szerepe a jelátviteli folyamatok során? A kérdésre adott válasz az eddigiek ismeretében szinte magától értetődő. Ha meggondoljuk, hogy a külső jelre válaszoló sejtben a 4.1. fejezetben ismertettek szerint az egyes fehérjék addig képzett komplexeit is át kell formálni, és egy sereg új kölcsönhatást kell kialakítani, akkor nyilvánvalóvá válik, hogy ezeknek a folyamatoknak a véghezvitele stresszfehérjék nélkül elképzelhetetlen.

A 3. fejezetben megismert stresszfehérjék közül a 3.1. fejezetben leírt szemétszedők azok, amelyek leginkább alkalmasak arra a feladatra, hogy tartogassák a jelátvitelben szerepet játszó fehérjéket mindaddig, ameddig a külső jel hatására el nem ereszthetik őket. Sokfajta kötőfelszíne és ebből következő változatosabb kölcsönhatásai miatt a Hsp90 jelenlegi ismereteink szerint a kisméretű stresszfehérjéknél általánosabb szerepet tölt be a jelátviteli folyamatok szabályozásában. Így a továbbiakban – inkább kiragadott példaként – főként a Hsp90 szabályozó szerepét ismertetem néhány jelátviteli folyamatban. A kisméretű hőshockfehérjék jelátviteli szerepére a sejthalál kapcsán, a 4.9. fejezetben még visszatérek.

A Hsp90 szerepe a szteroidreceptorok aktiválásában

A szteroidreceptorok zömükben a sejt belsejében lévő fogadóállomásai azoknak a szteroidhormonoknak, amelyek családjába az anyagcsereutakat szabályozó glukokortikoidok mellett a nemi hormonok is beletartoznak. A szteroidreceptorok olyan fehérjeszerkezetet hordoznak, amelyhez hasonlóan több száz más, hidrofób anyag kötésére alkalmas receptorban is megtalálhatunk. Az összefoglaló néven nukleáris (sejtmagbéli) receptoroknak nevezett receptorcsalád által kötött hidrofób anyagok között különböző lipidek (például prosztaglandinok), epesav, A- és D-vitamin vagy éppen a szervezetbe jutott lipidoldékony idegen anyagok is megtalálhatók. A kiterjedt receptorcsalád számos tagjának közös tulajdonsága, hogy a hidrofób anyag a receptorfehérje szerkezetének hidrofób magjába köt be, annak része. Ebből az is következik, hogy addig, amíg egy ilyen receptorhoz a hidrofób ligandum oda nem ér, a receptorfehérje nem stabil, hiszen a hidrofób magjából hiányzik egy darab. Így csak külső segítség, a Hsp90 kifeszítő hatása stabilizálhatja a receptort addig, amíg a neki megfelelő szteroid meg nem érkezik. A szteroidreceptort a szteroid fogadására a Hsp90 stresszfehérje-komplex bonyolult folyamatsorozaton keresztül készíti fel. A folyamatsorozat állomásait a *10. ábrán* mutatom be.



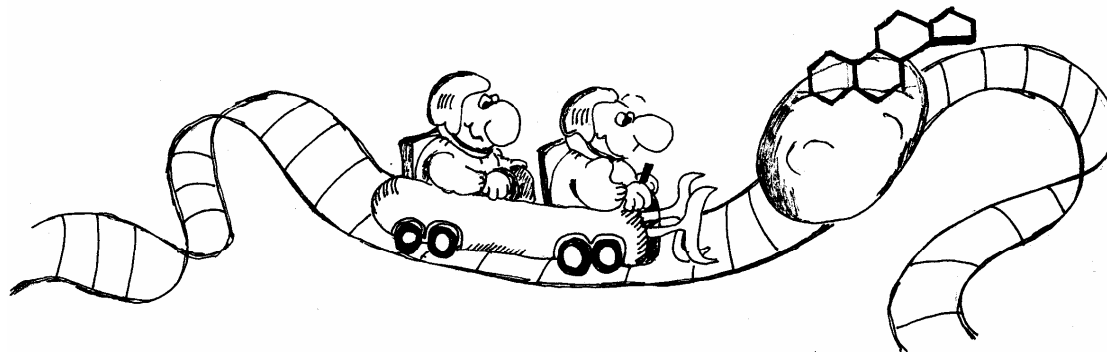
10. ábra. Hősokkfehérjék részvétele a szteroidreceptor aktiválásában

Rövidítések: 23, a Hsp90 segédfehérjéje; 40, Hsp40 – a Hsp70 segédfehérjéje; 70, Hsp70; 90, Hsp90; FKBP, a Hsp90-hez kötődő hajlítgató stresszfehérje; Hip, a Hsp70 segédfehérjéje; Hop, a Hsp70-t a Hsp90-nel összekötő fehérje; SR, szteroidreceptor (Schnaider, 2000 nyomán)

A frissen szintetizált szteroidreceptor tekeredésének első lépésében a szteroidreceptort segédfehérjéi segítségével a Hsp70 köti meg, majd az így kialakult komplexhez a Hsp90 is hozzákötődik. A Hsp70 és a Hsp90 közötti kapcsolatot a Hop elnevezésű fehérje biztosítja. A folyamat befejező lépésében a Hsp70 és segédfehérjéi leszakadnak, és egy p23 nevű, 23 kDa molekulatömegű fehérje kötődése figyelhető meg. A p23 stabilizálja a kialakult komplexet addig, amíg a szteroidhormon meg nem érkezik. A 10. ábrán feltüntetett FKBP olyan (az FK506-os immunosuppresszáns anyagot kötő, lásd 3.5. fejezet) hajlítgató stresszfehérje, amelyik a szteroidhormon fogadására felkészült komplex további, sejten belüli irányításában segít. FKBP-ből jónéhány fajta verseng egymással azért, hogy a Hsp90-komplexhez kötődhessen. Ma még a kötődés szabályai nem ismeretesek, de a komplex FKBP-tartalma minden bizonnyal az a csomagcímke, amely megszabja, hogy a szállítmány hova fusson be a sejten belül. Valószínű, hogy a stresszfehérjék és a receptor kapcsolódása során leválással és újbóli kötődéssel járó lépések változtatják egymást, amelyben előre egybeállt stresszfehérje-komplexek cserélik ki egymást a szteroidreceptor formálódásának különböző fázisaiban.

Amikor a szteroid megérkezik, azok a szteroidreceptorok (például a glukokortikoid receptor), amelyek addig a citoplazmában voltak, elindulnak a sejtmag irányába és ezzel párhuzamosan a receptorhoz kötött stresszfehérjék (Hsp90, p23, FKBP) disszociálnak. Mai ismereteink szerint egyre biztosabbnak látszik, hogy a disszociáció nem teljes, és a három receptorkötött stresszfehérje valamilyen módon elkíséri a receptort a magba, így a szállítás ideje körülbelül öt percről fél percre rövidül (Galigniana és mtsai., 1999). Hogyan tudják ezt elérni? Az biztos, hogy a stresszfehérjék kötődése a mikrofilamentális, a mikrotubuláris és a köztes filamentumokhoz szerepet játszik ebben (Galigniana és mtsai., 1999), de a folyamat részletei (hernyószerű araszolás a filamentumokon?) ma még nem ismertek. A részletektől függetlenül, az, ahogy a szteroidreceptorok magba jutnak, egy további közvetett bizonyítékot

szolgáltat az előző fejezetben említett sejtvíz létezésére, és a stresszfehérjék szerepére e víz dinamikus átalakulásaiban. Amikor a receptor bejut a sejtmagba, a stresszfehérjék kötődése tovább lazul, hiszen kötött állapotban a Hsp90 elfedi a glukokortikoid receptor azon aminosav részletét (a nukleáris – sejtmagi – lokalizációs szignált), amely lehetővé teszi azt, hogy a receptor bekerüljön a sejtmagba.



A szteroidreceptor a sejtmagban a DNS meghatározott, rövid szakaszaihoz köt, és ezáltal megindítja azoknak a géneknek az átíródását, amelyeknek az átíródást szabályozó szakaszában (úgynevezett promoter régiójában) ilyen szteroid-válaszelem található. A szteroidreceptor DNS-kötése két receptormolekula dimerizációját igényli. A stresszfehérjék ilyenkor nagy valószínűséggel disszociált formában vannak jelen, de egyre több jel utal arra, hogy legalább egy részük valahol még mindig ott cselleng a közelben. A jelátvitel során a sejtnek nemcsak a bekapcsolást kell részletesen szabályoznia, hanem gondoskodnia kell a kikapcsolás mechanizmusáról is. Az állandóan bekapcsolva maradt aktiválási lépések ugyanis könnyen rákos elváltozásokhoz vezetnek, mint ahogy arról a 6.8. fejezetben még lesz szó. Így nem annyira meglepő, hogy a Hsp90 a glukokortikoid receptor leválását is segíti a DNS-ről, és valószínűleg részt vesz a szteroid leválása után a receptor szteroidkötő képességének megőrzésében, és a citoplazmába történő visszajuttatásában (Liu és DeFranco, 1999).



Hogyan jut vissza a szteroidreceptor a citoplazmába?

A stresszfehérjék szerepe más transzkripciós faktorok aktiválásában

A stresszfehérjék a szteroidreceptorok aktiválása mellett szükségesek más transzkripciós faktorok tekeredésének elősegítéséhez is. A stresszfehérjék szintézisét elősegítő hősokkfaktor aktivitását szabályozó szerepüket az 5.3. fejezetben fejtem ki részletesen. A stresszfehérjék részt vesznek a másfajta stresszválasz kiváltásáért felelős transzkripciós faktorok (például a hipoxia-indukált faktor) tekeredésében is. Emellett számos olyan, a génátíródást szabályozó fehérje aktív formájának kialakulásáért is felelősek, amelyek fontos szerepet játszanak az embrionális fejlődés helyes menetében. Így nem meglepő, hogy a stresszfehérjék zavarásával a fejlődő embrió vagy elhal, vagy jelentős károsodással születik meg. A stresszfehérjék embrionális fejlődésben játszott szerepének az evolúcióra gyakorolt következményeiről a 7.2. fejezetben lesz szó.

A Hsp90 szerepe a fehérje kinázok aktiválásában

A Hsp90 a transzkripciós faktorok mellett a jelátvitel más szereplőit is aktiválásra kész állapotban tartja. A többi stresszfehérje-függő jelátviteli szereplő közül a más fehérjék foszforilációját elősegítő fehérje kinázok vannak többségben, így ezek ismertetésére térnek ki röviden. Fehérjéket az eukarióta szervezetekben olyan aminosavakon – szerinen/treonion, illetve tirozinon – szokás foszforilálni, amelyek hidroxil csoportot tartalmaznak az oldalláncukban. A foszforilációs lépéssel a fehérjén negatív töltés keletkezik, amely megváltoztatja a fehérje alakját. Az átrendeződés hatására a foszforilált fehérje sok esetben más erősséggel fog kötődni környezetéhez. A foszfátcsoportok beépülését fehérje kinázok segítik. Ezek a kinázok gyakorta olyan fehérjék, amelyeknek a szerkezete csak akkor stabil, ha a kináz más makromolekulákhoz kötődik. Így tehát ugyanaz a helyzet áll elő, mint a szteroidreceptoroknál, ahol a szteroidhormon-mentes formát stresszfehérjéknek kell stabilizálni. A fehérje kinázok közül számos tirozin kináz (például az Src-család tagjai, valamint az úgynevezett fokális adhézis kináz stb.), illetve szerin/treonin kináz (például a jópár jelátviteli pálya kezdetén lévő Raf-kináz, a sejtciklus szabályozásában részt vevő CDK4-kináz vagy a fehérjeszintézist szabályozó eIF-2 α - és eEF-2 α -kinázok) összehuppanna, ha a Hsp90 köré csoportosuló stresszfehérje-komplex, a foldoszóma nem tartaná aktiválásra kész állapotban. A készenlét addig tart, amíg a jel megérkezik, és a kináz olyan molekulákhoz képes kötődni, amelyek a szerkezetét immár ténylegesen aktív állapotában stabilizálják. A stresszfehérjék tehát általában olyanok a fehérje kinázok számára, mint a versenylónak az indítóketrec: mindaddig, amíg jelen vannak, a kináz inaktív, de toporzékolva várja, hogy aktiválódhasson. Mihelyt a stresszfehérjék eleresztik, szabad a pálya, és mehet a ló.

Érdekes, hogy a fehérje kinázokkal alkotott komplexében a Hsp90 általában nem a 10. ábrán feltüntetett FKBP fehérjével, hanem egy régebben p50-nek, ma Cdc37-nek nevezett stresszfehérjével kapcsolódik össze. A Cdc37 minden bizonnyal ahhoz kell, hogy a foldoszóma fehérjetekerő rendszerét a fehérje kinázokra „profilírozza”, és az aktiválható állapotba került fehérje kinázokat aktiválódásuk színhelyére (amely legtöbbször a plazmamembrán közelében van) irányítsa. Mivel a Hsp90 közvetlen kapcsolatban áll a citoplazmatikus fehérjebontás központi rendszerével, a proteaszómával (6.4. fejezet), így nem meglepő, hogy abban az esetben, ha valahogy megzavarjuk a stresszfehérje-kináz komplex érését, a fehérje kinázok a fehérjebontás áldozatává válnak.



Hogyan irányít a Cdc37?

4.4. Membránfoltozás

A sejt plazmamembránjáról már az előző fejezetben is tettem említést, mint a jelátviteli lépések egyik legfontosabb színteréről. A sejt (különösen az eukarióta sejt) membránrendszere azonban olyan, rendkívül kiterjedt hálózat a sejten belül, amely igen alkalmas a sejt pillanatnyi állapotának részletes jellemzésére. A membrán, mint állapotjelző, nagyon nagy szolgálatot tesz

akkor, amikor a sejt bajba kerül (Vígh és mtsai., 1998). Felbecsülhetetlen szerepe van a membránnak a jelátvitelben is, ahol a megváltozott membránösszetétel, illetve fizikai állapot fontos jelátviteli komponens. Szinte bizonyos, hogy a stresszfehérjék részvételével felépülő, kiterjedt citoplazmatikus hálózatnak (4.2. fejezet) sokrétű kapcsolatban kell állnia az eukarióta sejt másik kiterjedt hálózatával, a membránrendszerrel. Annál is inkább igaz ez, mivel a membránok közvetlen környezetében az „átrendező oldat” dielektromos állandója jóval kisebb, mint a tiszta vízé, és így membránközelségben a fehérjék bizonyos mértékű kitekeredése, szerkezetlazulása valószínűsíthető (Bychkova és mtsai., 1996). Nem meglepő tehát, hogy a membrán a membránfehérjék betekeredéséhez is nélkülözhetetlen (Bogdanov és mtsai., 1996; Bogdanov és Dowhan, 1999).

A membránok melletti tér tehát különlegesen kedvezhet a fehérjetekeredési folyamatoknak. Nagyon „buta” lenne a sejt, ha a stresszfehérjék által nyújtott egyik, és a membránközelség által nyújtott másik fehérjetekeredő segítséget nem kapcsolná össze valahogy. Sajnos a membránok és a stresszfehérjék fehérjetekeredő kölcsönhatásairól még nincs adatunk. A membránok foltozása, azaz újabb fehérjéknek a membránba illesztése azonban a membránközelség ellenére sem mindig automatikus feladat. Így például a Hsp70 segítségére van szükség a zöld színtest egyik fehérjéjének membránba illesztéséhez is (Yalovski és mtsai., 1992). A stresszfehérjék úgy is részt vehetnek a membránfoltozásban, hogy a membránra ülve, a testükkel védik azt a hőmérséklet által okozott károsodások ellen. Ráadásul a stresszfehérjék a lipidek védelme mellett még a 4.1.-4.2. fejezetekben részletezett fehérjevédő tulajdonságukat sem veszítik el (Horváth és mtsai., 1998; Török és mtsai., 1997). Stresszfehérjék segíthetnek a membránhólyagok lefűződésében és fúziójában is (Creutz és mtsai., 1994; Ng és Walter, 1996). A membrán a tekercsükben átmenetileg megállított fehérjék ideális raktározási helye is lehet (Arumugam és mtsai., 1996). Ezek meggondolása után még sajnálatosabb az, hogy néhány úttörő munka kivételével nagyon kevés a stresszfehérjék és a membránok kölcsönhatásait vizsgáló tudományos erőfeszítések száma.

4.5. Hogyan megy át a tevé a tű fokán?

A membránok egyik legfontosabb feladata a sejten belül a különböző ionkoncentrációval, redukáltsági fokkal és nem utolsósorban fehérjekészlettel rendelkező sejtterek elválasztása egymástól. Ugyanakkor egy eukarióta sejtben a fehérjeszintézis zöme a citoszolban, míg egy töredéke a mitokondriumokban (illetve a zöld színtestekben) történik. Igen ám, de fehérjékre a többi membránnal elválasztott sejtszervecskében, így az endoplazmatikus retikulumon belül, a sejtmagban, a peroxisómákban, a lizoszómákban és más helyeken is szükség van. Sőt, a mitokondrium fehérjeinek jelentős része is a citoplazmában szintetizálódik, tehát a mitokondriumban is léteznie kell valamilyen mechanizmusnak a fehérjék bejuttatására. A fehérjék, mint ahogy a 2.1. fejezetben már említettem, kívül hidrofílek, és semleges pH-án általában negatív töltésekkel rendelkeznek. Egy ilyen molekula a közepén hidrofób membránon önmagától nem halad át. Így átjuttatására egy lyukat kell ütni a membrán falán. Ha azonban a lyuk nagy („nagy” alatt itt a fehérjék néhány nm-es mérete értendő), akkor a fehérje átjutása mellett mindazok az ionok és más kisebb molekulák koncentrációja is kiegyenlítődik a membrán két oldalán,

amelyek elválasztására a membrán létrejött. A lyuknak tehát kicsinek kell lennie². Előáll tehát egy érdekes topológiai probléma: Hogyan megy át a tevé a tű fokán? Molekuláris szinten a válasz egyszerű: ha kitekerjük a tevét, a fonálszerű tevé át tud jutni a tű fokán, feltéve, ha a másik oldalon akad olyan rendszer, amelyik őt ismét tevévé tekeri vissza. (Ha ezt Micimackó tudta volna, amikor beszorult a barlangba...)

Melyek a fehérjék membránon keresztüli transzportjának általános jellemzői?

A membrántranszporthoz kell egy:

- transzlokációs pórus,
 - kitekerő és betekerő apparátus a pórus két oldalán,
 - jel az átjuttatandó fehérjén, ami megmondja, melyik membránon kell átjuttatni és végül
 - egy mechanizmus, amely biztosítja, hogy az áthaladás csak az egyik irányba történjen (azaz a lyukbaszorult fehérje ne rezegjen ide-oda, eltömve ezáltal az utat a következő fehérje elől; Schatz és Dobberstein, 1996).
- A következőkben ezeket a transzportfeltételeket tekintem át röviden a különböző sejtmembránoknál.

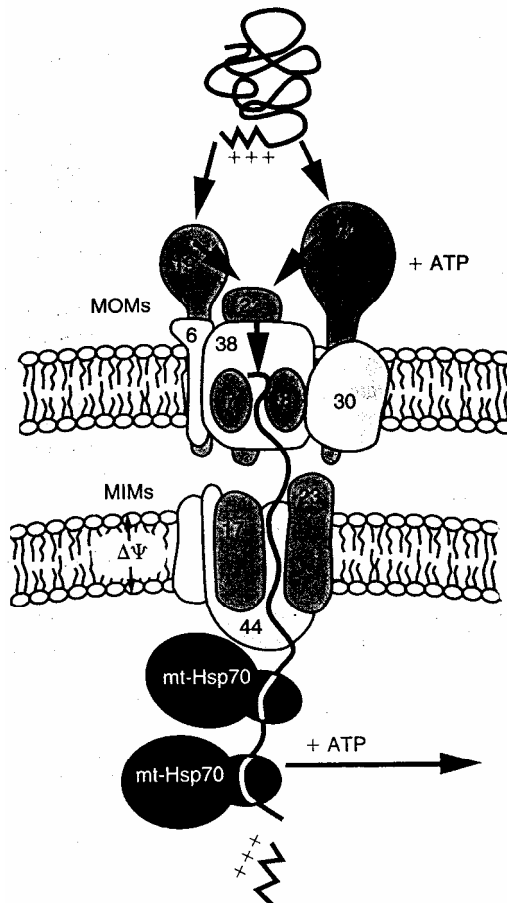


A baktériumokban tapasztalható fehérjetranszport mechanizmusa elég nagymértékben hasonlít az „eukarióta sejtben ideiglenesen állomásozó baktérium”, a mitokondrium (vagy a zöld színtest) fehérjetranszportjához (azzal a lényeges különbséggel persze, hogy a baktériumokban a fehérjetranszport zöme belülről kifelé, míg a mitokondriumban kívülről befelé zajlik). A baktériumokban az átjutásra kijelölő jel egy hidrofób aminosavakból álló, általában a fehérje először megszintetizálódó N-terminusán elhelyezkedő szignálpeptid, amely a születőfélben lévő fehérje tekeredését önmagában is lassítja. A transzportálandó fehérje egy SecB nevű bakteriális stresszfehérjéhez kötődik, amely azt kitekert állapotban tartja, és a SecA fehérje, valamint ATP segítségével a pórusba beilleszti. A fehérje a póruson a bakteriális membrán két oldalán lévő protongradiens energiáját felhasználva jut át. A transzport egyenirányításáért a membrán belső felén lévő SecA stresszfehérje a felelős (Driessen, 1992). A kettősfalú baktériumokban az oxidációra a membrán és a sejtfa közötti térben (a bakteriális periplazmában) készítik fel a fehérjéket. (A sejten kívüli térbe juttatandó fehérjék felkészítésének eukarióta változatát a következő fejezetben mutatom be.)

A mitokondriális fehérjetranszport vázlatos mechanizmusa a 11. ábrán látható. A transzportálandó fehérjéket itt egy pozitív töltésű aminosavakból álló rövid

peptidészlet jelöli meg. A fehérjét a 3.3. fejezetben ismertetett citoplazmatikus Hsp70 komplex tekeri ki, és egy ehhez hasonló mitokondriális Hsp70 (illetve bizonyos fehérjéknél Hsp70 + Hsp60 komplex) tekeri be. Az átjutás energiáját döntően itt is a mitokondriális belső membrán két oldala közötti protongradiens fedezi, de az átjutáshoz a belső stresszfehérje komplex húzóhatása is hozzájárul (Voisine és mtsai., 1999). A mitokondrium külső és belső membránján lévő pórusok alaphelyzetben nincsenek egymással fedésben. Ez azért fontos, hogy a belső póruson semmilyen ionátcsorgás ne valósuljon meg akkor, ha a lyukat éppen nem tömi el a transzportálandó fehérje. Ilyen esetben ugyanis a belső membrán áteresztő pórusa teljesen zárt állapotban van. Kinyílni csak akkor fog, ha a külső membrán pórusával fedésbe került, és a külső membrán pórusának fehérjei szerkezetváltozás révén jelzik, hogy egy transzportálandó fehérje a külső membrán pórusát már eltömte (Neupert, 1997).

Az endoplazmatikus retikulumba irányuló transzport részleteivel a 4.6., a sejtmag fehérjetranszportjával pedig a 4.8. fejezetben foglalkozom. Itt csak annyit szeretnék kiemelni, hogy a pórus eltömését az endoplazmatikus retikulumban az endoplazmatikus retikulum belsejében lévő Hsp70 homológ, a Grp78 látja el (Hamman és mtsai., 1998). A sejtmag ioncsorgását megakadályozó lehetséges mechanizmusra a 4.8. fejezetben térek vissza. A peroxiszóma fehérjetranszportja az előzőekben ismertetett transzportfolyamatoktól eltér. Ebbe az oxidációra szakosodott sejtalkotóba a jelek szerint a fehérjék kitekerés nélkül, „egészben” jutnak be (McNew és Goodman, 1996). A bejutás pontos mechanizmusát még nem sikerült tisztázni.



11. ábra. A mitokondriális fehérjetranszport

Rövidítések: ATP, adenozin trifoszfát; mt-Hsp70, mitokondriális 70 kDa stresszfehérje; MIMs, a belső mitokondriális membrán pórusának fehérjei; MOMs, a külső mitokondriális membrán pórusának fehérjei; $\Delta\Psi$, feszültségkülönbség (membránpotenciál) a mitokondriális belső membrán két oldala között; a „+” jelek a mitokondriális lokalizációs szignál pozitív töltéseire utalnak; a számok az adott fehérje molekulatömegét jelölik kDa-ban (Pfanter és mtsai., 1994)

4.6. Minőségellenőrzés a sejtben

Az endoplazmatikus retikulumba irányuló fehérjetranszport döntően azokat a fehérjéket érinti, amelyeket a sejt a sejten kívüli térbe választ ki, illetve a plazmamembránba külső A transzport után e fehérjékre egy rövidebb-hosszabb „felkészítő” szakasz vár, amelyben ellenállóságukat fokozó cukorrészleteket kapnak, illetve fokozatos oxidáció éri őket. A transzportra kerülő fehérjéket egy rövid, a fehérje szintézisekor elsőnek átírt hidrofób peptidszakasz jelöli meg. A transzport már a fehérje szintézise közben elkezdődik, így a kitekeréssel sem kell törődni, és a transzport hajtóereje is megoldottá válik, mivel azt az endoplazmatikus retikulum membránjához kötődő riboszóma lökdösése biztosítja. A riboszóma azért lökdös, mert ahhoz, hogy az egyre újabb és újabb aminosavakat a peptidlánchoz hozzá tudja illeszteni, a peptidláncot állandóan odébb- és odébb kell helyeznie. A retikulum belsejébe lógó fehérjedarabhoz a Hsp70-családba tartozó molekulák (Grp78 vagy másnéven BiP) kötődnek, amelyek nem engedik a peptidlánc visszacsúszását (kereplő- vagy racsn-mechanizmus; Matlack és mtsai., 1999). Az endoplazmatikus retikulum fehérjetranszportjának egyetlen megoldandó problémája tehát az átjutott fehérjék betekerése marad.

Az endoplazmatikus retikulumba bejutó fehérjék betekerésére egy nagyon izgalmas mechanizmust sikerült feltárni az elmúlt években. Az endoplazmatikus retikulum fehérjeinek legnagyobb részéhez egy 12 cukormolekulából álló csomag kötődik, és ezáltal a fehérje glikozilálttá válik. A glikoziláció kezdeti szakaszában a cukorcsomag mannóz és glukózamin mellett még glukózt is tartalmaz. A 12-cukros csomaggal rendelkező, a tekeredés elején lévő fehérjét a 4.1. fejezetben már említett, kalnexin nevű stresszfehérje megköti. A kalnexinhez egy protein diszulfid izomeráz kötődik, amelyik a tekeredő fehérje diszulfidhídjait kezdi egyberendezni. Egy idő után olyan enzim közelíti meg a komplexet, amely a glukózt a tekeredő fehérje cukorcsomagjáról levágja. Ilyenkor a tekeredő fehérje a kalnexinről lepotyog, és lehetőséget kap a továbbhaladásra a plazmamembrán irányába. Ha a betekeredés nem volt teljes, útközben a tekeredő fehérje olyan enzimmel találkozhat, amelyik felismeri tekeredési rendellenességeit, és visszazagasztja rá azt a glukózt, amelytől kevéssel korábban már megszabadult. A glukózt egy másik kalnexin molekula ismét felismeri, és a tekeredési folyamat kezdődik előlről (Chevet és mtsai., 1999).

A minőségellenőrzési rendszer mechanizmusából esetleg megszökött, de még hibás fehérjék „elfogásában” az endoplazmatikus retikulum legnagyobb mennyiségben jelenlévő stresszfehérjéje, a Hsp90-nel nagy hasonlóságot mutató Grp94, illetve a kalretikulin is segédkezik. Néhány kiválasztásra kerülő

fehérjének, például a kollagének vagy a lipoproteinek receptorának a szekréció előtti felkészítését speciális, e célra szakosodott stresszfehérjék végzik el. A minőségellenőrzés egyik fontos, késői állomása azoknak a lépéseknek a sorozata, amikor a szekretálandó vagy a plazmamembránba kerülő fehérje egy membránhólyag részeként az endoplazmatikus retikulum speciális szakaszain leválik az endoplazmatikus retikulumról, és a Golgi-rendszeren keresztül sorozatos membránhólyag fúziók és leválások után végül a plazmamembránhoz kerül. Ezenél a lépéseknél a szállítmányba történő bekerülést az dönti el, hogy a helyesen betekeredett fehérje vajon képes-e kötni a szállítmányt irányító, úgynevezett COPII-molekulákhoz. A kötődés lehet közvetlen (ez inkább membránfehérjékre jellemző) vagy közvetett, például egy cukorkötő fehérje közbeiktatásával. Mindkét esetben a kötődés szorosságát és helyességét egy sereg fehérje (úgynevezett „fidelity factor”) ellenőrzi, amelyek az endoplazmatikus retikulum minőségi kontrolljának utolsó állomását jelentik (Aridor és Balch, 1999). A minőségellenőrzés során megbukott, selejtes fehérjék zömét az endoplazmatikus retikulum ugyanazon a lyukon tuszkolja ki, mint amelyen bejöttek. Ilyenkor azonban ezeket a fehérjéket a citoplazmában az ottani fehérjelebontás kulcsenzime, a proteaszóma várja (Plemper és Wolf, 1999). Ennek a lebontási folyamatnak a részleteit a következő fejezetben ismertetem.



Tekeredési fokozatok az endoplazmatikus retikulumon belül.

Az endoplazmatikus retikulum minőségi kontrolljának az előzőekben ismertetett összegzése során is említettem, hogy minden bizonnyal a tekeredő fehérjék itt is, akárcsak a citoszolban, kötési és eleresztési lépések sorozatán át jutnak egyre előrébb a tekeredés folyamatában. Az endoplazmatikus retikulumban azonban a sejtet körülvevő világ megváltozott körülményeire is fel kell készíteni a kijutó fehérjéket. Így szinte biztos (de sajnos mindeztidáig csak részben bizonyított), hogy az endoplazmatikus retikulumban számos olyan rész található, amelyekben például a redukáltság foka, a kalcium-koncentráció stb. különbözik. E részekben a membrán lipid- és fehérjeösszetétele is más lehet. Nagyon valószínű, és igen hatékony működést tenne lehetővé, ha az endoplazmatikus retikulumban ezek a részegységek sorbarendezettek lennének, azaz az érési folyamaton keresztülhaladó fehérje fokozatosan egyre inkább oxidáló, és kalciumionokban egyre gazdagabb környezetben találná magát. Mivel az endoplazmatikus retikulumban a 3.4. fejezetben említettek szerint számos, oxidáló képességükben egymástól különböző protein diszulfid izomeráz található, nem lenne meglepő, ha ezek az endoplazmatikus retikulum egymást követő részeiben sorbarendezetten, egymásnak adogatnák a tekeredő fehérjéket. A redox- és kalciumgradiens közül az utóbbi létezésére már megszülettek az első bizonyítékok (Golovina és Blaustein, 1997).



Mi választja el az endoplazmatikus retikulum részeit egymástól?

4.7. A selejt sorsa

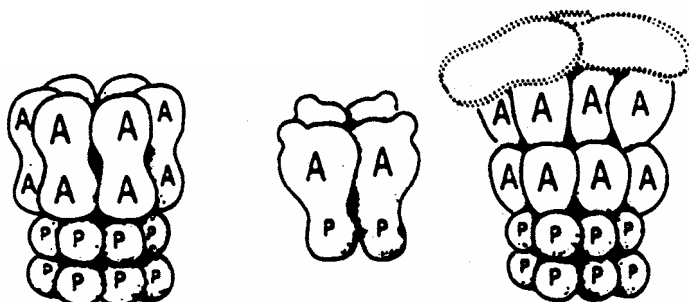
Az endoplazmatikus retikulum minőségellenőrző rendszere által selejtesnek talált, genetikailag hibás, és ezért betekeredni képtelen vagy stressz hatására meghibásodott szerkezetű fehérjéket a sejt a lebontó enzimek torkába löki. Ez a látszólag önmérsztő gesztus valójában életmentő, mert ha felhalmozódnának a selejtes fehérjék, akkor vagy a 3.1. fejezetben leírt módon „mindent elöntene a szemét” vagy a stresszfehérjék válnának állandó jelleggel foglalttá, és így

képtelenek lennének az új vagy újonnan meghibásodott fehérjék tekeredésének segítésére. A következőkben a lebontóenzimek működését tekintem át. A fejezet végén kitérek arra a kérdésre is, hogy miként tudja megkülönböztetni a sejt a „rossz bőrben lévő”, de még újratekerhető fehérjét a reménytelenül összegabalyodott, tényleges selejttől.

Fehérjelebontás a baktériumokban

A baktériumok fehérjelebontó rendszerének négy legfontosabb eleme a ClpP, a Lon, a FtsH és a DegP proteáz. A *ClpP proteáz* egy nagyobb családnak, a Clp-(ejtsd: klip)-családnak a tagja. E proteázzal már a szétcincáló stresszfehérjéknél, a 3.2. fejezetben esett szó. Ott említettem, hogy a bakteriális Hsp100 a vele rokon ClpP-nek képes átadni a lebontandó fehérjéket. A ClpP-t „etető” Hsp100 fehérjék száma elég nagy. Eddig legjobban a ClpA-, ClpB- és a ClpX-fehérjéket írták le. Ezek mindegyike stresszfehérje, mindegyik képes az ATP elhasítására, és mindegyik hattagú komplexet képez. Az, hogy a ClpP milyen fehérjék hasogatását végzi el, attól függ, hogy a sokféle Clp közül éppen melyik kapcsolódik hozzá. Azaz a Clp-családban a stresszfehérjék képviselik az észet, és a ClpP az a szegény rokon, akinek csak a balta jutott (Suzuki és mtsai., 1997). Ezt a baltát azonban el kell rejtteni, különben az „észbelileg kissé visszamaradott” ClpP mindent széthasogatna vele. Emiatt alakult ki a proteázoknak az a 12. ábrán bemutatott általános elrendeződése, amely a proteázaktivitást egy nagyobb fehérjekomplex belsejébe zárja be, és a proteázaktivitást helyet úgy alakítja ki, hogy csak egy szűrőrendszeren (ami a ClpP-nél a Hsp100 fehérjekomplex) keresztül lehessen megközelíteni. Így a sejt felzabálására képes proteáz az önpusztítás veszélye nélkül tárolható a sejt kellős közepén.

A *Lon proteáz* (amely a *lon*-gén fehérjeterméke, és La-proteáz néven is ismeretes) önmaga is egy stresszfehérje, amely ATP-áz aktivitású. Ha megfigyeljük a Lon- és a Clp-proteázoknak a 12. ábrán bemutatott vázlatos szerkezetét, nagyfokú hasonlóságot fedezhetünk fel közöttük. Mindkét proteázban az ATP bontására képes fehérjerész prezentálja a lebontandó fehérjét a proteolízisre képes (a 12. ábrán P-vel jelölt) résznek. A két részt a Lon-proteáznál ugyanaz, a Clp-fehérjekomplexben külön fehérjelánc tartalmazza. Így a Lon-fehérje nem képes arra a legoszerű cserélgetésre, amellyel a Clp-rendszer el tudja érni, hogy ugyanazzal a proteázzal és más-más szubsztrátspecifitásával sapkával hol ezt, hol meg azt a fehérjét bontsa le (Suzuki és mtsai., 1997).



12. ábra. A bakteriális Clp-, Lon-proteázok és a proteaszóma vázlatos szerkezete

Rövidítések: Clp, bakteriális Clp-proteáz; Lon, a bakteriális La-proteáz, a lon-gén fehérjeterméke; 26S, az eukarióta citoszol 26S ülepedési állandójú, a poliubikvitin kötéséért felelős szabályozó alegységet tartalmazó proteaszómájának egyszerűsített képe; A, ATP-kötő domén; P, proteáz aktivitású domén (Suzuki és mtsai., 1997 nyomán)

Az *FtsH*-proteáz (amelyet HflB-nek is neveznek) a bakteriális membránhoz kötődő, ATP-függő cink-proteáz, amelyet más membránfehérjék aktiválni, illetve gátolni képesek. Az *FtsH*-proteáz legfontosabb szubsztrátjai a membrántranszportban kulcsszerepet játszó pórusfehérje, és a stresszfehérjék szintézisét biztosító speciális fehérje, a σ^{32} -faktor (a σ^{32} -faktor működésére az 5.3. fejezetben még visszatérek), de az *FtsH* részt vesz a bakteriális hírvívő RNS-ek lebontásában is (Wang és mtsai., 1998).

A fontosabb bakteriális fehérjelebontó rendszerek negyedik tagja a *DegP*-proteáz. Az eddigiek ismeretében már nem meglepő, hogy ez is egy stresszfehérje. Akkor termelődik, amikor a baktérium által a környező térbe kibocsátott fehérjék tekeredésében valami zavar áll be. A HtrA-nak is nevezett *DegP* a bakteriális periplazmában lévő selejtes fehérjék lebontásáért felelős. A proteáz-komplex 12 alegységének hasítóhelyei egy gömböc belsejébe vannak zárva. Így nem meglepő, hogy a *DegP* csak azokat a fehérjéket képes lebontani, amelyek már csaknem teljesen kietekeredett állapotban vannak (Kim és mtsai., 1999). A bakteriális proteázokhoz nagymértékben hasonló proteázok működnek az eukarióta mitokondriumok és a fotoszintézist végző zöld színtestek belsejében is (Suzuki és mtsai., 1997).

A stresszfehérjék a lizoszómákhoz is irányítanak

A lizoszómák az eukarióta sejtek azon savas pH-jú, membránnal határolt szervecskéi, amelyek a lebontó folyamatokra szakosodtak. A lizoszómák az endoszómákkal is kapcsolatban állnak. Az endoszómák olyan lipidhólyagok, amelyek a sejt felszínéről a lebontandó fehérjéket a lizoszómákba szállítják, miközben a saját beltartalmuk egyre savasabbá válik. A lebontandó fehérjék lizoszómába kerülését a 3.3. fejezetben ismertetett Hsp70-fehérjecsaldó egyik állandóan jelenlévő tagja, a Hsp73 segíti (Agarraberes és mtsai., 1997). A Hsp73 egy speciális szignált, a KFERQ (lizin-fenilalanin-glutaminsav-arginin-glutamin) aminosavsorrendhez hasonló fehérjerészleteket ismeri fel. Az ilyen vagy ehhez hasonló részlettel rendelkező fehérjéket a Hsp70 bejuttatja a lizoszómába, ahol azok a fehérjelebontás áldozataivá válnak. A lizoszómákban a Hsp70 mellett László Lajos barátom fehérjékhez kötött ubikvitinre is bukkant (László és mtsai., 1990). Megfigyelése felhívta a figyelmet arra, hogy az ubikvitiniláció a későbbiekben tárgyalandó proteaszómális lebontás mellett a lizoszómális fehérjelebontást is elősegítheti. Membránfehérjéknél a citoplazmába belógó darabot valószínűleg a proteaszóma is harapdálni kezdi, míg a membránbeli szakaszokat a lizoszóma bontja le (Strous és Govers, 1999). A két útvonal közötti különbséget valószínűleg az ubikvitinnek száma is befolyásolja: ha néhány ubikvitin köt, elképzelhető a lizoszómális lebontás is, míg a proteaszóma csak akkor hajlandó ízekre szedni a halálasztást ügyfelet,

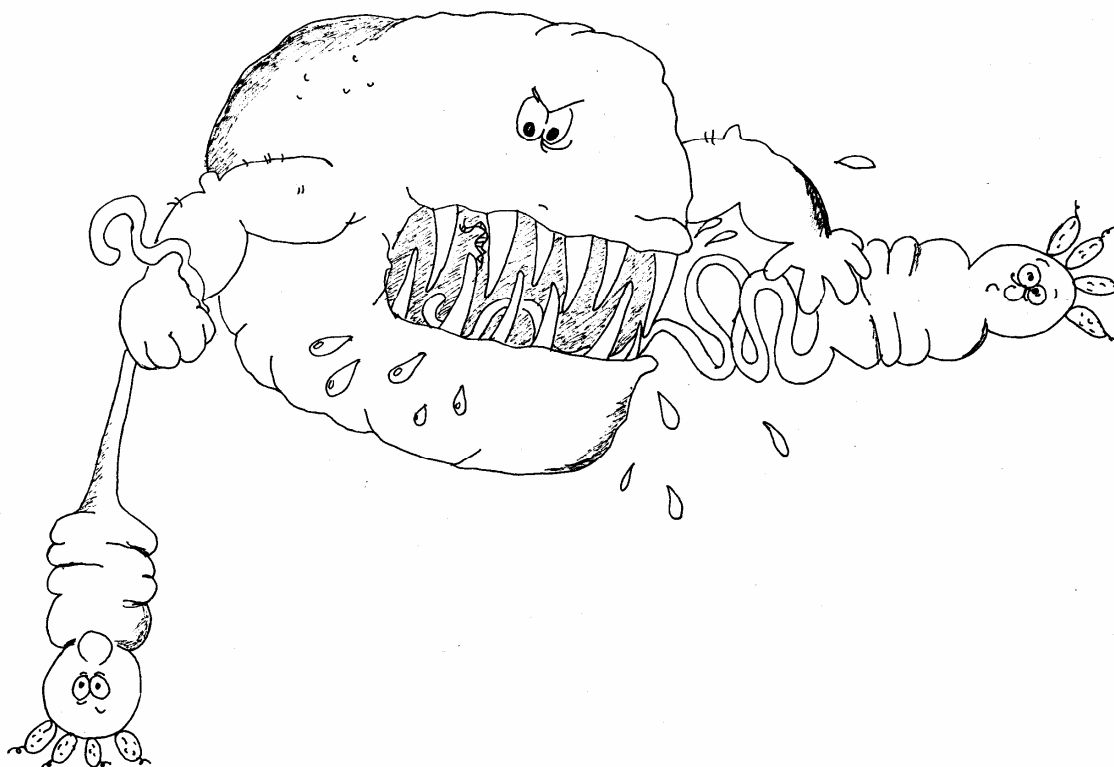
ha az minimum négy sorbakötött ubikvitint tartalmaz (Thrower és mstai., 2000).



Mi szabja meg a munkamegosztást a lizoszóma és a proteaszóma között?

A citoplazmatikus fehérjelebontás fő komponense: a proteaszóma

Az eukarióta citoszol legnagyobb kapacitású fehérjelebontó rendszere a proteaszóma. A proteaszóma 1500 kDa molekulatömegű fehérjekomplex, vázlatos felépítését a 12. ábra mutatja. A teljes fehérjelebontó komplex egy 700 kDa molekulatömegű proteáz részre (ezt a 12. ábra alsó felének P-vel jelölt alegységei képviselik) és egy 800 kDa molekulatömegű szabályozó részre (ez az ábra tetején lévő, A-vel jelölt ATP-t bontó alegységekből áll) bontható. Az ábrán alkalmazott 26 S megjelölés arra utal, hogy a proteaszómának az ábrán bemutatott teljes, a proteáz és szabályozó részt egyformán tartalmazó formája 26S (Svedberg) ülepedési állandóval jellemezhető.



A proteaszómára is jellemző a ClpP-proteáznál már említett szerkezeti elrendeződés, amely a proteázaktivitást egy bontókamra belsejébe zárja be, és a bontókamra bejáratát úgy alakítja ki, hogy csak egy szűrőrendszeren (ami a proteaszómánál a 800 kDa molekulatömegű szabályozó rész) keresztül lehessen megközelíteni. Mi történik akkor, amikor a proteaszóma megszületik? A bontóhelyüket még el nem rejtett alegységei kipusztítanak mindenkit a szülőszobában? Nem. Nagy szerencsénkre a proteaszóma alegységei önmagukban nem képesek a fehérjék lebontására. Proteolitikus aktivitásukat az

a szerkezetváltozás hívja elő, amely akkor éri őket, amikor a bontókamra belsejébe záródnak.

A proteaszóma proteolitikus része több fehérjevágó helyet is tartalmaz, amelyek különböző aminosav-oldalláncokhoz közeleső peptidkötések elhasítására képesek. Emiatt nevezték a proteaszómát régebben multikatalitikus proteáznak is. A többféle aktivitás az oka annak, hogy a proteaszóma nem végez fél munkát. A fehérjebontás addig folyik, amíg a termék (esetünkben egy néhánytagú peptidsereg formájában) a proteaszóma oldalsó lyukain ki nem folyik. Szegény lebontandó fehérjét tehát a bontókamrában lévő proteázaktivitású helyek addig dobálják egymásnak, amíg csak akad rajta rágnivaló (Kisselev és mtsai., 1998; Voges és mtsai., 1999).

A proteaszóma 800 kDa-os szabályozóegysége felelős a lebontásra kijelölt fehérjék felismeréséért, és az ATP elhasításával járó kitekeréséért. A kitekerés ahhoz szükséges, hogy a fehérjét a proteaszóma bontókamrájának szűk száján be lehessen gyömöszölni a lebontás végleges helyére. A lebontandó fehérjék lizinjeihez a sejt különböző részein megtalálható poliubikvitin transzferázok 6 kDa-os stresszfehérjéket, ubikvitineket kötnek rá. A lebontásra kijelölt fehérjék legalább négy, „sorbakapcsolt” ubikvitint, úgynevezett poliubikvitint tartalmaznak (Thrower és mtsai., 2000). A csak egy ubikvitint tartalmazó fehérjék sorsa más: például a plazmamembrán egyszeresen ubikvitinilált fehérjeit a sejt a belsejébe húzza vissza (Strous és Govers, 1999).



A proteaszóma 800 kDa-os sapkája, mint egy lehetséges cincáló³.

A 3.2. fejezetben említettem, hogy a fehérjeaggregátumokat szétszedő Hsp100-család tagjait az élesztőnél fejlettebb eukarióta szervezetben eddig nem sikerült azonosítani. A fejezetben fel is tettem a kérdést: „Halálra lennének ítélve cincálókapacitás nélkül?” Abból kiindulva, hogy a bakteriális Hsp100, a ClpA-fehérje olyan ATP-áz, amely a ClpP proteázhoz kapcsolódik, és amely a lebontásra készíti elő az áldozatokat, elképzelhető, hogy az emberi sejtekben a proteaszóma ATP-áz aktivitású, 800 kDa-os sapkája az a cincáló, amely (esetleg néhány stresszfehérjével együttműködve) elvégzi az összeragadt fehérjék szétbontását. A 800 kDa-os sapka általában ubikvitinilált fehérjéket ismer fel. Az a megfigyelés, hogy a poliubikvitin nagyon gyakran részét képezi a fehérjeaggregátumoknak (Cummings és mtsai., 1998; Kaytor és Warren, 1999) további alátámasztást nyújt a 800 kDa-os sapka cincálószerének feltételezéséhez.

Hogy a poliubikvitin jelölés milyen döntési folyamat eredményeként kerül rá a fehérjére (Hol van itt kérem az igazgató?) azt pontosan még nem tudjuk. A poliubikvitiniláló mechanizmusokra szép példák a sejtciklus szabályozásában résztvevő fehérjék poliubikvitinilálásáért felelős, SCF-nek és APC-nek nevezett fehérjekomplexek. Ezen fehérjekomplexek nem annyira azt döntenek el, hogy melyik (károsodott) fehérjét kell lebontani, hanem inkább azt, hogy a teljesen ép fehérje lebontására mikor van szükség. Ezek alapján nem meglepő, hogy mind a komplexek igen sok elemét, mind pedig a jelölendő fehérjéket a sejtciklust reguláló kinázok és foszfatázok változatos foszforilációs és defoszforilációs lépésekben szabályozzák. Ezen túl mindkét komplex rendelkezik olyan cserélhető alegységgel, amely más és más fehérjecsoportok poliubikvitinilálását képes elősegíteni. Hasonló komplexek szabályozzák számos transzkripció faktor aktiválódásának, sőt a biológiai óra működésének

fehérjelebontással járó lépéseit is (Peters, 1998). A selejtes fehérjék felismerésére a fejezet végén térek vissza.

A citoplazmán kívül máshol is vagdos a proteaszóma

A proteaszóma nem csak a citoszol fehérjéinek lebontásáért felelős. Mint arra már az előző fejezetben is utaltam, az endoplazmatikus retikulumban kisselejtezett fehérjék, egy „retrográd transzportnak” nevezett folyamattal visszakerülnek a citoplazmába, ahol a proteaszóma várja őket. A proteaszóma végzi az endoplazmatikus retikulum membránjában lévő, selejtsévé vált fehérjék lebontását is (Plemper és Wolf, 1999). Érdekes kérdés, mi lehet annak a pontos mechanizmusa, ahogy egy ilyen membránfehérjét a membránból kihuzigálnak. Alternatív módszer lehet a borotválás is (Plemper és Wolf, 1999). Az elképzelés szerint a borbélyvá vedlett proteaszóma levág mindent, ami a poliubikvitinilált fehérjéből a membránon kívülre lóg. Hogy ilyenkor az endoplazmatikus retikulum zsákjának belső oldalán ki borotvál, illetve a külső borotváláshoz hogyan jut be a fehérje membránközeli darabja a bontókamra belsejébe, arról a borbély-hipotézis nem ad számot. Felépítése alapján, megítélésem szerint, a proteaszóma borbélynak elég pancser lehet. Erre az is utal, hogy a plazmamembrán fehérjéinek membránbeli szakaszai is inkább a lizoszómákban bontódnak le (Strous és Govers, 1999).

A proteaszóma a sejtmagba is képes bejutni, és így a magbéli fehérjelebontási folyamatokat is döntő mértékben ez a proteáz végzi. A lebontandó fehérjéket jelölgető, poliubikvitiniláló enzimek közül jónéhány a DNS károsodásainak kijavításában játszik szerepet. Oxidatív stressz, illetve rákos sejtek kemoterápiája során a DNS molekula feltöredezik. A DNS-törésekhez egy poliADP-ribóz-polimeráz enzim kötődik. Az előbbieken alapján nem meglepő, hogy a sejtmagbéli proteaszómát a poliADP-ribóz-polimeráz enzim a károsodás helyéhez köti, és riboziláció révén aktiválja. Ilyen körülmények között a proteaszóma az oxidált hisztonok lebontásában vehet részt. Mivel a poliADP-ribóz-polimeráz riboziláció révén a hisztonokat a DNS-ről leválasztani is képes, a proteaszóma odakötése és aktiválása a selejtes hisztonok lebontása mellett a DNS károsodás nyomán kialakuló kromatin átrendezésnek is fontos eleme lehet (Ullrich és mtsai., 1999). Hasonlóan ahhoz, ahogy a poliADP-ribóz-polimeráz az oxidáció által okozott DNS-törésekhez köti a proteaszómát, a Rad23-fehérje ubikvitinszerű csücskével az ultraibolya fény hatására bekövetkező DNS-károsodásokhoz rögzíti a proteaszóma komplexet. Érdekes módon az ultraibolya fény okozta károsodás javítása során a proteaszómának nem a fehérjebontó aktivitása, hanem a 800 kDa-os regulációs komplexének részleteiben nem ismert, de valószínűleg fehérjetekeréssel összefüggő aktivitása kell a károsodás kijavításához (Russell és mtsai., 1999).

Peptidhasítás proteaszómával

A proteaszóma katalitikus komplexe is olyan, mint a ClpP-proteáz. Több sapkája van. Az előzőekben ismertetett, poliubikvitin-kötő, 800 kDa-os sapkát kicserélheti egy kisebb, 200 kDa-os sapkára is, amely sem ATP hasítására nem képes, sem poliubikvitint nem ismer fel (Voges és mtsai., 1999). Ez a szerény képességű sapka nem a fehérjék, hanem a nagyobb méretű peptidok lebontását egyengeti, és ezeknek a peptidoknak az immunrendszer számára történő prezentációjában vesz részt (a stresszfehérjék e folyamatban játszott szerepére a

6.7. fejezetben térek vissza). Olyan proteaszóma is előfordul, amelyben a központi, peptidhasító rész egyik végén az egyik sapka, másik végén pedig a másik sapka ül. Az ilyen „tandem-proteaszóma” minden bizonnyal még kisebb darabokra szedi szét a hasítandó fehérjét, mint szokásos, szimmetrikus társai (Hendil és mtsai., 1998).

RNS-hasítás és a proteaszóma

Egyre több adat gyűlik annak a bizonyítására, hogy a bakteriális FtsH-fehérjéhez hasonlóan a proteaszóma is részt vesz az RNS-ek lebontásában. A proteaszóma 800 kDa-os sapkájának számos fehérjeje köti a hírvivő RNS-eket, és mind az RNS-t stabilizáló fehérjék lebontásával, mind pedig az RNS-eket lebontó enzimek kötésével és aktiválásával részt vesz az RNS-ek eltüntetésében (Jarousse és mtsai., 1999; Laroia és mtsai., 1999). Ha meggondoljuk, hogy a hírvivő RNS-ek lebontása az általuk kódolt üzenetet is megszünteti, akkor látható, hogy a proteaszómának e feladata igen fontos a jelátviteli mechanizmusokban. Újabban egy másik RNS bontó rendszer, az exoszóma létére is fény derült (van Hoof és Parker, 1999). Az exoszóma a proteaszómához hasonló felépítésű, némileg kisebb fehérjekomplex. Belül ugyanúgy különféle aktivitású RNS-t bontó enzimek egész armadáját rejtegeti, mint a proteaszóma. Az exoszóma bontókamrájának bejáratánál pedig, hasonló módon a proteaszóma fehérje kitekerő enzimeihez, RNS kitekerő enzimek (úgynevezett RNS-helikázok) teszik lehetővé, hogy a lebontandó RNS a kamrába kerüljön. Látszik tehát, hogy a sejt fejlődése során egyre több halálosztó szilvásgombócot raktározott fel magában, ahol a halál szerencsénkre nem a felszíni gombócban, hanem a középben lévő szilvában lakozik.

Más fehérjelebontó rendszerek az eukarióta sejtekben

A citoplazmában a proteaszóma mellett számos nagyméretű fehérjelebontó komplex található. Egyiküket, a TPPII-proteázt olyan sejtekből sikerült kimutatni, amelyek túléltek azt a beavatkozást, amellyel a proteaszómát szelektív gátlószerek segítségével gátolták a fehérjelebontásban. A háromtagú peptidekre hasogató TPPII-proteáz döntően a peptidlebontásban vesz részt, de képes a proteaszóma helyettesítésére is (Geier és mtsai., 1999).

A nagyméretű proteázkomplexek mellett kisebb fehérjelebontó fehérjékből is sokféle van. Ezek természetesen nem lehetnek állandóan aktívak, hiszen esetükben nem képes a sejt az aktivitást egy bontókamra belsejébe rejteni. Így a kalpainok kalciumfüggő jelpályák által aktiválódnak, a kaspázok aktiválására pedig akkor kerül sor, amikor a sejt az aktív sejthalál során nekiáll és felzabálja magát. Erre az utóbbi folyamatra még a 4.9. fejezetben visszatérek.

Ki dönt a selejtes fehérjék sorsáról?

Ahogy azt már a 2.1. fejezetben is említettem, jónéhány olyan szerkezeti elem létezik, amelyik eleve megszabja egy fehérje hosszabb vagy rövidebb életét a sejten belül. A 2.1. fejezetben ismertetett PEST szekvencia, a lizoszómába irányító KFERQ szekvencia vagy a ciklineket az előzőekben említett ubikvitin-konjugáló SCF/APC-komplexhez kötő szekvenciák egyike sem garancia a hosszú életre a fehérjék világában. A szabad aminocsoport a fehérje N-

terminális végén is rossz életkilátásokkal kecsegtet, különösen akkor, ha néhány aminosavval odébb egy ubikvitin fogadására képes lizin követi. Az ilyen, korai halált jósoló szekvenciákat degronoknak hívják (Laney és Hochstasser, 1999).

Mi van az elromlott fehérjékkel? A kitekeredett, sérvet kapott fehérjéket, ahogy azt már a 2.4. fejezetben leírtam, a stresszfehérjék hidrofób felszínük (és esetleg a felszínre került peptidkötéseik) alapján ismerik fel. A stresszfehérje-proteáz átmenetre nagyon szép példa a bakteriális periplazmában élő DegP-proteáz, amely egyszerre képes a fehérjéket javítani és lebontani. Alacsony hőmérsékleten a fehérje javító funkciója dominál, míg magasabb hőmérsékleten (ez a baktérium esetében 37 °C) az életmentő stresszfehérje halálosztó proteázzá alakul (Spiess és mtsai., 1999).

4.8. A sejtmag különös világa

A sejtmag a legtöbbször fejében úgy él, mint a sejt közepén megbújó kis golyó, amelyben a információt tároló DNS védelmet talál. A valóságban a sejtmag a lehető legritkábban van a sejt közepén, sőt egyik oldala a legtöbbször a plazmamembránnal szinte összeér. Golyónak sem golyó, hiszen a sejtmag a sejt legfinomabban struktúrált része. A sejtmag tele van kisebb-nagyobb, sajnos még ma sem teljesen körülírt csomócskákkal, amelyek a DNS megkettőződésében, az RNS szintézisében és szintézis utáni átalakulásaiban, a sejttagon belüli transzportfolyamatokban és még milliónyi más folyamatban játszanak fontos szerepet (Misteli és Spector, 1998). Ráadásul ezek a csomócskák állandóan változnak. A sejtmag folyamatosan átalakul. Ennek a magbéli nyüzsgésnek egy része az előbb említett DNS- és RNS-szintézissel függ össze, és a leglátványosabb eleme a sejtmag teljes szétesése, majd ismételt „újjaszületése” az osztódás során.

Így tehát az előbb említett, igen finoman szerveződő struktúrát állandóan lebontani és újraalakítani kell. Ráadásul, ha valahol a sejten belül, akkor a sejttagban biztos, hogy nincs hely. A molekulák szabad vándorlását, a diffúziót jobb, ha már akkor elfelejti az ember, amikor a citoplazmáról gondolkodik (lásd a 3.5. fejezet végén a molekuláris zsúfoltságról írottakat; Zimmerman és Minton, 1993). A sejttagban minden ilyen irányítatlan vándorlás végleg illúzióvá válik. Egy egyszerre túlszűfolt és magasan szervezett rendszer képtelen a szinte folyamatos átalakulásra hathatós segítség nélkül. A stresszfehérjék fellépésére a terep adott. Nem véletlen, hogy a „chaperone” kifejezést először a hisztonokat a DNS-hez rendezgető nukleoplazmin fehérjére alkalmazták (Laskey és mtsai., 1978), és az is sokatmondó, hogy hősokk hatására ötvennél több frissen szintetizált fehérje jelenik meg a sejttagban (Csermely és mtsai., 1995), amelyek között a 3. fejezetben említett szinte mindegyik fontosabb stresszfehérje megtalálható. Vizsgáljuk meg ezek után, hogy milyen szerepe van a stresszfehérjéknek az előzőekben említett legfontosabb sejttag-átrendeződésekben, a DNS megkettőződésében, az RNS-szintézisben, a transzportfolyamatokban és a sejtosztódás során. A stresszfehérjéknek a sejttag károsodásainak helyreállításában végzett munkájáról az 5.4. fejezetben lesz szó.

Stresszfehérjék és a DNS kettőződése

A bakteriális DNS megkettőződésének, azaz a prokarióta replikációnak tudománytörténeti szempontból is igen fontos szerepe volt abban, hogy a stresszfehérjék működésének alapelemeire fény derült. Legnagyobbbrészt *Costa Georgopoulos* volt az, aki a baktériumokat megfertőző fágok DNS-kettőződését tanulmányozva felfigyelt arra, hogy kettőződés megindulásának igen sok lépéséhez a fertőző fagot befogadó baktérium stresszfehérjéi szükségesek. Így a 70 kDa-os stresszfehérjék mobilizálják azokat a fehérjéket, amelyek a kettősszálú DNS szétcsavarásával lehetővé teszik a DNS kettőződés megindulását. Hasonló mechanizmus érvényesül a kólibaktérium saját DNS-ének megkettőződése során is (Georgopoulos, 1992).

Az eukarióta sejtekben a megkettőződés megindulásának mechanizmusa még nem annyira felderített, mint az egyszerűbb, bakteriális szervezetekben. Az eukarióta sejtekben a DNS-kettőződés nemcsak elindulásának bonyodalmai, hanem a DNS szerveződése miatt is nagyszerű terepet kínál a stresszfehérjék működésének. Az eukarióta örökítőanyag ugyanis hisztonfehérjékkel körülbástyázva a sejtmag vázába ágyazódik be. A kettőződés során a mintát ki kell csomagolni, és a másolatot megint be kell csomagolni. Ráadásul a sejtmagban uralkodó körülmények között (fiziológiás sókoncentráció mellett) a hisztonok magukra hagyatva nagy mócsingokká állnak össze. Hathatós segítségre van tehát szükség ahhoz, hogy a hisztonok szokásos, DNS-hez kötődő csomagokba (úgynevezett nukleosómákba) rendezett szerkezete kialakulhasson. Ezt a segítséget petesejtekben a már említett nukleoplazmin biztosítja. A nukleoplazmin végzi azt a feladatot is, hogy a spermium protaminba csomagolt DNS-ét a petesejt megtermékenyülése után hisztonokba átcsomagolja. A nukleoplazmin kötődését a pozitív töltésű hisztonokhoz vagy protaminhoz egy különleges, egymás után húsz negatív töltésű glutaminsavat tartalmazó fehérjerészlete biztosítja (Laskey és mtsai., 1978). A testünket felépítő sejtekben más negatív töltésű fehérjék látják el ugyanezt a feladatot.

Stresszfehérjék és transzkripció

Hasonlóan a DNS megkettőződéséhez, az RNS-szintézise, a transzkripció során is beható változások zajlanak a DNS szerkezetében. Ezek a változások azonban a DNS-nek csak egy kis részét érintik. A korábbi elképzelések szerint ahhoz, hogy az RNS-t szintetizáló RNS-polimeráz enzim a DNS-en továbbgördülhessen, a DNS-szerkezetét becsomagoló hisztonokat teljesen el kell pucolni az útjából. A kísérletek finomításával kiderült, hogy nincs szükség a hisztonok leválására a DNS-ről, az RNS-polimeráz tovahaladásához az is elegendő, ha a hisztoncsomagok, a nukleosómák szerkezete meglazul. A lazulást a hisztonok acetilációja indítja meg. Acetiláció során a hisztonfehérjék végein elhelyezkedő, pozitív töltésű lizin aminosavakra egy-egy ecetsavmolekula épül rá. A módosítás következtében a hisztonok végei elveszítik pozitív töltéseiket és a DNS-ről leválnak. Az egész folyamat olyan, mintha a DNS-t annak két oldalán egyformán átölelő hiszton egyszerűen széttárná a karjait. Az acetiláció mellett azonban az immár meglazult, hisztontartalmú nukleosómákat még tovább lazítani, ide-oda pofozgatni, gördíteni is kell. Ezt az RNS-polimerázhoz kötődő, igazi dajkafehérje feladatokat ellátó, emberben Brhm-nek (élesztőben SWI-SNF-nek) nevezett fehérjekomplex végzi (Csermely, 1996; Struhl, 1996).



A hiszton-kód. Az előzőekben említett acetiláció mellett a hisztonok kilógó karjai még számtalan módosuláson (foszforiláció, az ubikvitin nevű stresszfehérje hozzáragasztása, metiláció, ADP-riboziláció stb.) mehetnek keresztül. Egyre több jel utal arra, hogy bizonyos módosulások csak akkor jöhetnek létre, ha a célbavett hiszton karján előzőleg már egy másik módosulás lezajlott. Az az enzim ugyanis, amelyik például foszforilálni képes a célbavett hiszton egyik aminosav-oldallancát, csak akkor „veszi észre” a hisztont, ha a kiszemelt oldallánc melletti lizin előzőleg acetilálódott. A kovalens módosítások egymásraépülése rendkívül sok lehetőséget kínál a szabályozásra. Az addigi módosítások mintázata a rájuk épülő újabb módosításoknak pedig egyfajta kódjaként is szolgálhat (Strahl és Allis, 2000).

Az eddigiekben azzal foglalkoztam, milyen dajkafehérje hatás kell ahhoz, hogy az RNS szintézise egyáltalán megvalósulhasson. Mi dönti el, hogy melyik génről történik az RNS átíródása? Kell-e a stresszfehérjék részvétele ebben a folyamatban? Az eukarióta gének ki-be kapcsolását speciális fehérjék, úgynevezett transzkripciós faktorok szabályozzák. Sok esetben külön fehérje segítkezik abban is, hogy a transzkripciós faktor kellő erősséggel (és valószínűleg kellő ideig) kötődjön a szabályozásban résztvevő DNS szakaszhoz. E segédfehérjék között a 3. fejezetben már bemutatott ismerősöket, így a Hsp90-t, a tioredoxint vagy a hajlítató stresszfehérjéket is megtalálhatjuk (Csermely és mtsai., 1995; Hunter, 1998). A stresszfehérjék esetleg abban a ma még teljesen megválaszolatlan kérdésben is segíteni tudnak, hogyan is talál el a transzkripciós faktor az irdatlan sejtmagban a kiválasztott génekhez („Van itt egy portás, kérem?”). Lehet, hogy a könyvíró fantáziája túlzottan rendpárti, de valahogy nehéz azt elképzelni, hogy az olyannyira rendezett sejtmag tele van össze-vissza tévelygő transzkripciós faktorokkal.



Mi és hogyan irányítja a sejtmagbeli anyagforgalmat?

A transzkripciós faktorok kötődése is a hisztonok odébbgördülését igényli, ami újratermeli az előzőekben már megválaszolt „Hogyan lazítom meg a hisztonokat?” kérdést. A transzkripciós faktorok kötődése során ezt a feladatot speciális segédfehérjék (például a kötődési helye után GAGA-nak nevezett fehérje; Tsukiyama és mtsai., 1994) oldják meg. A transzkripciós faktorok és a hisztonok tekergetése után harmadik tekergetést igénylő feladatként nem a fehérjéket, hanem a DNS-t kell tekergetni. Mivel a transzkripciós faktorok kötődési helye nagyon sokszor a transzkripció tényleges megindulásától sokszáz bázispárnyi távolságban van, a DNS-t valahogy meg kell hajlítani ahhoz, hogy ez a két pont egymáshoz közel kerülhessen. Ha hajlítás nincs, a startponton várakozó RNS-polimeráz soha nem fogja megtudni, hogy bekötött a transzkripciós faktor, tehát szabad a pálya. A DNS hajlítására ismét dajkaszerű fehérjék egész csoportja szolgál (Csermely és mtsai., 1995).

Stresszfehérjék a sejtmag transzportfolyamataiban

A 4.5. fejezetben említettem, hogy a sejtmag transzportfolyamatait a sejtmaggal foglalkozó rész keretében ismertetem. Ebben az elrendezésben nem az vezetett, hogy a könyv szerkezetét még követhetlenebbé tegyem, hanem az, hogy a sejtmag fehérjetranszportja alapvetően különbözik a többi membránon áthaladó

transzporttól (Csermely, 1996; Nakielny és Dreyfuss, 1999). A sejtmagba irányuló transzport során ugyanis nem kerül sor a fehérjék kitekerésére. Puff neki. Mi szükség akkor a stresszfehérjékre? A stresszfehérjék két szempontból is fontosak a sejtmag transzportfolyamataiban. Ahhoz, hogy egy fehérje a sejtmagba jusson, szükség van egy jelre, amelyet nukleáris – sejtmagi – lokalizációs szignálnak hívunk. Jónéhány fehérjében ez a jel a fehérje belsejében, elrejtve található, és ahhoz, hogy felismerhető legyen, a Hsp70-nek a jelet ki kell csomagolnia (Csermely és mtsai., 1995).

A dajkafehérjeszerű csomagolóhatás másik terepe az RNS kijuttatása a sejtmagból (Csermely, 1996; Nakielny és Dreyfuss, 1999). Igaz ugyan, hogy a sejtmag pórusainak mérete jónéhány kezdeti kísérlet szerint esetleg elegendő ahhoz, hogy szokásos méretű fehérjék könnyen átjussanak rajta, de a nagyságrenddel nagyobb hírvivő RNS-fehérjekomplex még így is beszorulna. Tehát az RNS-ről a kötődő fehérjék egy részét le kell pucolni kijutás előtt. A probléma komolyságára jellemző, hogy még az ily módon fogyókúrára fogott RNS-nek is kigyózó féregként kell átgyömöszölnie magát a sejtmag pórusán (Mehlin és mtsai., 1995).

A fehérjék tehát kicsomagolás, szuszakolás és becsomagolás nélkül jutnak át a magpóruson. Lehet, hogy ez a könnyű áthaladás az oka, de tény, hogy nagyon sok fehérje egész életében ki-be mászkál a sejtmagból. Az ilyen fehérjemozgást nukleocitoplazmatikus ingázásnak nevezzük. Ahhoz, hogy egy fehérje így ingázhasson, az kell, hogy sem a citoplazmában, sem pedig a sejtmagban ne legyen olyan alkotóelem, amelyik képes legyen őt igen erősen és tartósan megkötni. Az ingázást speciális ingajelek is elősegítik (Matthew Michael, 2000). Nem meglepő ezek után, hogy a stresszfehérjék szinte kivétel nélkül ebbe az ingázó csoportba tartoznak. Az átmeneti, alacsony erősségű kötéseket produkáló stresszfehérjék éppen a legfontosabb feladatuk miatt válnak képessé arra, hogy a sejtmagból ki-be járkáljanak. A helyzet azonban meg is fordítható: könnyen lehet, hogy a sejtmagba éppen csak bekukkantó vendégek (például néhány szteroidreceptor) életük egy részében stresszfehérjeszerű feladatot látnak el (Csermely és mtsai., 1995).



Miért nem csorognak ki az ionok a sejtmagból? Az előzőekben említettem, hogy számos kísérleti eredmény szerint a sejtmagba a kisméretű, 10-20 kDa-nál kisebb fehérjék szabadon mászkálnak ki-be. Ugyanakkor a sejtmagban számos ionnak és kis molekulának, így például a kalciumnak a citoplazmáétól eltérő és a jelátviteli folyamatok során változó koncentrációja található (Csermely és mtsai., 1995). Itt valami nem stimmel. Hogy marad bent a kis ion, amikor a hozzá képest óriási fehérje szabadon mászkál? A megoldást nem tudjuk. Egy lehetséges megoldáshoz érdemes előrevetíteni valamit az endoplazmatikus retikulum stresszes állapotát részletező 5.2. fejezetből. Ha az endoplazmatikus retikulum membránja (és a vele összefüggésben álló sejtmag membrán) által határolt zsákban a kalciumionok koncentrációja a retikulum stresszes állapotában lecsökken, a sejtmagba irányuló transzport befagy, és semmilyen anyag nem jut át a magpóruson (Perez-Terzic és mtsai., 1997). Lehet, hogy a magpórusok közelében lévő kalcium-pumpák a magpórus melletti kalciumkoncentrációt annyira csökkentik, hogy a pórus mindig zárt állapotban van? Ha a kalciumpumpák túlműködése gátolt lenne olyankor, amikor a transzportálandó fehérje ráül a magpórus külső részének a bejutás előtti várakozás célját szolgáló szőröcskéire, a magpórus csak a célfehérje előtt nyílna meg. Így a kis ionok minden bizonnyal kiszoríthatók lennének a transzportból. Ha a magpórus zártságát ilyen finom mechanizmusok szabályoznák, könnyen elképzelhető, hogy a sejtmag transzportfolyamatainak megismerésére kitalált kísérletek döntő

többségében ezt a szabályozást tönkretették, és nem akadályozta semmi sem az ionok, sem a nagyobb molekulák szabad áramlását. Bár az endoplazmatikus retikulumon belüli kalciumkoncentráció különbségekre már vannak bizonyítékok (Golovina és Blaustein, 1997; Montero és mtsai., 1997), ez az elképzelés egyelőre inkább álmodozás, mint tényleges valóság.

A stresszfehérjék szerepe a sejt osztódásában

A sejtosztódáshoz a DNS molekulákat össze kell tömöríteni, és végső soron kromoszómákba kell csomagolni az ide-oda cibálás közben óhatatlanul bekövetkező DNS-törések elkerülésére. Ahhoz, hogy ez megtörténjen, a sejtmag szokásos szerkezetének el kell tűnnie. Valóban: osztódáskor a sejtmag póruskomplexeit a magmembrán kis lipidhólyagocskáiba csomagolja. Eközben a magmembránnal együtt a sejtmag vázát alkotó laminhálózat is szétesik. A kromoszómák széthuzigálása után kezdődhet a sejtmag újbóli felépülése. Ilyenkor a sejtmag póruskomplexeit tartalmazó lipidhólyagocskák kötődnek először a DNS-hez. Ezt követően a hólyagok összeolvadnak, és a kromoszómákat lipidmembrán borítja be. A kromoszómák összetapadásával párhuzamosan a lipidmembrán a sejtmag külső részére húzódik vissza.

Ebben a bonyolult folyamatban mi szabja meg, hogy melyik egyedi gént tartalmazó DNS szakasz hova kerül? Mi biztosítja, hogy az összeszerelésnél minden egyes alkatrész a helyére jusson? Látható, hogy az összeszerelésben a stresszfehérjéknek döntő szerepet kell játszania. Emiatt volt nagyon időszerű *Peter Walter* (Ng és Walter, 1996) munkája, amely felderítette, hogy az endoplazmatikus retikulum Hsp70 fehérjeje szerepet játszik a magmembrán lipidhólyagocskáinak egybeolvadásában. A stresszfehérjék további feladatainak felderítése a sejtmag összeszerelésének rendkívül szervezett, komplex folyamatában a jövő feladata.



Hogyan áll össze a sejtmag az osztódás után?

4.9. Sejthalál

Speciális külső ingerek hatására vagy akkor, ha a sejtciklus félresiklik, a többsejtű élőlények egyedi sejtjei képesekké váltak az öngyilkosságra. Ez a falevelek lehullása után *apoptózisnak* is nevezett programozott sejthalál annyiban különbözik a sejtek „csúnya” halálától, a *nekrózistól*, hogy az öngyilkos sejt rendkívüli módon ügyel arra, hogy nyomot ne hagyjon maga után. „Szép” halála tehát nem jár a sejtmembrán korai kilyukadásával, és a sejt környezetét nem önti el a gyulladással elindító szemét, hanem a sejt egy gondosan megtervezett folyamatsorozatban becsomagolja önmagát, és halála pillanatában egy sűrű kis csomócskaként várja azt, hogy egy arra járó makrofág megegye, és végleg az enyészetnek adja át.

A sejtek öngyilkossága az egész szervezet számára igen előnyös. Ez teszi lehetővé azt, hogy a már nem kellő szöveteket (például ebihal farka a békává alakulás során) a szervezet lebontsa vagy ez akadályozza meg, hogy a sejtciklus rendellenességei esetén lépten-nyomon rákos elváltozásokra kerüljön sor. A stresszfehérjék általában védenek az apoptózis ellen, így például a Hsp70 fehérje túltermelése a kísérleti egerek fehérvérűségéhez vezetett a T-

limfociták elhalásának akadályozása miatt (Samali és Orrenius, 1998; Söti és Csermely, 1998). A jelenség teljes mechanizmusát még nem ismerjük. Annyi bizonyos, hogy a Hsp70 egyrészt a sejt oxidáció elleni védelmét erősíti meg, és így nyújt védelmet a kívülről érkező egyik lehetséges „haláljel”, a tumor nekrozis faktor támadása ellen, másrészt a stressz hatására aktiválódó és haláljelhez vezető stresszkinázokat gátolja (Gabai és mtsai., 1998). A kisméretű hőszokkfehérjék az oxidáció elleni védelem erősítése mellett a sejthalál végrehajtó mechanizmusának egyik első elemét, a kaszpázoknak nevezett fehérjebontó apparátus aktivációját is képesek gátolni (Garrido és mtsai., 1999).

A stresszfehérjék sejthalált gátló hatása különösen akkor érthető, ha azokra az esetekre gondolunk, amikor a programozott sejthalált a sejtet ért stresszhatás váltja ki. Ilyenkor a sejt elkerüli a halált, ha akad elég stresszfehérjeje, amely felveszi a haláljellel a küzdelmet. Ha a stresszfehérjék mennyisége túl kevés vagy az elrontott fehérjék tömege teljesen telítette, eltömte őket, akkor már nem marad belőlük elég arra, hogy semlegesítsék a haláljelet, és a sejtes bakó szép lassan az akasztófa alá ballag.



A stresszfehérjék azonban nem teljesen halállelenezek. Vannak köztük a „szép” halált elősegítő eutanáziahívők is (Punyiczki és Fésüs, 1998). Ezek egyikeként a Hsp90 a 4.3. fejezetben részletezett más jelátviteli szerepéhez hasonlóan részt

vesz a tumor nekrozis faktor haláljelének továbbításában is (Sőti és Csermely, 1998). A Hsp70 az ATP-hiány miatt bekövetkező „csúnya halált”, nekrozist valószínűleg apoptózisba fordítja át (Vayssier és Polla, 1998). A stresszfehérjék a sejthalál végrehajtóinak: a kaspázoknak, a sejt DNS-ét elhasogató nukleáznak és minden bizonnyal a halálra készülő sejtet becsomagoló enzimeknek is segítenek működésükben. Így a mitokondriumokból kiszabaduló Hsp60 részt vesz a kaspázok aktiválásában (Samali és mtsai., 1999; Xanthoudakis és mtsai., 1999), és a hajlítógatók 3.5. fejezetben részletezett családjába tartozó ciklofilek számos tagja maga is olyan nukleáz, amely az apoptózis során aktiválódik (Montague és mtsai., 1997).

5. Amikor a sejt bajba kerül

Ha a sejt bajba jut, a legelső teendője, hogy az energia minden felesleges elcsorgását megállítsa. Emiatt a sejt átmenetileg nélkülözhető folyamatai leállnak, és az okozott károkból is csak a legfontosabbak javítása zajlik. A legtöbb károsodott alkatrész „raktárba” kerül, hogy a stresszhatás elültével legyen idő (és leginkább energia) „gondolkodni” azon, hogy a helyreállítás vagy a megsemmisítés legyen-e a sorsa a tönkrement alkatrészeknek. Az elkövetkezendő fejezetben először azt tekintem át, mi mindent érezhet stressznek egy sejt, majd a stressz hatására bekövetkező változásokat ismertetem, külön is kitérve a stresszfehérjék termelődésének mechanizmusára. A fejezet végére a helyreállítás lépései maradnak. Miután a legtöbbet tanulmányozott stresszfajta a hőmérséklet emelése, ezért leginkább erre támaszkodom, de az elkövetkezendők zöme a sejtet ért legkülönbözőbb károsító hatások esetére is érvényes.

5.1. Mit érez bajnak a sejt?

A kérdésre adott leghelyesebb válasz igen egyszerű: mindent. Aki a lényegre kíváncsi, lapozhat is tovább. Ezzel az egy szóval azonban a szakma (és a kíváncsibb olvasó) rosszallása nélkül nem lehet egy egész fejezetet letudni. A *4. táblázat* részletesebb felsorolása is alátámasztja az előző, nyeglének ható kijelentést: a sejt bármilyen hirtelen változást bajnak érzékel, természetesen teljesen függetlenül attól, hogy a változás a mi gondolkodásunkban „jónak” vagy „rossznak” minősül. A *4. táblázatból* kitűnik, hogy a túl sok oxidáció és a túl sok redukció egyaránt káros lehet, de „károsnak” minősül az is, ha a sejt hormonnal kerül érintkezésbe vagy például ha a sejteket megetetem (Feige és mtsai., 1996; Lindquist, 1986; Selye, 1936; 1956; Welch, 1992). Ezek után már nem meglepő, hogy egyetemi hallgatók vizsgadrukkja stresszfehérjék termelődését váltja ki, azaz a sejt ugyanolyan károsnak minősíti az ilyen

ténykedést, mint ha a hallgató vizsga helyett enyhén leforrázza magát. Szegény kísérleti patkányokkal kevésbé civilizált országokban (hadd ne említsek most példákat, a választ bármely érdeklődő megtalálhatja az adatbázisokban) még ennél is sokkal borzalmasabb dolgokat műveltek „kutatótársaim”. Patkánytalanul kisméretű lyukakba nyomorították őket, vízbedobálták, árammal csapkodták, sőt még le is forrázták szerencsételeneket. Nagy meglepedésre (mármint a fantáziagazdag kutatók meglepedésére természetesen) a stresszfehérjék szintézisét minden esetben meg lehetett figyelni. Modern életünket is leképezhetjük e kísérletekben. Mondjuk, ha egereket zártak egybe mondjuk olyan sűrűségben, mint amelyet egy rosszabbfajta lakótelepi lakás produkál: folyamatos stresszválaszt mutattak. Vagy ha a férgeknek mobiltelefont adnának ajándékba, a bekapcsolt telefon melletti elektromágneses tér valószínűleg stresszfehérjék keletkezését váltaná ki (Daniells és mtsai., 1998), pedig ilyenkor a férgek mobilja nem is az illemhelyen vagy esetleg temetésen kezdene el csörögni. Karácsonyi bevásárlást állatkísérletekkel modellezni még nem sikerült.

4. táblázat. Az állati sejtek stresszválaszát kiváltó néhány hatás

hősokk	túl sok Ca^{2+} a sejtben
hidegsokk	vírusfertőzés
ultraibolya sugárzás	baktériumtermékek
elektroszmog	parazitotoxinok
aminosav-analógok	akutfázis-reakció
sok alkohol	szekréció
nehézfémionok	fagocitózis
arzén	hormonhatás
túl sok oxidáció	sejtosztódás serkentése
túl sok redukció	sejtdifferenciáció
túl kevés cukor	vérnyomásemelkedés
túl kevés ATP	túl kevés mozgás
sejtkultúra megetetése	túl sok mozgás
ozmotikus-sokk	mentális stressz

A stresszválaszt a legtöbb esetben a stresszfehérjék fokozott szintézisének mérésével határozták meg. A stressz fogalmát a többsejtű élőlényeknek a károsító hatásokra adott reakciójára *Selye János* (1936, 1956) vezette be. A sejtek stresszválaszának összefoglalása a Lindquist (1986), a Welch (1992) és a Feige és mtsai. (1996) irodalmi hivatkozásokban található.

A stresszválasz sokféleségének érzékeltetésére még az állati sejtekénél is szemléletesebb példa a növény stresszválasza. A növény ugyanis nem tud elfutni a baj elől. Így hatékony stresszválasz híján ott pusztul el, ahol a földből kinőtt. Bevallom, én egészen addig, amíg egy növényi stresszválaszról szóló konferencián részt nem vettem, mindig gyanakodtam a mezőgazdasági hírek olvasása közben. „Idén a termés a szárazság miatt lett satnya. Tavaly a sok víz volt a baj. Előtte túl hideg volt, még előbb meg túl meleg.” Mi ebben a logika? Biztos nem igaz az egész, csak a szokásos paraszti furfang. Mindegy, hogy mire fogjuk, csak érkezzon meg a támogatás, lehessen felverni az árakat. (Mindez régen volt. Ez abból is látszik, hogy a könyv írásakor a termelői árak még „felverten” is valahol a gyökérzet alatt helyezkednének el...) Jópár adat mutatja, hogy számos növény (vigyázat, nem csak a mimózafélék!) már akkor is stresszválaszt produkál, ha az ember végigsimít a levelén (Braan, 1992).

Mitagadás, az adatok ismeretében én leszoktam az éppen aktuális agrár csapás feletti kételkedésről. (A kedvenc szobanövények simogatásáról nem is beszélve.)



A hidegsokk fehérjék és a hipoxia. A fejezet további részeiben a stresszválasz mechanizmusát a stressz leggyakrabban tanulmányozott formáján, a hő sokkon tekintem át. Mielőtt azonban ebbe belekezdenék, annak érzékeltesére, hogy valamilyen azért már tudunk a másféle károk után elinduló jelátviteli és védelmi folyamatokról is, néhány szót szólnék a hidegsokk és a hipoxia alkalmával keletkező fehérjékről is. A hidegsokk jelensége arra is alkalmas, hogy bemutassam: a változások sohasem abszolút mértékben értendők, hanem mindig az adott sejt előző állapotához mérten. Így a húszfokos tenyésztés egy 4 fokon egyensúlyba került sejt számára hő sokkot, de egy 37 fokon tenyésztett sejt számára hidegsokkot jelent. Milyen baj támad a hidegsokkban? Hidegben a hidrogénhid kötések felszakítása igen nehézé válik, hiszen a kötés felszakításához szükséges energia összegyűjtése nehezebb. Így nem meglepő, hogy a legtöbb hidegsokk fehérje az RNS vagy a DNS szerkezetének megbontására szakosodott (Jones és Inouye, 1994; Grauman és Marahiel, 1998), ahogy arra a 8.2. fejezetben részletesen is kitérek. A korábban említett hő sokkfaktor sem a hidegsokk fehérjék, sem az oxigénhiányban (hipoxiában) keletkező fehérjék fokozott szintézisének kiváltásában nem játszik szerepet. A hipoxiában egy másik transzkripciós faktor, a hipoxia-indukált faktor aktiválódik. Az aktiváció azt jelenti, hogy oxigén hiányában a faktor egyik alegysége megmenekül a lebomlástól, és az állandóan jelenlévő másik alegységhez kötődve elindítja a hipoxiás károsodások ellen védő fehérjék, például az oxigént nem igénylő cukorbontás enzimeinek vagy a cukorutánpótlást felpörgető glukóztranszportereknek szintézisét (Srinivas és mtsai., 1998). A hipoxia-indukált faktort a hő sokkfaktorhoz hasonlóan a Hsp90 tartja fogva, és segíti aktiválódásában (Minet és mtsai., 1999).

? ? ? ?



Mi indítja be a hidegsokk fehérjék szintézisét?

5.2. Mi történik, ha bajba kerül a sejt?

A sejt károsodás korai szakasza

Enyhébb károsodás során a legmarkánsabb jelenség a sejt kezdeti, gyors savasodása (ez persze „csak” néhány tizednyi pH-változást, azaz a hidrogénionok koncentrációjának körülbelül kétszeresése növekedését jelenti), az ATP-tartalom csökkenése és a citoszol kalcium-koncentrációjának emelkedése (Kabakov és Gabai, 1997; Stevenson és mtsai, 1981; Weitzel és mtsai., 1987). Ekkor nagymértékű morfológiai elváltozások még nem észlelhetők, de a károsodás mértékének növekedése a citoskeleton összezsugorodását és a sejtszervecskék feltöredezését idézi elő. A mikrotubulusok és a mikrofilamentumok bomlásával a merevítő, és az irányítószállító funkció meghibásodása azt eredményezi, hogy a megrongálódott sejtszervecskék mintegy ketreche zárják a sejtmagot. A magban hasonló elváltozások figyelhetők meg. A DNS-állomány bizonyos részei és a félkész riboszómák szemcsékbe sűrűsödnek, a sejtmagvacska megduzzad, és végül különleges aktin-szálak jelennek meg a sejtmagban (Welch és Suhan, 1985). A morfológiai elváltozások oka a membránok áteresztővé válása, illetve a sérülékeny enzimek és pumparendszerek inaktiválódása, amelyek a sejt belső ionkoncentrációinak megváltoztatásával, majd az energiatermelés blokkolásával olyan ördögi kört indítanak el, amely során egyre több és több

fehérje veszíti el a működőképességét, tovább rontva ezzel a többi fehérje és végső soron az egész sejt életkilátásait.



Mit keres az aktin a sejtmagban?

A szokásos sejt folyamatok takaréklángra állítása

A sejt normális működésére jellemző folyamatok már a károsodás kezdeti szakaszában takaréklángra állnak. Az energiatermelésben a cukorbontás, a glikolízis játszik főszerepet, a több energiát eredményező, de sérülékenyebb és veszélyesebb mitokondriális oxidáció helyett. A DNS megkettőződésének sebessége drasztikusan csökken, ezzel együtt a sejtosztódás szinte leáll (Rao és Engelberg, 1965). A DNS másolásának stressz közbeni szüneteltetése nemcsak az energiafogyasztás mérséklésében segít, hanem csökkenti a másolási hibák, a mutációk veszélyét is. Ugyanígy az RNS átíródása is gátlás alá kerül (Yost és Lindquist, 1986). A fehérjék szintézisét az újonnan szintetizált riboszómák hiánya mellett a fehérjeszintézis megindításában szerepet játszó két legfontosabb iniciációs faktor, az első transzfer RNS-t kötő eIF-2 α , és a hírvivő RNS-t kötő eIF-4F gátlása függeszti fel. Azt, hogy a változások mennyiben a károsító hatás közvetlen következményei, illetve mennyiben köszönhetők a sejt „tudatos” védekezésének, nehéz eldönteni. Mindenesetre a változások eredményeképpen a sejt képes lesz arra, hogy maradék energiáit a valódi védelem bekapcsolására összpontosíthassa.

Struktúravédelem

A védekező mechanizmusok kezdeti szakaszában a sejt meglévő stresszfehérje készlete aktivizálódik. Ilyenkor a 3.1. fejezetben már említett, ATP-t nem igénylő „szemétszedő” funkció válik a legfontosabbá. Hősokk alkalmával még a huzigáló Hsp60 fehérjék is kevésbé huzigálnak, és segítenek a szemétszedésben (Llorca és mtsai., 1998). A stresszfehérjék többsége nagyobb aggregátumokat képez a károsodott fehérjékkel, a hírvivő RNS-ekkel és a sejten belüli membránokkal. Az aggregátumok a stressz mérséklődésével a mag melletti centroszóma felé vándorolnak. Stresszfehérjék asszociálnak a tubulin és aktin szálakkal is, hogy ezek a sejt szerveződését biztosító elemek minél kisebb károsodással vészeljék át a nehéz időszakot (Kabakov és Gabai, 1997). A membránok védelme azért különösen fontos, mert mérsékelt stresszben „csak” áteresztőképességük nő (túl folyósak, azaz helyenként lyukasak lesznek), de nagyobb hősokkban a kettősrétegű membrán teljesen felbomlik (lipid-csővecskékké alakul át), ami a sejt halálához vezet, visszafordíthatatlan folyamat.



Mért olyan fontos a centroszóma a sejt rendbetételében?

A membránok védelme azonban nem teljes. A legtöbb stressz a magmembrán kalciumpumpáinak sérüléséhez vezet. Ennek következtében a 4.8. fejezetben már említett módon a sejtumba irányuló transzport lezárul, azaz az ostromlott mag felhúzza a felvonóhidakat (Liu és mtsai., 1996). Hogy az általános blokád

alatt a stresszfehérjék és a stresszfehérje-specifikus transzkripciós faktorok hogyan jutnak be a magba, nem tudjuk. Így vagy úgy, a stressz alatt a sejtmagot a citoplazmából beáramló stresszfehérjék öntik el. A sejtmag különleges védelme azért fontos, mert a mag a sejt egyik legérzékenyebb része, és megfelelő védelme végső soron eldönti, hogy a sejt túléli-e a stresszhatást (Welch és Suhan, 1985). Az általános forgalom elől lezárt magpóruson azonban nem csak a magba irányuló fehérjefolyam halad át. Hasonlóan a sejtmagot előntő citoplazmatikus chaperonokhoz, a citoplazmát a stresszhatás alatt a sejtmag chaperonjai öntik el (Liu és mtsai., 1996). A kiáramló magi chaperonok részt vehetnek az RNS-ek stabilizálásában. A sejtmaggal és a hisztonok által biztosított védelemmel nem rendelkező baktériumokban erős stresszhatás után a DNS egy része egy speciális stresszfehérjével kikristályosodik (Wolf és mtsai., 1999).



Hogyan válogat a sejtmag stressz idején?

Jelátvitel a stressz idején

Stressz hatására az előbbieken említett ionkoncentráció-változások mellett egy sereg más jelátviteli folyamat is beindul a sejtben belül. Speciális, úgynevezett stresszkinázok aktivációja figyelhető meg, amelyek számos fehérjét (köztük stresszfehérjéket is) foszforilálnak, és ezáltal közvetlenül aktiválnak a védekezési folyamatban. A stresszkinázok aktivációja hozzájárul ahhoz is, hogy kijavíthatatlan károsodások után a sejtben meginduljon a programozott sejthalál folyamata (Verheij és mtsai., 1996). Ilyenkor a 4.9. fejezetben már említett módon a sejt belső tartalmának öngyilkosság előtti gondos becsomagolása révén gondoskodik arról, hogy saját tragédiája legalább a neki otthont adó organizmust ne öntse el gyulladáskeltő, toxikus anyagokkal. Megfigyelhető úgynevezett alarmonok fokozott szintézise is (Lee és mtsai., 1983). Ezek olyan, leginkább a bakteriális sejtekben megtalálható, kisméretű molekulák, ahol például két ADP molekula összekapcsolódásával adenin-foszfát-foszfát-foszfát-foszfát-adenin szerkezetű furcsa dinukleotidok jönnek létre. Az ilyen anyagok a sejt számos folyamatának takarékra állításában, illetve a védekező reakciókra történő mozgósításában vesznek részt. Arra a kérdésre, hogy e bakteriális folyamatok a mi sejteinkben mennyire fontos szerepet játszanak, még nem tudunk pontos választ adni.



Vannak-e eukarióta alarmonok?

5.3. Hogyan termelődnek a stresszfehérjék?

Mint ahogy azt az előzőekben is említettem, már néhány perccel a károsító hatás kezdete után akár órákra, sőt, napokra is gátlódnak a sejt szokásos szintetikus folyamatai és a sejtosztódás is szünetel (Rao és Engelberg, 1965). Annál megdöbbentőbb, hogy ezzel párhuzamosan a sejtben található stresszfehérjék mennyisége ugrásszerűen emelkedik. A stresszválasz erőssége és időtartama a stresszhatás (például a hőmérséklet-emelkedés) mértékétől és időtartamától függ, a maximális válasz a csaknem halálos stressz után

jelentkezik. A stresszfehérjék szintézise szinte pontosan ugyanúgy növekedik a legkülönbözőbb sejtkárosító ingerek (4. táblázat) hatására. Ugyanakkor a keletkező stresszfehérjék mintázata igencsak eltér az egyes stresszhatásokban. A stresszfehérje mintázata és a stresszfehérjék aktiválódásának mértéke állatról állatra, sejtről sejtre és időről időre is változik (Wang és mtsai., 1999). A stresszfehérjék mennyiségével és indukálhatóságával jellemezhető „stresszállapot” valószínűleg a sejt addigi életének, felkészültségének igen pontos leképezését adja a sejtélet minden egyes pillanatában.

Vajon mi lehet a stresszfehérjék eme különleges szintézisét kiváltó közvetlen tényező? Mivel a legtöbb eddigi kísérlet a károsodást melegítéssel idézte elő, a kérdést érdemes úgy szűkíteni: hogyan érzi a sejt a megemelkedett hőmérsékletet?

Mi lehet a sejt hőmérője?

A számos elképzelés közül hármat emelek ki:

1. A hőmérő a károsodott fehérje és a stresszfehérje együttesen. A károsodott fehérjék jelzőszerepére először akkor kezdtek gyanakodni, amikor *Larry Hightower* (1980) az átíródo fehérjék torzulását előidéző aminosavszármazékokat adott a sejtekhez, és ezzel ugyanolyan stresszválaszt idézett elő, mint a sejteiket megfőző társai. Az elrontott szerkezetű fehérjék szerepére az első közvetlen bizonyítékot az a kísérlet szolgáltatta, amelyben a sejtbe torz szerkezetű fehérjéket injektáltak, és meglepetésre a hősokkfehérjék mennyiségének megnövekedését tapasztalták (Anathan és mtsai., 1986). A molekuláris mechanizmusokat is tisztázó elméletet *Rick Morimoto* fogalmazta meg a legtömörebben (Morimoto és mtsai., 1992). Az elképzelés lényege, hogy a stresszfehérjék szintézisét aktiváló mechanizmusokban a károsodott fehérjék mellett a stresszfehérjék maguk is szerepet játszanak. Így például eukarióta sejtekben a stresszfehérje gének átíródását kiváltó hősokkfaktor a citoplazmában a Hsp70/Hsp90 stresszfehérjékkel komplexet képezve tárolódik. Hősokk (vagy más, a sejt fehérjéit károsító stressz) során az elromlott fehérjék felszaporodnak, és ezeket a Hsp70/Hsp90 megköti. Az elnyomorodott fehérjéket kötő Hsp70/Hsp90-ról azonban a hősokkfaktor leválik, és így a hősokkfaktor már szabadon a sejtmagba jut, ahol beindítja a stresszfehérjék szintézisét. A stressz elmúltával a stresszfehérjék ismét felszabadulnak, és újra kötődnek a hősokkfaktorhoz (Morimoto, 1999). Az elmélet igen tetszetős, de megfogalmazása óta kiderült, hogy valószínűleg nem teljes (*Arkagyij Rajkin* után szabadon: „Válámi ván, de nem áz igázi”). A hősokkfaktor más utakon is képes aktiválódni, illetve aktivációjához olyan lépések is tartoznak (például trimerizáció, foszforiláció), amelyek nem következnek egyértelműen a hősokkfaktor a Hsp70/Hsp90-nel képzett komplexének megbomlásából. Az elmélet újabb variánsai a hősokkfaktor trimerizációért felelős régióinak magasabb hőmérsékleten bekövetkező „megolvadását” is a sejt hőmérőjének részeként kezelik (Storz, 1999).

2. A hőmérő a hősokkfaktor mRNS. Prokariótákban az ottani hősokkfaktornak megfelelő σ^{32} -faktort (amely az RNS-polimerázt a hősokkfehérje gének átírására programozza át) is stresszfehérjék tartják fogva. Itt a fogvatartás oly barátságos, hogy a σ^{32} -faktort nemcsak feltartóztatja,

hanem rögtön az enyészetnek, azaz a proteolitikus lebontásnak is átengedi. Stresszhatás során a stresszfehérjék nem a σ^{32} -faktorról lesznek elfoglalva, hanem a tönkrement fehérjékkel. Így a σ^{32} -faktort eleresztik, amely ezáltal stabilabb lesz, és jut ideje arra, hogy a DNS-függő RNS polimerázhoz kötődjön, és megindítsa a stresszfehérjék szintézisét. A stressz végeztével a hő sokkfehérjék ismét a σ^{32} -faktort boldogítják, amely ezáltal újra a lebontás áldozata lesz. Ennyiben tehát a prokarióta szabályozás hasonlít az eukariótáknál már megismerthez. Újabb ismeretek szerint azonban a σ^{32} -faktort kódoló hírvivő RNS maga is hőmérőként szerepelhet (Morita és mtsai., 1999). A σ^{32} -mRNS magasabb hőmérsékleten „megolvad”, és ilyenkor sokkal jobban köt a σ^{32} -fehérje szintézisét elindító riboszómához. Érdekes megfigyelés, hogy a σ^{32} -faktor magasabb hőmérsékleten szerkezeti átalakuláson megy keresztül, és így sokkal érzékenyebb lesz a proteolitikus lebontásra (Kanemori és mtsai., 1999). Hő sokkban, amikor a stresszfehérjék a javítgatással vannak elfoglalva, a σ^{32} -faktor anélkül is lebomlik, hogy kötődne a stresszfehérjékhez. Ez a stresszválasz befejezésének finom szabályozását teszi lehetővé a prokarióta szervezetekben is.

3. A hőmérő a sejt membránrendszeré. A harmadik elmélet Vigh Lászlónak, e könyv lektorának nevéhez fűződik (Vigh és mtsai., 1998). Ha a sejt hőmérséklete megnő, a sejtmembrán folyékonysága is növekszik a membránalkotó lipidek rendezettségének csökkenése miatt. Számos indirekt bizonyíték sugallja, hogy a membrán folyékonyságának változásai részt vehetnek a stresszfehérjék szintézisének növelésében, például a membránba beépült, a jelátvitelben kulcsfontosságú enzimek aktivitásának változtatásával. Ezt az elképzelést bizonyították azok a kísérletek is, amelyekben azonos hőmérsékleten a membrán folyékonyságát növelték, vagy csökkentették. Ilyenkor a sejt „azt hitte”, hogy hevítésnek, illetve hűtésnek vetették alá, és a hő sokkban vagy a hideg sokkban mozgósított védőmechanizmusok bekapcsolásával válaszolt (Carratu és mtsai., 1996; Horváth és mtsai., 1998; Vigh és mtsai., 1993).

???



Lehet-e oka az antarktiszi hal folyékonyabb membránja annak, hogy ilyen halaknak már a tízfokos víz is hő sokkot jelent?³



Stresszfehérjék, mint „membránkeményítők”⁴. A 4.4. fejezetben említettem, hogy a membránokhoz stresszfehérjék kötődnek. Membránhoztapadásuk a lipidréteg folyékonyságát csökkenti (Török és mtsai., 1997). Mindezek alapján elképzelhető, hogy a hő sokk hatására fluidizálódó membrán „visszakeményítésével” a stresszfehérjék a stresszválasz megszüntetéséhez is hozzájárulnak.



Honnan tudja a sejt, hogy meleg van? A negyedik elmélet. Amikor egy tudós nem sokat tud valamiről, ritkább esetben elismeri, általában azonban kódósítani kezd. A sejtes hőmérőről elmélkedve és az előzőekben ismertetett három, egyformán szimpatikus barátja által konstruált, egyformán szimpatikus elméletet leírva az embernek tán megbocsátható, ha picit kódósíthatná támad. Lehet, hogy a hőmérőkeresésben megint reménytelenül antropomorfak vagyunk. A nyugati civilizáció a tudóst analitikusnak képi ki:

„Szedd szét, és mondd meg, melyik része az igazi”. Mi van, ha semelyik? Ha reménytelen a feladat? Ha csak az Egész működik, semmilyen része nem? Lehet, hogy a sejtes hőmérő is ilyen. A sejt a hőmérő. A membránelmélet is tulajdonképpen ezt mondja ki, de – különösen eukarióta sejtekben – a kérdésnek lehetséges egy másfajta megközelítése is. Ha elfogadjuk, hogy az eukarióta citoplazma rendezettségét a 4.2. fejezetben leírt bonyolult, de ugyanakkor roppantul dinamikus hálózat biztosítja, szinte bizonyosra vehető, hogy ennek a – számos stresszfehérjét is magában foglaló – hálózatnak a szerkezete a hőmérséklet-emelkedés hatására alapvetően megváltozik. Ezzel módosul a citoplazmában az anyagáramlás sebessége, útja is. Ha figyelembe vesszük, hogy a citoplazmatikus hálózat mind a változó membránokkal, mind pedig a stresszfehérje-gének kifejeződésének helyével, a sejtmaggal kapcsolatban áll, elképzelhető, hogy ez a bonyolult szerkezet a sejtes hőmérő kialakulásában is szerepet játszik. Na ja. Milyen szerepet? Hogyan? Az őszinte válasz az, hogy fogalmam sincs. De azért a ködösítés jól esett.

A stresszfehérjék szintézisének mechanizmusa

Az előzőek alapján tekintsük át még egyszer, milyen konkrét mechanizmus váltja ki a stresszfehérjéket kódoló hírvivő RNS-ek átíródását, és az ezt követő fehérjeszintézist. Az eubaktériumok egy részében, így a leggyakrabban vizsgált kólibaktériumban az RNS polimerázt a szokásos σ^{70} -faktort a helyéről kilökdöső σ^{32} -faktor programozza át arra, hogy „normális” fehérjék génjeinek átírása helyett a stresszfehérjék génjeire koncentráljon. A legtöbb baktériumban azonban nem a σ^{32} -alapú mechanizmus működik, hanem a stresszválaszt közvetítő σ -faktorokhoz nyugalmi állapotban egy gátlófehérje (anti- σ -faktor) kapcsolódik. Az inhibitor leválasztásához a legtöbb esetben más fehérjék (anti-anti- σ -faktorok) szükségesek. Előfordul olyan szabályozási mód is, amelyben a gátlófehérje a stresszfehérjék génjeinek „CIRCE” nevű szakaszára ülve akadályozza meg a stresszfehérjéket kódoló RNS-ek szintézisét. Érdekes módon ezekben a baktériumokban a Hsp60 jelenléte szükséges ahhoz, hogy a gátlófehérje aktív állapotban maradjon. Így abban az esetben, ha a károsodott fehérjék felszaporodnak, a gátlófehérjétől elvonják a Hsp60-at, és így az – szabad utat adva a stresszfehérje-szintézisnek – a „CIRCE” nevű DNS-szakaszról lepotyog.

A prokarióták és az eukarióták közé eső ősbaktériumokban (Woese és Fox, 1977) a stresszfehérjék szabályozása még nem ismert. Egy biztos: sem az eubaktériumokra jellemző σ -faktor nincs meg bennük, sem az eukarióták hősokkfaktora, így tanulmányozásuk minden bizonnyal további izgalmas mechanizmusok feltárására ad lehetőséget (Macario és mtsai., 1999).



Hogyan védekeznek az ősbaktériumok?

Eukarióta szervezetekben a már említett hősokkfaktor (HSF) a kulcsszereplő. A hősokkfaktor olyan transzkripciós faktor, amelynek ma már csaknem féltucat változata ismeretes (Morimoto, 1999). A sejt nyugalmi állapotában a HSF-et mind a Hsp70, mind pedig a Hsp90 a citoplazmában tartja fogva. Stresszhatásra ezek a stresszfehérjék a HSF kötése helyett az elrontott fehérjéket kötik meg, emiatt a hősokkfaktor szabadon marad, különböző átalakulásokon megy keresztül (trimerizál, foszforilálódik stb.), bejut a sejtmagba, és a stresszfehérjéket kódoló gének szabályozó szakaszaihoz kötődve beindítja azok átíródását. Ez az általános mechanizmus azonban még

akkor sem képes magyarázni a stresszválasz sejtenként és időpillanatonként tapasztalható, a korábbiakban már említett különbözőségét, ha feltételezzük, hogy az átíródás a sokfajta hőszokkfaktor kölcsönhatásai révén valósul meg. A stresszválasz szabályozásának egyedi részleteiért minden bizonnyal azok a nemrég megismert fehérjék a felelősek, amelyek a Hsp70/Hsp90-HSF fehérjekomplexhez kötődnek. Ezek a fehérjék segíthetik, és gátolhatják is a komplex szétesését, tehát a hőszokkfaktor aktiválódásának mértékét és idejét egyaránt megszabhatják.

Ahhoz, hogy az aktivált hőszokkfaktor ráülhessen a DNS-re, helyet kell csinálni neki. A 4.8. fejezetben említettem, hogy a helycsináláshoz az eukarióta DNS-nél meg kell lazítani, és egyben odébb kell görgetni a transzkripció faktor kötőhelyén ülő hisztonokat. Ezt a feladatot a hőszokkfaktornál a GAGA-fehérje végzi el, amely nem a felfedező *Carl Wu* fél éves gyermeke után, hanem a faktor guanin-adenin-(GA)-gazdag kötőhelyéről kapta a nevét (Tsukiyama és mtsai., 1994).

A stresszfehérjéket kódoló RNS-ek szintézisének hatékonyságát a sejt más módon is biztosítja. Az RNS polimerizációjáért felelős RNS-polimeráz enzim a stresszfehérje géneken már sokkal azelőtt rajta csücsül, mielőtt az RNS szintézisére a hőszokkfaktor utasítást adna. A polimeráz még a stresszfehérjét kódoló RNS kezdeti szakaszát is elkészíti, és csak utána akad meg, mert (az elképzelések szerint) az átíródás startpontján lévő fehérjecsomó fogva tartja. Amikor a hőszokkfaktor megérkezik, a polimeráz szabaddá válik, és végigrohanhat a génen kedve szerint. Mi történik ezután? Mint az általában is jellemző, a kutatók a hatás befejeződésének feltárásával ezen konkrét példában is késlekednek. Ez nem valamiféle érzelmi beállítódás vagy esetleg lustaság miatt van így, hanem annak a következménye, hogy amikor a kutató a sejt aktiválásával a mérésbe kezd, a sejtek általában szinkronban vannak. Mire a folyamat a végére ér, ezt már jóval kevésbé lehet elmondani, és így a szokványos biokémiai módszertár rendre csődöt mond. Így nem meglepő, hogy a folyamat végéről a hőszokkfaktornál is csak annyit tudunk, hogy a Hsp90 minden bizonnyal részt vesz a hőszokkfaktor trimerek szétszerelésében az aktiváció befejeződése után (Morimoto, 1999). Az általában a jelátviteli folyamatok megindításánál bábáskodó Hsp90 a hőszokkfaktorral szemben „terminátorként” is viselkedik, akár csak a szteroidreceptor aktivációja, majd inaktivációja során (lásd 4.3. fejezet).



Hogyan jut ki a hőszokkfaktor a sejtmagból?

Hogyan lesz a hírvivő RNS-ből stresszfehérje? A válasz első ránézésre egyszerű. Tessék fellapozni a tankönyveket és elolvasni a „fehérjeszintézis” című fejezetet. Azon túl, hogy egy ilyen gesztus a könyvírótól meglehetősen udvariatlan lenne, van itt más probléma is. Pár oldallal ezelőtt azt részleteztem ugyanis, hogy hőszokkban a sejt minden szintetikus folyamatot lezár. Hogyan kerül ki az általános blokádot a stresszfehérjék? Az első nagy akadály az RNS átszabása⁵, ami stresszhatásra szinte teljesen leáll. Erre a stresszfehérjék zöme egyszerű választ talált: nincs benne intron, és így az RNS-ét nem kell átszabni. Idáig megvolnánk. Hogyan jut ki a hőszokk-RNS a sejtmagból, amikor a transzportfolyamatok gátoltak, és ha valami mászkál a sejtmag pórusain, az

egy csomó stresszfehérje, amelyik éppen befele igyekszik? Erre a kérdésre tudtommal választ még nem találtak.



Hogyan jutnak ki a hősokek RNS-ek a sejtmagból?

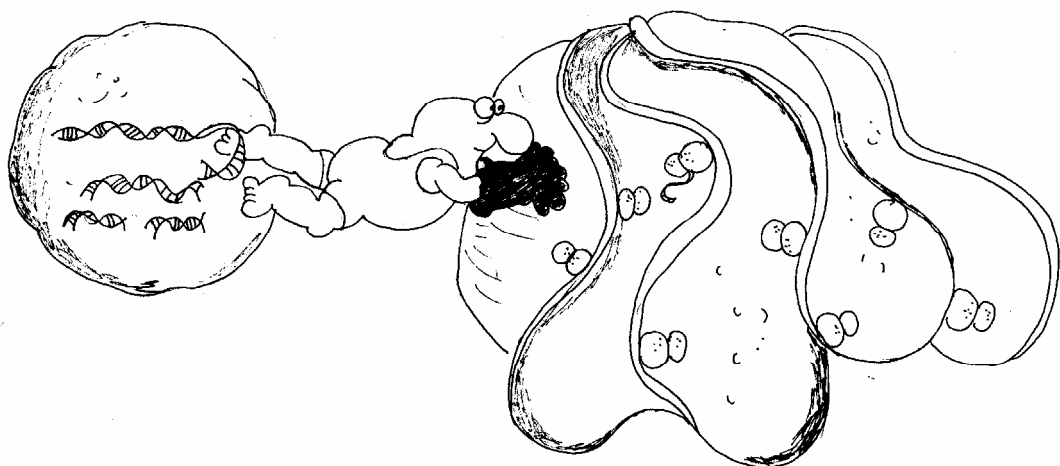
A fehérjeszintézis stressz alatti gátlása a szokványos hírvivő RNS-ek felismerésének gátlásán alapul. Nyugalmi állapotban a riboszóma a hírvivő RNS végén lévő, metilcsoporttal ellátott guanin sapkát ismeri fel. Stresszben a sapka kötéseért felelős faktor inaktív lesz. A stresszfehérjék hírvivő RNS-ének felismerése azonban sapkafüggetlen, mert ebben az esetben a riboszóma a stressz-RNS belső pontjaival létesít kötést (Macejak és Sarnow, 1991).

Az endoplazmatikus retikulum stresszválasza

Az endoplazmatikus retikulum sokak szemében olyan, mint egy sokfülkés táborig latrina, amelyre ráülnek a riboszómák, és beleürítik a kiválasztandó vagy a plazmamembránba juttatandó fehérjéket. Akinek esetleg ilyen kép élne az endoplazmatikus retikulumról a fejében, azt minden bizonnyal a tankönyvek elektronmikroszkópos képei tévesztették meg, amelyek a könyvbéli ábrák természeténél fogva nem mozognak. A valóságban az endoplazmatikus retikulum a sejt leginkább mozgásban lévő, a külvilággal állandó kapcsolatban álló, olyan központi műszere, amely minden olyan változásra érzékenyen reagál, amely akár a sejt belső állapotában keletkezett, akár a sejtet körülvevő környezetben jött létre. Így nem meglepő, hogy az endoplazmatikus retikulumot ért stressz érzékelésére a sejt jónéhány különleges jelfogó rendszert fejlesztett ki.

Nyilvánvaló, hogy eltér a kívánatos állapottól, ha az endoplazmatikus retikulumban felgyűlnek a tekerendő fehérjék. A felgyülemlt fehérjéket felismerő rendszer magva egy IRE-nek nevezett fehérje, amely keresztülnyúlik az endoplazmatikus retikulum membránján. A fehérjének a retikulum lumenébe belógó belső része tulajdonképpen egy receptor, amely az endoplazmatikus retikulumban tekeredő, de végleges alakjukat még el nem nyert fehérjéket képes megkötni. Ha a receptor belső oldala telítődik (azaz a lumenben a kisebb-nagyobb mértékben denaturált fehérjék felszaporodnak), a receptor külső oldalán (amely a citoplazmában, de a sejtmag pórusához igen közel helyezkedik el) olyan enzim aktiválódik, amely RNS-hasításra képes. Ez az enzim azonban csak egyfajta RNS-ből hasít ki egy darabot, éppen abból, amelyik az endoplazmatikus retikulum fehérjéinek szintézisét elősegítő transzkripció faktor, a Hac-ot kódolja. Az IRE-fehérjével egy másik enzim is kapcsolódik, amely a hasítás után a két szélső RNS darabkát összeragasztja. Az eredeti RNS-ről a közbeékelt intron miatt nem tud fehérje szintetizálódni. Ha az RNS-t az elrontott fehérjékkel aktivált IRE-enzim átszabja, róla megindul a Hac transzkripció faktor szintézise. Az aktív Hac az endoplazmatikus retikulum stresszfehérjéit kódoló gének szabályozó szakaszához kötődve megnöveli azok átíródását, és így a fehérjetekérés hatékonyságát az endoplazmatikus retikulumban belül. Élesztőben csak egy IRE-fehérje

ismeretes, míg emlős sejtekben két, rokon szerkezetű IRE-fehérje dimerje látja el ezt a feladatot (Chapman és mtsai., 1998). Az emlős sejtek IRE fehérjéjéről a nukleáz domén proteolitikusan lehasad, és feltételezhetően a sejtmagba diffundálva fejt ki hatását (Niwa és mtsai, 1999).



Újabb kutatások tisztázták azt is, hogy a felgyülemlett, „félretekeredett” fehérjék emlős sejtekben egy az IRE-hez hasonló, PERK nevű receptorfehérjét is indukálnak. A PERK a citoszolba nyúló kinázaktivitása révén az eIF-2 α -faktor foszforilációjával a fehérjeszintézist lényegesen lelassítja, hogy az endoplazmatikus retikulum amúgy is túlterhelt tekerő apparátusát ne ériék a riboszómáktól beáramló, tekerésre váró fehérjék újabb és újabb hullámai (Kaufman, 1999). A fehérjeszintézis lassítása mellett a PERK a be nem tekeredett fehérjéket is pótlólagosan megkötöti mindaddig, amíg az endoplazmatikus retikulum tekerő apparátusa ismét szabaddá válik, hogy betekerésükkel ismét foglalkozni tudjon (Aridor és Balch, 1999).

Emlős sejtekben a stresszválaszba más transzkripciós faktorok is besegítenek. Ezekben a sejtekben két olyan transzkripciós faktor (az NF-Y- és a Yin-Yang-faktor) is aktiválódik, amelyek dimerként önmagukban is aktiválják a stresszfehérjék RNS-einek átíródását. Az NF-Y és a Yin-Yang emellett segíti az előzőekben említett Hac transzkripciós faktor kötődését az endoplazmatikus retikulum stresszfehérjéinek szabályozó régiójához. A Hac, az NF-Y és a Yin-Yang transzkripciós faktorok akkor is aktiválódnak, ha az endoplazmatikus retikulumot ért stressz forrása nem vagy nemcsak a felgyülemelő tekeretlen vagy félretekert fehérjetömeg, hanem a sejt olyan állapotváltozása is (például az endoplazmatikus retikulum kalciumraktárainak kiürülése vagy az oxidáló környezet részleges megszűnése a retikulum belsejében), amely nehezíti az endoplazmatikus retikulum működését.

Az endoplazmatikus retikulumot akkor is elöntik a betekerésre váró fehérjék, ha a gazdasejt vírusfertőzés áldozata lesz, és a sejt szintetikus apparátusát a vírus egyes trükkjei a termelő vírusok köpenyfehérjéinek előállítására állítják át. A beépített védekező mechanizmusok egyike, hogy ilyenkor az eddig ismertett, „szokásos” stresszválaszon túlmenően az endoplazmatikus retikulum a nukleáris – sejtmagi – faktor kappab-t (NF- κ B-t) is aktiválja, amely a vírusok elleni küzdelemhez szükséges interferonok és

citokinek termelődését segíti elő (Pahl és Baeuerle, 1995). Az NF- κ B aktivációjának mechanizmusa még nem ismeretes. Az aktiválásban valószínűleg ugyanaz az előzőekben már említett IRE-receptor vehet részt, amely a stresszkinázok endoplazmatikus retikulumból induló aktiválásának is a kezdőpontjaként szerepel (Urano és mtsai., 2000).

A fehérjetekezésben játszott szerepe mellett meg kell említenem azt is, hogy az endoplazmatikus retikulum a sejt membránjait felépítő lipidek szintézisének is a központja. Emiatt nem meglepő, hogy a lipidháztartás zavaraira utaló jeleknél is az endoplazmatikus retikulum „intézkedik”. Ilyenkor egy olyan transzkripciós faktor, amely addig az endoplazmatikus retikulum membránjának külső részén csücsült, egyszer csak levágódik a membránról, és a sejtmagba jutva egy csomó lipidet szintetizáló fehérje termelődését váltja ki (Brown és Goldstein, 1997). Ez a stresszválasz a tekerendő fehérjék felgyümlése során is aktiválódik, hiszen ha a lipidszintézis hiánya miatt nem nőne meg az endoplazmatikus retikulum felszíne, a retikuláris zsák egyszer csak kipukkadna a rengeteg fehérje miatt. Egy ilyen lépés halálos lenne, mert a sejtet elöntené az oxidált állapotú fehérjék tömege és a kalcium.

A halálnak azonban nem csak ez a lehetősége található meg az endoplazmatikus retikulumban. Kiderült ugyanis, hogy a sejthalál során a sejt fehérjéit elhasogató kaszpáz enzimek egyike az endoplazmatikus retikulumban van (Nakagawa és mtsai., 2000). Az endoplazmatikus retikulum stressze során apoptózist segít elő az eIF-2 α -faktor foszforilációja, és egy CHOP/GADD153 nevű transzkripciós faktor termelődése is (Kaufman, 1999). Lehet, hogy a stresszválasz és a sejthalál között már a 4.9. fejezetben is említett összefüggést ki lehet terjeszteni az endoplazmatikus retikulum által érzékelt stresszre is. Érdekes kérdés, hogy a citoplazmatikus kaszpázok és stresszkinázok gátlásához hasonlóan (Gabai és mtsai., 1997; Garrido és mtsai., 1999) az endoplazmatikus retikulum stresszfehérjéi ezeket a folyamatokat mennyire képesek gátolni. Logikus szabályozási rendszer lenne ugyanis, ha az endoplazmatikus retikulum halálosztó aktivitása is csak akkor válna szabaddá, ha az endoplazmatikus retikulum már nem tud megbirkózni a felgyümlő fehérjék tömegével, és így a stresszfehérjéi már mind foglalttá válnának. Erre utaló jel, hogy a CHOP/GADD153 szintézisét az endoplazmatikus retikulumban felgyült, tekeretlen fehérjéket jelző Hac is indukálja (Kaufman, 1999).

5.4. A helyreállítás folyamata

Amikor a vész elmúlik a sejt feje fölül, nekiláthat a roncsok eltakarításának, illetve ahol lehet, a károsodott alkatrészek újraélesztésének. Nyilvánvaló, hogy a helyreállító munka lépésenként haladó feladat, hiszen minden komolyabb helyreállításhoz energia kell, viszont a stressz következtében az energiatermelő rendszerek is károsodást szenvedtek. Az energiatermelés helyreállításához az energiatermelő fehérjék rendbetétele az egyik legfontosabb feladat.



Ki és hogyan rakja rendbe a mitokondriális energiaszolgáltató rendszereket?

A fehérjék helyrekerése

Súlyosabb hősokk, az endoplazmatikus retikulumot ért károsodás a korábban már említett nagy fehérjeaggregátumok (aggregátumok) megjelenéséhez vezet a sejten belül. A stressz elmúltával ezek a stresszfehérje, proteaszóma és károsodott fehérje tartalmú csomók legtöbbször a mikrotubulusokhoz kötötten a centroszómahoz vándorolnak. A fehérjeszerkezetek helyreállításának egyik első feladata, hogy a károsodott fehérjék hozzáférhetőek legyenek a 3.3. fejezetben ismertetett huzigáló típusú stresszfehérjék helyrekerítő munkájához. Az aggregátumok felbontásában a 3.2. fejezetben leírt szétcincáló apparátusok vehetnek részt. Sajnos eukarióta sejtekben e védelmi mechanizmus pontos működése a citoplazmában még nem ismeretes.

A stresszhatás alatt takarékra állított folyamatok közé tartozik a fehérjebontás is. A 4.7. fejezetben ismertetett módon a sejt a lebontandó fehérjék többségét poliubikvitinnel jelöli meg. A stresszhatás elmúltával a proteaszóma nekiláthat az így megjelölt fehérjék bontásának is.

Az RNS-ek helyrekerése és a fehérjeszintézis helyreállítása

A stresszhatás elmúltával a hírvivő RNS-ek újratermelésére nincs szükség, mivel a stressz alatt a hírvivő RNS-ek stabilizálódása következik be. Ugyanakkor a stressz lecsengésével a stresszfehérjéket kódoló RNS-ek gyors és specifikus lebomlása figyelhető meg (Petersen és Lindquist, 1988). Az újonnan szintetizálódó hírvivő RNS-ek kialakulásának fontos lépését, a kezdeti, a fehérjekódoló szakaszok mellett intronokat is tartalmazó RNS átszabását, élesztőben a szétcincálók közé tartozó Hsp100, és a huzigálók egyik legfontosabb tagja, a Hsp70-es stresszfehérje állítja helyre (Vogel és mtsai., 1995).

Az előzőekben említettem, hogy hősokk alatt a fehérjeszintézis gátlás alatt áll a szintézishez szükséges kétféle RNS (a transzfer és a hírvivő RNS) kötését elősegítő iníciációs faktorok foszforilációja miatt. Ezek után nem meglepő, hogy a hősokk elvonultával az iníciációs faktorokat a sejt defoszforilációjukkal aktiválja. A Hsp70 a defoszforilációhoz szükséges foszfatáz az iníciációs faktorokhoz „terelgeti” (Chang és mtsai., 1994). A Hsp70 ezt a feladatát minden bizonnyal akkor kezdi ellátni, amikor már a tekerendő citoplazmatikus fehérjekorcsoktól kezd megszabadulni, akár amiatt, hogy már visszatekerődtek, vagy mert már sikerült lebontani őket. Amennyiben a stressz nem a citoplazmából, hanem az endoplazmatikus retikulum belsejéből indult, a citoplazmatikus Hsp70 valószínűleg nem elég a fehérjeszintézis újraindításához. Hogy az endoplazmatikus retikulum membránjában melyik az a fehérje, amelyik a foszfatázokat az endoplazmatikus korcsok eltakarítása után az iníciációs faktorokhoz lökdösi, még nem tudjuk, de mind a korábbiakban említett PERK-kináz, mind a riboszómahoz kötődő kalnexin alkalmas e feladatra.

A sejt membránjainak integritása

A sejtmembránok stabil szerkezetének megőrzéséhez minden bizonnyal a hozzájuk tapadó stresszfehérjék is nagymértékben hozzájárulnak (Eisenberg-Domovich és mtsai., 1994; Török és mtsai., 1997). Az oxidatív stressz folyamán

oxidálódott lipideket egy lipidbontó enzim, a foszfolipáz-A₂ hasítja ki a membránból, amely az elromlott lipideket sokkal szívesebben lebontja, mint ép társaikat (van den Berg és mstai., 1993).

A sejtmag rendje

Ahogy azt már a 4.8. fejezetben is említettem, a sejtmag rendjének megőrzése, és helyreállítása kulcsfontosságú abból a szempontból, hogy a sejt túléli-e a stresszhatást vagy programozott sejthalált kell elkövetnie az őt hordozó szervezet túlélése érdekében. A sejtmagba irányuló transzport helyreállításának sem az időpontja, sem a mechanizmusa még nem ismeretes. A stressz során a magba beáramló stresszfehérjék bejutásuk módjától függetlenül fontos szerepet játszanak a sejtmag helyreállításában. A Hsp70 a sejtmagvacskában koncentrálnak a riboszóma szintézis, illetve a DNS szálakban ébredő feszültségeket kisimító topoizomeráz enzim védelmét és helyreállítását látja el (Ciavara és mtsai., 1994; Pelham, 1984). A kisméretű hőszokkfehérjék pedig részt vesznek a sejtmagban keletkezett fehérjeaggregátumok feloldásában (Kampinga és mtsai., 1994).

6. Stresszfehérjék az orvostudományban

A stresszfehérjék előző fejezetekben ismertetett sokrétű védő és javító funkciójának ismeretében kézenfekvő a gondolat, hogy e fehérjék a magasabb rendű szerveződések működési zavaraiiban, így például különféle betegségeinkben is védőszerepet töltenek be (Csermely és Somogyi, 1992; Jáattelä, 1999; Latchman, 1999; Smith és mtsai. 1998; Welch, 1992). Milyen emberi bajok ellen védenek a stresszfehérjék? Erre a kérdésre az első három fejezet adja meg a választ. A középső három fejezet azokat az állapotokat veszi majd sorra, amelyekben a stresszfehérjék már nem bírják a munkát: elfáradnak, munkalassító sztrájkot vezetnek be vagy egyszerűen csak kiborulnak. Az utolsó három fejezetből pedig kiderül, hogy a stresszfehérjék változatos családja igen fontos jelzőszerepet tölt be: segít felismerni, hogy hol is van a baj.

6.1. Stresszfehérjék védőhatásai: szívinfarktus, agyvérzés és más bajok

Stresszfehérjék védőhatásai szívinfarktusban és agyvérzésben

Szívinfarktusnál, illetve agyvérzésnél az egyik legnagyobb baj abból származik, hogy a szív, illetve az agy bizonyos részei kizáródnak a véráramból, és így oxigénellátásuk csökken: hipoxia lép fel. Ha az oxigénellátás teljesen megszűnik, anoxiáról beszélünk, az oxigénhiányos állapotokat eredményező keringési zavarokat pedig iszkémiának hívjuk. Ha nincs elegendő oxigén, a sejtek energiaraktárai kiürülnek, és a sejt elindul a teljes széteséssel járó csúnya sejthalál, a nekrozis felé vezető úton. A szervezet két legnagyobb energiafogyasztójának, az izom- (szívizom-) és az agyszövetnek a sejtjei különösen gyorsan erre a sorsra jutnak. A sejt energiacsökkenésének egyik legfontosabb következményeként a sejtben belüli ATP-szint csökken. ATP hiányában borzalmas dolgok történnek a sejtrel. Összeomlanak azok a mechanizmusok, amelyek a sejtben kívül tartják a nátrium- és kalciumionokat. A kalcium- és nátriumzuhatag mellett a sejt savasodni is kezd. Megszűnnek a szintetikus folyamatok, nem termelődik sem DNS, sem RNS, sem fehérje. Ami termelődne vagy korábban elkészült, az nem tekeredik be, illetve nem jut el a

helyére. A szemét sem képes elbomlani, minden sejt nagy csomókba aggregál. Ráadásul még a sejt szerkezete is lazulni, bomlani kezd (Kabakov és Gabai, 1997). A sejt egy ideig felveszi a küzdelmet az 5.3. fejezetben már említett hipoxia-indukált faktor segítségével, amely az energianyerő folyamatokat oxigénmentes (anaerob) körülményekre programozza át. Ezzel azonban a sejt egy baktériumokra jellemző, primitív, nagyon kis hatékonyságú életformára áll át, amely hosszabb időn keresztül nem képes megoldani a fennmaradását.

Mint ahogy már a 3.4. fejezetben említettem, a szervezetünkben nemcsak az oxigénhiány, hanem az oxigén megérkezése (vagy másnéven: reperfüzió) is komoly zavart okoz. A bajokat még tetézi, hogy az oxigénhiány megszüntetésére irányuló jelenlegi terápiás eszközök, így például a véráram útját elzáró vérrögöt feloldva sok esetben túl későn és túl gyorsan eresztik rá a csaknem elhalt szövetdarabra az oxigént, és így reperfüziós károsodást okoznak (Williams és Benjamin, 1992).

William Currie és munkatársai (1988) több mint tíz évvel ezelőtt fedezték fel, hogy a 3.3. fejezetben a huzigáló stresszfehérjék között említett Hsp70 az átmeneti oxigénhiány, az iszkémia utáni szívkárosodást mérsékelni képes. Azóta számos olyan egérmodellen sikerült igazolni mind ennek, mind más stresszfehérjéknek a szívinfarktust megelőző, illetve káros következményeit enyhítő hatását, ahol a szívben szelektíven az adott stresszfehérje magasabb szintjét érték el például genetikai manipuláció segítségével (Kabakov és Gabai, 1997; Jäättelä, 1999). A Hsp70 védőhatásának konkrét mechanizmusait még nem ismerjük, de minden bizonnyal segíti az oxigénhiányos, ATP-ben szegény sejtekben a mitokondrium károsodásainak kivédését, és a sejt szerkezet megőrzését. Még ennél is nagyobb jelentősége van annak, hogy a stresszfehérjék nemcsak az oxigénhiány, hanem a reperfüzió, a túlzott oxidáció ellen is védenek (3.4. fejezet). Ezzel kapcsolatban állhat az az érdekes, új felfedezés, hogy a stresszfehérjék nem is annyira a szív izomsejteiben, semmint az izomsejteket tápanyaggal és oxigénnel ellátó vérkapillárisok falait alkotó sejtekben termelődnek nagy mennyiségben. Lehetséges, hogy nem is annyira a szívizom, hanem az érfal sejtei károsodnak, és még akkor sem tudják átteresztetni az életmentő tápanyagot, amikor az már megérkezett. Pontos hatásmechanizmusuktól függetlenül már az eddigi eredmények is bizonyítják, hogy a szokásos terápiás beavatkozásokat kiegészítő kezelésként a stresszfehérjék indukciója életmentő lehet.

A stresszfehérjék a szívhez hasonlóan az agy oxigénellátásának zavaraiiban (például agyvérzésben) is nagymértékben segíthetik a károsodott szövet regenerációját (Brown and Sharp, 1999; Yenari és mtsai., 1998). Érdekes munkamegosztást lehet megfigyelni az agyszövetben: az idegsejteknel sokkal ellenállóbb gliasejtek jóval nagyobb mennyiségben szintetizálják a stresszfehérjéket, és ezek axonális transzporttal kerülnek át az idegsejtekbe (Kinouchi és mtsai., 1993). Az agyinfarktus helyét héjszerűen veszik körül a különböző mértékben károsodott sejtek: a közvetlenül érintkező sejtekben a Hsp70 termelődése figyelhető meg, kicsit távolabb inkább Grp-k keletkeznek, míg a károsodás közvetlen helyétől még távolabb eső sejtekben a kisméretű hősokkfehérjék szaporodnak fel (Latchman, 1999).

Amikor a szervezetet előnti a fertőzés

A kórházi halálozások nem lebecsülendő részét (egyedül az Amerikai Egyesült Államokban hozzávetőleg évi százezer esetet) a fertőzések által okozott általános szövethárosodás, és az ennek hatására kialakult sokkos állapot okozza. Mindez nem okvetlenül arra utal, hogy *Semmelweis Ignácot* másfél évszázaddal a halála után vissza kellene hívni szemináriumokat tartani a klórmoszes kézmosások fertőtlenítő hatása tárgyában, hanem inkább arra, hogy a baktériumok és más fertőző ágensek hihetetlenül találékonyak a megtámadott organizmus térdre kényszerítésében. Számos baktérium a szervezet invázióját elősegítő sejtfalanyagot, úgynevezett endotoxint tartalmaz (Bertók, 1997). Nagyobb mennyiségű endotoxin hatására a szervezet általános gyulladáshoz vezet (akut fázis-reakciót) produkál, amely segíti a sejteket és az egész szervezetet a védekezésben, de abban az esetben, ha túlszalad, halálhoz is vezethet. A stresszfehérjék magasabb szintje mérsékli a gyulladáshoz vezető választ, és ezáltal növeli a szervezet túlélésének az esélyét. A gyulladásmérséklés konkrét mechanizmusai sokfélék lehetnek: a stresszfehérjék fegyvertára a véráramba jutó citokinek szintézisének gátlásától, a szervezet apoptózist okozó egyik haláljeléhez, a tumor nekrozis faktorhoz történő közvetlen kötődésen át a kiváltott apoptózis gátlásáig terjedhet (Jäättelä, 1999 és 4.9. fejezet). A stresszfehérjék által a fertőzésekben nyújtott védelem egyik kiemelten fontos eleme a bélhámsejtek védelme az elhalás ellen (Xu és mtsai., 1996). Könnyen elképzelhető ugyanis, mit okoz, ha a „belünk kilukad”, és a szervezetet előntik a bélbaktériumok, az endotoxin és mindama béltartalom, aminek a köznapi szóhasználat egyszerűbb, de a nyomtatásban kevésbé ildomos nevet is szokott adni.

Stresszfehérjék és más károsodások

Valószínűleg bármilyen egyéb káros hatás, amelyet a könyv írója vagy a kedves olvasó el tud képzelni, jó terepet kínál arra, hogy a stresszfehérjék segítsék az érintett sejtek túlélését. Csak néhány további példa a gombamód szaporodó irodalomból válogatva: vesekárosodások, tüdő- és májkárosodások, bélgyulladás, a szem látóbíborának károsodásai (ha ezt Petőfi tudta volna, amikor egy 19. századi napfogyatkozás idején a Napba nézett, bizonyára több alkoholt iszik előtte), ultraibolya fény által okozott bőrkárosodás (szauna után kisebb a leégésveszély, persze a leégést nem átvitt értelemben használva) és folytathatnám.

Hogyan tudjuk a stresszfehérjék védőhatását felerősíteni?

Ha ilyen hasznosak a stresszfehérjék szinte minden gondunkban-bajunkban, és azon belül is a civilizált (?) ember halálozásában kiemelt szerepet játszó szívinfarktuszban és agyvérzésben, kézenfekvő a kérdés: hogyan lehetne elérni azt, hogy a stresszfehérjék gombnyomásra termelődjenek? A szervezet természetesen maga is gondoskodik erről. Olyan mindennapos jelenség, mint például a láz, valószínűleg azért nem szelektálódott ki az evolúció során, mert mesterséges hőszokk előidézésével a stresszfehérjék szintézisét váltja ki. A gyakran használatos gyógyszerek közül például az aszpirin segíti a stresszfehérjék termelődését (Jurivich és mtsai., 1992).



Gyógyszereink hasznáról. Meglehetősen maliciózan fogalmazva azt is mondhatnám, hogy szinte mindegy, hogy milyen gyógyszert eszünk, hiszen minden mérgezés többé vagy kevésbé a stresszfehérjék indukciójához vezet. Ezzel a gondolatmenettel azonban a gyógyszerek néha elég tetemes mellékhatásai feletti megrökönyödésünket („Kérdezze meg orvosát, gyóntatóját!”) is némileg mérsékelni lehet. Egy kis mérgezés a gyógyszer főhatása mellett nem is olyan ártalmas, mint hinnénk, hiszen a gyógyulásban nagymértékben segítő stresszfehérjék termelődését segíti elő.

A 6.3. fejezetben részletesebben leírt, magyar fejlesztésű gyógyszerjelölt, a *Bimoclomol* (Vigh és mtsai., 1997) is a stresszfehérjék fokozott szintézise révén fejti ki hatását. Mindennek ellenére, sajnos mind a mai napig nincs olyan csodapirula, amelyet bekapva például a szívünkben megnőne a stresszfehérjék által biztosított védőkapacitás. Bár a stresszfehérjék indukciójában szerepet játszó, az 5.3. fejezetben már bemutatott hősoikkfaktornak és szabályozófehérjéinek mind több variánsát fedezik fel (Morimoto, 1999), sajnos a védőmechanizmus általánossága miatt, a stresszfehérjék szelektív aktivizálására kicsi a remény. Mindazonáltal a stresszfehérjék általános indukciója is igen hatékony kiegészítője lehet más terápiás beavatkozásoknak. A szaunázás, az orvosi felügyelet melletti hipertermia, illetve a későbbiekben esetleg gyógyszerek hatására bekövetkező stresszfehérje-aktiváció különösen krónikus betegségekben, mint például a 6.3. fejezetben ismertetendő cukorbetegség, lehet nagyon áldásos hatású (Csermely, 2000). Mielőtt azonban a kedves olvasó a könyv következő fejezetét egy szaunában olvasná tovább, figyelmeztetnem kell, hogy a stresszfehérjék (például a Hsp70) túlzottan nagy mennyisége a sejtjeinkre mérgező is lehet (Feder és mtsai., 1992). Sajnos a cukorbetegknél és más rászorulóknál a gyakori szívpanaszok és más korlátozó tényezők az előző elméleti megfontolás mellett még nagyobb elővigyázatosságot tanácsolnak a többletstressz nyakló nélküli alkalmazásával szemben.



Miért baj, ha túl sok a stresszfehérje?

6.2. Stresszfehérjék indukciója a szervátültetés során

A stresszfehérjék általános védőfunkciója még a halál után is érvényesül (legalábbis egy ideig). Ha az élő szervezetben beálló kisebb-nagyobb galibák ilyen nagy károsodásokhoz vezethetnek, mint amelyeket az előző fejezetben ismertettem, gondoljunk csak bele, hogy egy kivágott szerv mit élhet át, amíg újra beültetésre kerül. Fokozza a bajt, ha az átültetésre kiszemelt szerv olyan (például a szív), amelyet csak a donor halála után célszerű és ildomos eltávolítani. Ráadásul a szerv kálváriája a beültetéssel messze nem fejeződik be, hanem szinte elkezdődik. Beültetés után jön ugyanis a ma már így-úgy mérsékelt, de azért jelenlévő immunválasz. A szervezet óriási erőket mozgósít az idegen anyag kilökésére. Az immunrendszernek ugyanis (dacára annak, hogy számos ponton az idegrendszerre hasonlít) sajnos nem lehet eligazítást tartani, hogy mi az, amit nem célszerű idegennek tartania.

Messze nem ártalmas tehát, ha a beültetendő szerv strapabíróbb a szokásosnál. Mivel a donor az esetek jelentős részében az élete vége felé még nincs tisztában

azzal, hogy ő igen hamar donorrá fog válni, a szerv felkészítése a kivágás utánra marad. Így a transzplantációs szakemberek ma már nemcsak hűtik a szívet, vesét, tüdőt, bőrt és a többieket, hanem egyre gyakrabban előtte kicsit főzik is, hogy a stresszfehérjék indukciója megvalósulhasson (Jäättelä, 1999; Perdrizet és mtsai., 1993). (Főzés alatt természetesen igen kontrollált körülmények közötti enyhe melegítést kell érteni.) Az eredmények látványosak: a kilökődés esélye sokkal kisebb, és a beültetett szerv a teljes funkcióját is jóval hamarabb nyeri vissza.



6.3. Segítség a cukorbetegségben

Ha valahol tartósan nagy szükség van a fehérjék fokozott védelmére, akkor az korunk civilizációs népbetegsége, a cukorbetegség (Csermely, 2000). A cukorbetegségben a magas vércukorszint miatt a fehérjékre kovalens kötéssel cukormolekulák kötődnek, azaz a fehérje glikálódik. A glikáció további kémiai átalakulásokat hoz magával, amelyek a legtöbb esetben a fehérje eredeti aktivitásának elvesztéséhez vezetnek. A teljesen inaktív fehérjéket le kell bontani, de sajnos cukorbetegségben a bontórendszerek is károsodnak, így a sejtekben egyre halmozódik a szemét. A csak félig tönkrement fehérjék helyrehozását és a halmozódó szemét elkülönítését ugyancsak a stresszfehérjék végzik. *Duda Ernő* szavaival élve a stresszfehérjéket a rengeteg „fehérjepáciens” könnyen eltömheti, így különös jelentősége van annak, hogy mekkora az a stresszfehérje sereg, amelyik a fehérje-helyrehozásra készen áll. A veszprémi székhelyű BioRex vállalat által kifejlesztett, jelenleg klinikai kipróbálás alatt álló gyógyszerjelölt, a Bimoclomol (Vígh és mtsai., 1997) hatásmechanizmusában igen fontos elem, hogy fokozza a stresszfehérjék szintézisét azokban az sejtekben, amelyek amúgy is stresszhatásnak vannak kitéve. Ezáltal a szer az eddigi vizsgálatok alapján képes a cukorbetegség káros következményeinek, így például a vakságot okozó látóbíbor-elhalás vagy az akár végtagamputációhoz, szívinfarktushoz, veseelégtelenséghez vagy csökkent sebgyógyuláshoz vezető beidegzési és vérellátási zavarok mérséklésére is.

6.4. Stresszfehérjék az öregségben, avagy a hosszú élet titkai

Nemcsak az emberek, hanem a fehérjék között is vannak matuzsálemek. Ahogy az ember öregszik, elhagyogat egyet mást útközben (haját, fogat, éleslátást, memóriát, kinek milyen géneket és életpályát hozott a sors). A fehérjéknél a

folyamat fordított: mire a fehérje megvénül, rengeteg olyan alkatrésze lesz, amiről kiskorában még csak nem is álmodott. Cukorrészek kerülnek a lizin oldalláncokra (erről a glikációnak nevezett folyamatról már az előző fejezetben, a cukorbetegségnél már szó esett), oxidálódnak a metioninok, sőt még az is gyakorta előfordul, hogy a peptidlánc folytatása egyszer csak átvándorol az aszparagin és a glutamin első szénatomjáról az oldallánc végén lévő szénatomra, és úgynevezett izopeptid kötés alakul ki. A fehérje azonban mindeme gyarapodásnak nem örül. Ahogy gyűlik a fehérjében az „idegen anyag”, úgy válik az eredeti szerkezete egyre labilisabbá. Ha az átalakulások egy bizonyos ponton túljutnak, akkor a fehérje szerkezetében maradandó változások történnek. Bizonyos fehérjék egészen jól tűrik a szerkezetük öregedéssel járó változásait, mások viszont rövid időn belül elvesztik eredeti funkciójukat. Van olyan is, amelyik amellet, hogy használhatatlan lesz, más fehérjékkel aggregálni kezd és így az egész sejt számára komoly veszélyforrást jelent (Sóti és Csermely, 2000).



Mi szabja meg, hogy melyik fehérje ellenállóbb az öregedéssel szemben?

A szervezet öregedő fehérjéit nem a szeretetotthonok, hanem a lebontóenzimek várják. A 3. fejezetben említett módon először a szemétszedő stresszfehérjék gyűjtik be őket. Ha már sikeresen aggregáltak, a szétcincálók birkóznak velük, a huzigálók meg megpróbálják helyrepopozni a kifordult fehérjerészeket. Az ide-oda rakódott toldalékok miatt mindeme igyekezet egy idős fehérjénél legtöbbször reménytelen, sziszifuszi feladat. Így az egyedüli megoldás a lebontás marad. Ahogy azonban a fehérjék otthona, a sejt, illetve a sejtet hordozó szervezet is egyre öregebbé válik, e mechanizmusnak minden eleme kopni kezd. Az idősödő mitokondrium egyre „lötyögösebb” lesz, egyre több oxigén szabadgyököt termel, az idősödő sejt viszont egyre kevésbé tud védekezni az oxidáció ellen. Így a fehérjék egyre jobban oxidálódnak. Egyre aktívabb és egyre több stresszfehérje kellene, ugyanakkor a stresszfehérjék is oxidálódni kezdenek, ők is elromlanak, ráadásul az új stresszfehérjék szintézise is akadozik (képzeljünk el egy kórházat, ahol nemcsak minden beteg, hanem minden orvos, minden nővér és minden műtősfű is kilencven év feletti...). A katasztrófa csúcsa, hogy a lebontás sem működik rendesen, sőt, a még épen maradt bontóenzimeket a keresztkötött, ezer helyen módosított fehérjék rendre eltömik (Sóti és Csermely, 2000).



Mitől romlik el a stresszfehérjék szintézise az öregedés során?

A stresszfehérjék indukciójának az idősödő szervezetben tapasztalható zavara gyakorta a sejtek elhalásához vezet, mivel a csökkent mértékben jelenlévő és károsodott stresszfehérjék nem képesek a külső káros hatások által aktivált programozott sejthalált leállítani. Mindez osztódó sejtekben nem lenne akkora baj. Csakhogy idősödő szervezetben a sejtosztódás sebessége is lelassul, nem is beszélve az olyan sejtekről (például az idegsejtekről), amelyek amúgy is csak rendkívüli körülmények között képesek bármilyen osztódásra. A helyzet

tehát meglehetősen gyászos. Mit lehet tenni? Adhatnak-e valamilyen tanácsot a stresszfehérjék életünk meghosszabbítására?

A meglepő válasz az, hogy igen. Az élettartammal kapcsolatos kísérleteket a kutatók azon érthető igényétől hajtva, hogy saját maguk is megszeretnék még élni a kísérlet végét, és lehetőleg még az eredmények értékelését is ép elméjük birtokában kívánják elvégezni, általában rövidéletű fajokon szokták végezni. Így egyelőre csak az embertől távoleső szervezetekben – mint például az élesztő, az ecetmuslica vagy a *C. elegans* nevű féreg – vannak arra adataink, hogy a stresszfehérjék fokozott szintézise, illetve jelenléte segíti-e a túlélést. A válasz egészen egyértelmű igen (Lithgow és Kirkwood, 1996; Söti és Csermely, 2000; Tatar és mtsai., 1997). Minél többször, minél változatosabban tudja az egyed indukálni a stresszfehérjéit, annál hosszabb életre számíthat. A jelenségben bizonyára a már többször említett stressztolerancia is szerepet játszik: egy későbbi, nagyobb káros hatást sokkal könnyebben túléli a szervezet akkor, ha korábban egy kisebb káros hatás a védelmi apparátusát már mozgósította. Noha egérnél, patkánynál közelebbi rokonnál kísérleti eredmények nem ismeretesek, megszívlelendőnek látszik a tanács: ne ülünk a fenekünkön egész nap, próbáljuk meg úgy berendezni életünket, hogy nem túlterhelő, kellemes stressz érjen itt-ott bennünket, mert így mozgósítjuk a fehérjéinket védő rendszereket és – ki tudja? – még talán hosszabb ideig is tehetjük ugyanezt.

Van azonban itt még valami. Sem a túlbuzgás nem hasznos, sem az, ha úgy véljük: az a kellemes stresszek netovábbja, ha naponta két-három étlapot végigzabálunk a konyhafőnök kedvencétől a korhelylevesig bezárólag. Ha patkányok lennénk, és csak feleannyit ennénk, mint amennyitől jóllaknánk, átlagosan másfélszer olyan hosszú élettartamra számíthatnánk (Sohal és Weindruch, 1996). Ezzel összhangban a diétára fogott, idős patkányok sokkal durvább stresszhatást is túlélték, mint telihású társaik (Hall és mtsai., 2000). Noha emberben valószínűleg az összefüggés nem ennyire egyértelmű, azért gondoljunk csak bele: nem megérné, ha a hosszú évszázadok éhezését bepótlandó a zabálásba belefeledkezett nyugati társadalmak egy kicsit visszafognák magukat? Kevesebb tápanyag kisebb mitokondriális oxidációval jár, kevesebb oxigénből kevesebb szabadgyök lesz, azaz kevesebb fehérjénk megy tönkre és később következik be az a fejezet elején leírt állapot, amikor sejteinket előnti az agyonoxidált szemét. (Hogy most Afrika etetéséről ne essen szó.)

6.5. Amikor a minőségi kontroll túlzásba megy

Az endoplazmatikus retikulum a 4.6. fejezetben részletezett minőségi kontrolljának káros hatására az eddigiekben legjobban ismert példa a *cisztás fibrózis*. Ebben az örökletes betegségben a tüdőhám sejteinek kloridcsatornáját kódoló génszakasz mutációt szenved. A kloridcsatorna olyan trükkös tekeredésű fehérje, hogy még az ép változatának is csak a negyede éli túl a szigorú minőségellenőrzést. A mutáns kloridcsatorna úgy-ahogy működőképes, de még a szokottnál is nehezebben tekeredő fehérjéjét az endoplazmatikus retikulum teljes egészében selejtnek nyilvánítja, és lebontásra a proteaszómának adja át. A betegekben a tüdőhámsejtek hibás működése a légúti váladék besűrűsödéséhez vezet, ami a fertőzésekre való fokozott

hajlamot és súlyos légzési nehézségeket okoz (Aridor és Balch, 1999; Kaufman, 1999; Smith és mtsai., 1998).

Enyhébb kimenetelű tüdőkárosodáshoz, krónikus hörgőgyulladásához vezet egy proteáz gátló (az $\alpha 1$ -antitripszin) körülbelül minden kétezredik élveszületést érintő mutációja, ahol ezt a fehérjét vonja ki a forgalomból a stresszfehérjék túlbuzgó ellenőrző rendszere. Az $\alpha 1$ -antitripszin hiány májsugorodást és májrákot is okozhat az érintett betegek egy részénél. A lipidanyagcserével és a fehérjék glikozilációjával kapcsolatos betegségek egy része is arra vezethető vissza, hogy egy-egy kulcsfontosságú fehérje az ellenőrző rendszeren fennakad. Ha ez csak részleges, a szervezet a szintetikus (és az ellenőrző) apparátus felduzzasztásával néha fel tudja pumpálni a továbbjutó fehérje abszolút mennyiségét a szükséges szintre. Ez a helyzet a pajzsmirigy hormont kötő tireoglobulin bizonyos hibáinál, amikor az endoplazmatikus retikulum növekedése a pajzsmirigy nagyobbodásához, golyvához vezet (Aridor és Balch, 1999; Kaufman, 1999).



Antichaperonok III. A 3.1. és a 3.4. fejezetekben említett antichaperon hatásához hasonló, az az előzőekben leírt folyamat, amikor az endoplazmatikus retikulum chaperonkomplexe túlbuzgóvá válik, és még azokat a fehérjéket is kiszűri, visszatartja, amelyek egyébként valamennyire funkcióképesek maradnának. Az antichaperon hatásra a következő fejezetben, a prionok kapcsán még mutatok példát.

Ha a fehérjék felszaporodása az endoplazmatikus retikulumban a fehérjelebontás zavarával is párosul vagy a félretekeredett mutáns fehérje részben vagy egészben lebonthatatlan, a helyzet sokkal súlyosabb. Ilyenkor a felgyűlő fehérje nagy aggreszómákat formál a sejten belül, amelyek rövid időn belül gyulladáshoz vezető folyamatokat és sejtpusztulást okoznak (Aridor és Balch, 1999). Még tragikusabb következményekhez vezet, ha az elpusztuló sejtet nem lehet pótolni, mivel egyedi, és osztódásra szinte képtelen sejtek egyike volt. Ez történik akkor, ha a felgyűlő aggregátumok az idegsejtben raktározódnak. Az ilyen, neurodegeneratív betegséget okozó folyamatokkal a következő fejezetben foglalkozom részletesen.

A gyógyítás lehetőségei

Az endoplazmatikus retikulum stresszfehérjéi túlzott működésének ellensúlyozására újabban *kémiai chaperonokat* próbálnak alkalmazni (Welch és Brown, 1996; Burrows és mtsai., 2000). Mint ahogy arról már a 3. fejezetben említést tettem, a kémiai chaperonok olyan kis molekulák (cukrok, lipidek, enyhe mosószerhatású anyagok), amelyek képesek a fehérjék tekredésének elősegítésére. Ha megfelelően nagy koncentrációban vannak jelen, a kémiai chaperonok le tudják szorítani a stresszfehérjéket a tekerendő fehérjéről (sok lúd disznót győz), és átveszik az elrontott fehérje további javítgatását. A legtöbb esetben a tekerendő fehérje úgy-ahogy működőképes maradna, ha a minőségi kontroll nem látta benne selejtet és nem szűrné ki. Így a kémiai chaperonok kicsit kisebb hatásfokú tekerési segítsége életmentő, mert lehetővé teszi azt, hogy a kissé sérült, de azért még működőképes fehérje végleges felhasználási helyére, a plazmamembránba vagy a sejtközötti térbe kijusson.

Ha a félig betekert fehérje, mint például a cisztás fibrózis kloridcsatornája úgy-ahogy működőképes, a lebontás gátlásával is segíteni lehet a fehérje nagyobb részének eljutását rendeltetési helyére. Emiatt a proteaszóma-gátlók orvostudományi jelentősége egyre nő. (A dolgot kissé körülményessé teszi az, hogy a gátlószert csak lokálisan lehet alkalmazni, ugyanis tablettá formájában halálos következményekkel járna.)

6.6. Neurodegeneratív betegségek: Alzheimer-kór, Parkinson-kór, prion és társaik

A selejtes fehérjéknek az előzőekben említett feldúsulása különösen veszélyes abban a szövetben, az idegszövetben, amelynek a sejtjei csak igen korlátozott mértékben képesek a megújulásra. Az agyban és az idegrendszer többi részében lerakódó fehérjezárványok az idegsejtek pusztulását okozzák, és igen komoly betegségeket váltanak ki.

Alzheimer-kór

Az Alzheimer-kór legrégebben megismert fehérjezárványai az amiloid-plakkok, amelyek a β -amiloid fehérje szabályos szerkezetű sejtén kívüli aggregátumai. Az ismeretlen funkciójú β -amiloid fehérje normális esetben a sejt plazmamembránjában helyezkedik el. Abban az esetben, ha a fehérje első 42-43 aminosava azalatt lehasad, amíg a fehérje keresztülhalad az endoplazmatikus retikulumon, az így keletkező $A\beta_{1-42/43}$ fragmens aggregálni kezd (Aridor és Balch, 1999; Smith és mtsai., 1998). A β -amiloid érése során az első 40 aminosav lehasítására is sor kerülhet, ilyenkor az aggregátumok a szekréciós lánc egy későbbi elemében, a Golgi-rendszerben keletkeznek (Kaufman, 1999). A masszív aggregáció gyulladáshoz vezet, amely kiterjedt oxidatív károsodást okoz a környező neuronokban (Markesbery és Carney, 1999). Az amiloid plakkban a β -amiloid fehérjén kívül más fehérjék is megtalálhatóak, például az α -szinuklein. Az Alzheimer-kór másik főbb fehérjezárványa a neurofibrilláris gubancnak nevezett, sejtben belüli, döntően a mikrotubulusokhoz kötődő, „taunak” nevezett fehérjéből álló aggregátum.

Újabb adatok szerint *in vitro* kísérletekben nagyon sok fehérje képes arra, hogy β -amiloidszerű aggregátumokat képezzen. Ha ilyen sok a potenciális β -amiloid veszélyforrás, miért nem törvényszerű, hogy mindannyian húszévesen hülyüljünk el? (Persze ha az ember körülnéz vagy jobban magába mélyed, ebben azért nem lehet olyan biztos...) A β -amiloid aggregátumban a két fehérjeszál közötti hidrogénhid kötések a szálak peptidkötései között alakulnak ki. Ugyanakkor a 2.1. fejezetben láthattuk, hogy minden másodlagos fehérjeszerkezeti elemében a peptidkötések az aminosav-oldalláncok által rejtetten helyezkednek el. A peptidkötéseket el kell rejteni. A globuláris fehérjék a peptidkötések rejtegetésével védetté válnak mind a proteázokkal, mind az amiloidszerű aggregációval szemben (Dobson, 1999). A fehérjék tekeredésének szabályai mentenek meg minket a korai elbutulástól. Így már érthetővé válik, hogy miért segítheti elő a β -amiloid első 40-43 aminosavának lehasadása az amiloid-plakk képződését. A kisebb peptidek általában nem tekerednek, mivel túl kicsik ahhoz, hogy stabil térszerkezetük legyen. Így a keletkező 40-43 aminosavas peptidnek sincs olyan másodlagos vagy

harmadlagos szerkezete, ahol a peptidkötések elrejtésére sor kerülhetne. Az is valószínű, hogy a stresszfehérjék állandó szűrő- és javítószerepe (lásd a szemétszedés fontosságáról a 3.1. fejezetben mondottakat) igen lényeges oka annak, hogy miért nem gyakoribbak az amiloidszerű zárványokat produkáló betegségek. Ugyanakkor az amiloid peptid gátolja a proteaszóma működését, ami hozzájárulhat a peptid masszív feldúsulásához (Kaytor és Warren, 1999).

Parkinson-kór

Újabb eredmények szerint az Alzheimer-kór mellett a Parkinson-kórban is fehérjeaggregációs zavarok lépnek fel. A degenerálódó idegsejtekben mindkét betegségben kimutathatóak a Lewy-testnek nevezett zárványok. Parkinson-kórban az aggregátumok többsége α -szinuklein, amely a genetikusan öröklődő Parkinson-kóros esetekben az aggregációra inkább hajlamos, α -hélix helyett β -redős lemezt képző, mutáns formában fordul elő (Narhi és mtsai., 1999). Érdekes megfigyelés, hogy rézionok jelenlétében az α -szinuklein aggregációjának sebessége a sokszorosára nő (Paik és mtsai., 1999). A „diffúz Lewy-test betegség” elnevezésű kórkép „átmenet” az Alzheimer-kór és a Parkinson-kór között, mivel itt a Lewy-testek mellett az Alzheimer-kórra jellemző neurofibrilláris gubancok is előfordulnak.

Huntington-kór, Wilson-kór és Alexander-kór

Az elbutuláshoz vezető Huntington-kórban vagy a bénulást okozó spinocerebelláris ataxiában az aggregálódó fehérjék poliglutamin részletet hordoznak. A poliglutamin úgy keletkezik, hogy egy pontosan nem ismert mechanizmussal az adott fehérjét kódoló génben a kezdeti 6-39 glutamint kódoló nukleotid-tripletek lassan szaporodni kezdenek. Ha az egymást követő glutaminok mennyisége negyven körüli (az előforduló minimum és maximum értékeket tekintve 21-200) lesz, a keletkező fehérje aggregációra hajlamossá válik. Az aggregátumokban általában a fehérjék ubikvitinilált formában fordulnak elő (Kaytor és Warren, 1999; Smith és mtsai., 1998).



Hogyan kezd szaporodni a poliglutamin?

A rézionok feldúsulásával járó Wilson-kórt a réztranszportért felelős fehérje tekeredési zavara okozza. A Wilson-kórban az idegsejtek rézmérgezése neurodegenerációhoz vezet, amelyet májcirrózis is kísér (Plempér és Wolf, 1999). A rézionoknak az α -szinukleinhez, valamint a későbbiekben ismertető prionokhoz kötődése ismeretében nem kizárt, hogy a Wilson-kórban felszaporodó rézionok az aggregáció előmozdításával közvetlenül is hozzájárulnak a fehérjezárványok kialakulásához. Az eddigiekben említett betegségek mellett az Alexander-kór számos szimptomája is fehérjeaggregátumok keletkezésére vezethető vissza. Az Alexander-kórban az idegsejtek körülvevő asztrocitákban alakulnak ki a Rosenthal rostoknak nevezett fehérjezárványok. Hasonló aggregátumok figyelhetők meg némely toxikus eredetű kórképben más szervekben is: példaként az alkoholistáknál jelentkező májsorvadás Mallory-testjét említve (Mayer és mtsai., 1991). Az eddigi, és a felgyorsult kutatások nyomán egyre növekvő felsorolásból látható,

hogy mekkora zavarok keletkezhetnek a fehérjék túlburjánzó aggregációja nyomán. Milyen segítséget nyújthatnak ezeknek a káros állapotoknak a visszaszorításában a stressz fehérjék?



Miért ilyen fontos a réz az aggregátumok kialakulásában?

A stresszfehérjék szerepe az idegsejtek védelmében

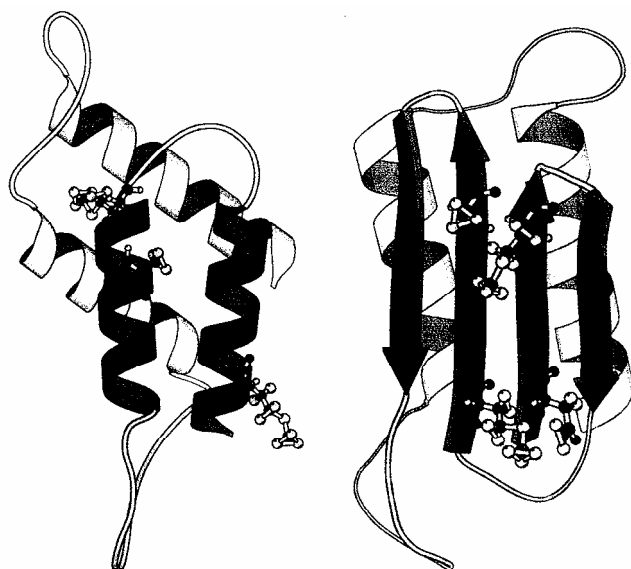
A stresszfehérjék heroikus küzdelméről árulkodik, hogy a keletkező fehérjezárványokban a lebontásra (hiábavaló módon) megjelölő ubiquitin mellett az általában kisméretű hősokkfehérjék, valamint a Hsp70- és a Hsp90-család tagjai is megtalálhatók (Cummings és mtsai., 1998; Iwaki és mtsai., 1989; Söti és Csermely, 2000). A huzigáló típusú Hsp70 stresszfehérje endoplazmatikus retikulumbeli homológja nagy mennyiségben fordult elő olyan neuronokban, amelyek sikeresen túléltek az Alzheimer-típusú elhalást okozó fehérjeaggregációt (Hamos és mtsai., 1991). A stresszfehérjék direkt védőszerpéről árulkodnak azok a megfigyelések, amelyek ecetmuslicák agyacskáiban túltermeltetett Hsp70-nek vagy más stresszfehérjéknek a poliglutamin által okozott elhülyülést gátló hatásáról számolnak be (Warrick és mtsai., 1999; Kazemi-Esfarjani és Benzer, 2000).

Prionok

A selejtes fehérjék (így az előzőekben említett amiloid vagy poliglutamin fehérjék) nemcsak azért dúsulnak fel az agyban, mert a javításukért vagy a lebontásukért felelős mechanizmusok meghibásodtak, hanem azért is, mert olyan szerkezetű fehérje áll elő, amely még a teljesen ép fehérjelebontó mechanizmusoknak is ellenáll. Ennek az „elpusztíthatatlan” fehérjének a szivacsos agylágyulást (birkában: sűrűlőkört; emberben: kurut, Creutzfeldt-Jakob-kört, Gerstmann-Sträussler-Scheinker szindrómát vagy fatális familiáris álmatlanságot) okozó prionfehérje egy igen közismert példája. A prion elnevezés a betegség kórokozójának sajátságaiból – savval, formalinnal, nukleáz- és proteázkezeléssel szemben ellenálló részecske – fakad, amely igen sok kísérlet után arra engedett következtetni, hogy a kórokozó minden bizonnyal csak fehérje (protein only = prion) lehet. Mint később részletezem, mai ismereteink szerint elképzelhető, hogy a fehérje mellett a ténylegesen aktív forma lipidet vagy cukrot is tartalmaz, de DNS és RNS tartalma nincs, így ha esetleg nem is a prion, de a mopri elnevezés (mostly protein) illik rá.

A prionfehérje normális, α -hélixeket tartalmazó állapotában mindannyiunk agyában megtalálható. A prionok olyan 28-30 kDa-os glikoproteinek, amelyek a sejt felszínén, a plazmamembrán jelátvitelre és koleszterin tárolásra szakosodott speciális részleteiben, a kaveolákban helyezkednek el. A membránhoz egy foszfatidil-inozitol-glikán nevű, lipidből és cukorkomponensekből álló nyélen keresztül kapcsolódnak. A fehérje réztartalmú, és az oxigén szabadgyököket ártalmatlanító szuperoxid dizmutáz aktivitású (Brown és mtsai., 1999). Minden bizonnyal ez az oxidáció elleni védőhatást feltételező enzimaktivitás is hozzájárulhat ahhoz, hogy a normális prionok fontos szerepet töltenek be az idegsejtek elhalásának gátlásában

(Kuwahara és mtsai, 1999). Bizonyos mutációk hatására, illetve egy igen lassú folyamatban minden különleges külső hatás nélkül is az egészséges prionfehérje szerkezetet vált, és kialakul belőle a β -redős lemez szerkezetű, beteg prionfehérje (13. ábra; Prusiner, 1996). A beteg prion proteázrezisztens, azaz ellenáll a proteolitikus hasítással szemben. Az átalakulást az enyhén savas közeg és a prion diszulfidhídjának redukciója, azaz egy lizozómális lebontásra előkészítő lépés, felgyorsítja (Jackson és mtsai., 1999). A beteg prionok megjelenéséhez vezet az is, ha a rézionok mangánra cserélődnek (Brown és mtsai., 2000).



13. ábra. A prion egészséges (a) és beteg (b) formája

Az egészséges prion két α -hélixe a beteg prionban β -redős lemezzé alakul át (Prusiner, 1996 nyomán)



Mi a prion „normális” feladata?

Ami miatt a prionok oly rettegettekké váltak, és ami miatt címlapsztori (és eddig két Nobel-díj: a magyar származású *Daniel Gajdusek* és *Stanley Prusiner*) lett belőlük és társaikból, az az a különleges tulajdonságuk, hogy ha a beteg prionfehérje olyan közegbe kerül, ahol egészséges prionfehérjék vannak, az előzőekben ismertetett igen lassú α -hélix \rightarrow β -redős lemez átalakulást katalizálni tudja (Csermely és Somogyi, 1992). A beteg prionoknak az egészséges prionokat „fertőző” hatása kémcsökísérletekben nehezen reprodukálható. Ez arra enged következtetni, hogy a beteg prionokhoz valamilyen, a hatásukhoz szükséges, de eddig még nem felderített molekula (cukor vagy inkább lipid komponens) is kapcsolódik. Ezt az elképzelést támasztja alá az is, hogy membránok jelenlétében a prionfehérje rendezettebb szerkezetet vesz fel (Morillas és mtsai., 1999). A beteg, β -redős lemez szerkezetű prionfehérjék szinte lebonthatatlanok, és egymással nagy kiterjedésű, amiloidszerű aggregátumokat képeznek (az egészséges prionok beteggé alakításának is ez az egyik oka). A beteg prionfehérje így egyfajta „szerkezeti bombaként” viselkedik, és szerkezeti memóriájával mindennemű

RNS/DNS nélkül egy roppantul káros tulajdonság átvitelét tudja megvalósítani (Liautard, 1991; Prusiner, 1996).



Antichaperonok IV. A beteg prionnak az egészségest átformáló hatása a 3.1., 3.4. és a 6.5. fejezetekben említett antichaperon hatáshoz hasonló kárt okoz. A beteg prion abban segít, hogy az egészséges prion stabilabb, beteg állapotba kerüljön. A prionok stabilizálódását elszenvedő ember vagy állat számára ez a természetes folyamat rövid időn belül végzetessé válik. Minden bizonnyal a pokolba vezető út is jószándékú chaperonokkal van kiköveve (néhány bálozó lányka is tudna erről mesélni, gondolom...).

Az emberi prionbetegségek egyike, a kuru, a pápua-új guineai törzsek kannibalizmusára vezethető vissza, ahol a vacsoraként felszolgált emberi agy gyakori elfogyasztásával került be a beteg prion a befogadó szervezetbe (Gajdusek és mtsai., 1966). A beteg prionokat a gyomor-bél traktus proteáz enzimeit nem tudják lebontani. Szerencsére a prionnak, mint minden fehérjének a bélhámsejtek membránján való keresztülfurakodása ritka esemény. Így a beteg prionok túlnyomó többsége a bélcsatornán végighaladva távozik. Annak a néhány beteg prionnak, amelyek bejutottak a véráramba, még a vér-agy gáton és a neuronok plazmamembránján is keresztül kell magukat küzdeni, ami megint csak nem egyszerű feladat. Minderre persze a lebontásuk nehézségei miatt van idejük. A beteg prionok annak csak „örülnek”, ha valaki szorgalmas kannibál, és lakomájából az agyat sem hagyja ki. Ilyenkor a várt megokosodás helyett korai és biztos elhülyülés következik be. (Néha esetleg mi is körbeszemplélhetnénk: hány okosodásváró pápua is szaladgál körülöttünk? Az sem árt persze, ha ilyenkor egy tükör is kézre esik...) Nyugati társadalmaink metakannibál hamburgerzabáló pápuái azonban fellélegezhetnek: az állati prionbetegségek átterjedését az emberre az állati prionok és az emberi prionok közötti különbségek igen megnehezítik. Az az évi 10-20 nagy-britanniai megbetegedés, amelyben a prionok szerepe bizonyított, olyan emberek esetében következett be, akik maguk is a normális prion egy mutáns, könnyebben aggregálni képes változatát hordozták.

Stresszfehérjék szerepe a prion-típusú betegségekben

A stresszfehérjéknek a prionszerű betegségek kifejlődésében játszott szerepére kerülőúton derült fény. Élesztőben és gombákban ugyanis három olyan fehérjecsalád is fellelhető, amelynek beteg szerkezetű tagjai az amiloidformáló („beteg prion”) hatást a szülő-sejtről az utód-sejtre bármilyen DNS-hez kötött információközvetítés nélkül át tudják vinni. Ezek a fehérjék néha a „beteg” állapotból az „egészséges” állapotba is visszalakulnak és így ténylegesen az alakjukban hordozott információ öröklődésének DNS-független módját valósítják meg. E három fehérje közül a PSI normális változata a transzlációs folyamatok befejezésében, az URE a nitrogénlebontásban, és a Het-S a különböző élesztőfajták egymástól való elkülönülésében játszik szerepet (Wickner és mtsai., 1999). Meglepetésre a PSI-ből keletkező amiloidszerű aggregátumok kifejlődéséhez a szétcincálók közé tartozó Hsp100 fehérje jelenléte szükségesnek bizonyult. Ugyanakkor a Hsp100 túlzott termelése megakadályozta az aggregátumok képződését. Érdekes módon attól függően, hogy a sokféle huzigáló-típusú Hsp70-ből melyiknek a mennyiségét növelték meg, a Hsp100 beteg PSI prionokat bontó hatását erősíteni és gyengíteni is

lehetett (Chernoff és mtsai., 1999; Lindquist, 1997). A Hsp100 és a huzigáló típusú Hsp60 segítségével kémcsőkísérletben az emberi prion egészséges formájának beteg prionná történő átalakulását is fel lehetett gyorsítani (DeBurman és mtsai., 1997), így ezekben a kísérletekben a másutt segítő szerepet betöltő dajkafehérjék antichaperonként viselkedtek. Priontermelő antichaperon tevékenységüket a biológiai fegyvereket gyártó anti-emberek foglalatosságához lehetne hasonlítani.



Van-e „károsodásmentes” példa a prionszerű öröklődésre?

Priongyógyítás

Az előzőekben említett Hsp100 túltermeltetés tulajdonképpen priongyógyszernek is tekinthető. Ugyanakkor az a nemrégiben megjelent cikk, amelyik a beteg emberi prionoknak elágazó láncú poliaminokkal kiváltott eltüntetéséről számol be (Supattapone és mtsai., 1999), nagyon hasonló gyógymódot alkalmaz, mint amikor a cisztás fibrózis egyik gyógymódjaként a korábban megismert módon kémiai chaperonokat (Welch és Brown, 1996) alkalmaztak. A poliamin-hatáshoz savas közeg kellett, ami az endoszómális-lizoszómális lebontórendszerek részvételét feltételezi a folyamatban.



Hogyan működhetnek a „mesterséges huzigálók”?

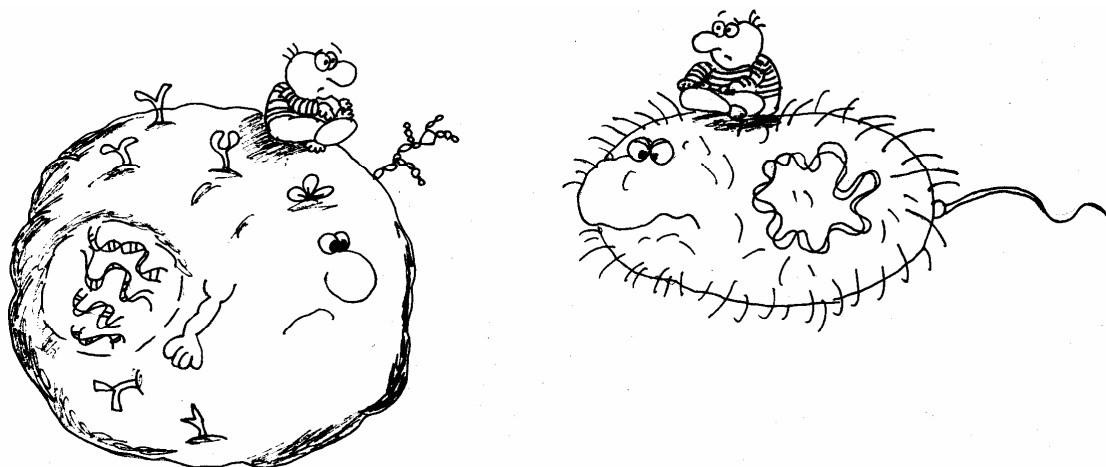
6.7. Immunitás – autoimmunitás – stresszfehérjék

Az utóbbi évtizedek egyik nagy meglepetése volt, amikor kiderült, hogy a fehérjetekero „szakembereknek” és ősi védelmi rendszernek tartott stresszfehérjék a sejtes felismerési folyamatokban, az immunrendszer működésében is döntő szerepet játszanak.

Stresszfehérjék a fertőzésekben

Amikor a baktériumok vagy más paraziták megfertőznek bennünket, nemcsak a mi szervezetünkben alakul ki stresszválasz, hanem a fertőző organizmus is iszonyatos stresszt él át. Szervezetünkben ugyanis teljesen mások az ionkoncentrációk, más a hőmérséklet, az élelemstruktúra, a közeg savassága, mint a parazita korábbi lakhelyén, és akkor még az immunrendszer üdvözléseként érkező szabadgyökökről és más ölümechanizmusokról nem is esett szó (Csermely és Somogyi, 1992). Nem meglepő tehát, hogy a fertőző baktérium stresszfehérjéket kezd termelni, és (pechére) néhány stresszfehérje a felszínére is kijut (Multhoff és Hightower, 1996; Srivastava és mtsai., 1998). Mint azt a 3. fejezetben már említettem, a stresszfehérjék aminosavsorrendje egyike az élővilág legváltozatlanabban továbböröklődő struktúráinak. Emiatt a szervezetet érő, szinte bármilyen (nem virális) fertőzés mintegy közös névjegyként mutatja be az őt ért stressz hatására keletkezett stresszfehérjéit. Nem csoda, hogy mindannyiunkban csecsemőletünk első néhány napjában már kialakul egy immunválasz erre az antigéncsomagra, amely egyre erősödve, a szervezet egyik legerősebb immunreakciójává növi ki magát. Ez az „első

csapás” nagyon hasznos a fertőzések kezdeti szakaszában, amikor az adott fertőzésre specifikus immunválasz még éppen hogy csak kialakulóban van. A fertőzések elleni frontvonal immunválasza azonban ellenünk is fordulhat (Cohen és Young, 1991). Az elpusztított baktériumokból felszabaduló stresszfehérjék az immunválasz hatékonyságát jellemző visszajelzést is jelenthetnek.



Autoimmun betegségek

Szervezetünk stresszfehérjéi legtöbbször sejtjeink belsejében, az immunrendszerrel védetten helyezkednek el. Sajnos azonban a bennünket támadó baktériumokhoz hasonlóan néha a mi sejtjeink is kiültetik az általuk frissen szintetizált stresszfehérjék egy részét a sejt felszínére. A „vigyázat beteg vagyok” feliratot viselő sejteket az immunrendszer aztán szinte ugyanazzal a hevességgel támadja meg, mint a betolakodó parazitákat (Csermely, 2000). Ez nem is baj akkor, ha valamilyen kiirtandó (például a hasonló módon fel nem ismerhető vírusokat termelő) sejt jelez ilyen módon. Azonban például a vérerek kanyarulatainál fellépő szakadatlan ütközés (amikor az érfalat fedő sejteket folyamatosan bombázzák a beléjük ütköző vörsejtek) is felszíni stresszfehérjék megjelenéséhez vezethet az érfal epitél sejtjein. A stresszfehérjék lokális immunválaszt okoznak, amely könnyen az érlelmeszesedés kezdeti lépése lehet (Wick és mtsai., 1995; Xu és mtsai, 1993). Mind a magas vérnyomás, mind pedig a magas koleszterinszint hatására oxidálódó lipoproteinek, amelyek az érlelmeszesedés esélyét számottevően megnövelik, stresszfehérje termelést okoznak. A halódó sejtek fokozott túléléséhez vezető stresszfehérje többlet a kezdődő érlelzárodás elleni gyulladáshoz vezető folyamatokat még tovább erősítheti (Latchman, 1999).



Hogyan jut ki a stresszfehérje a sejt felszínére? Mi tartja ott?

Az is előfordulhat, hogy a szervezet stresszfehérjéjétől különböző, más fehérjéinek bizonyos részletei hasonlítanak a bakteriális stresszfehérjék immunogén szakaszaihoz. Ha az egyébként igen sokrétű módon ellenőrzött immunválasz ilyen módon kisiklik, és a szervezet saját fehérjéi is beleesnek a csecsemőkortól nevelgetett, bakteriális stresszfehérje elleni domináns immuncsapás hatósugarába, viharos lefolyású autoimmun betegségek alakulhatnak ki. Csak néhány példát hozva: a stresszfehérjék elleni, kisiklott

immunválasz játszik döntő szerepet a lupus erythematosus (bőrfarkas, stresszfehérje-antigén: Hsp90), a rheumatoid arthritis (krónikus reumás ízületi gyulladás, stresszfehérje-antigén: Hsp70, megtámadott hasonló antigén: kollagén) és a hasnyálmirigy inzulintermelő β -sejtjeinek pusztulására visszavezethető, inzulinfüggő cukorbetegség (stresszfehérje-antigén: Hsp70, megtámadott hasonló antigén: glutaminsav dekarboxiláz) kialakulásában (Csermely, 2000). A multiple sclerosis-ban (krónikus ideggyulladásban) is bizonyítható volt a stresszfehérjék részvétele a megtámadott idegsejtek elleni immunválaszban (Latchman, 1999).

Az immunrendszer „el akarja foglalni magát”. Az autoimmun betegségek sokkal gyakoribbak és erősebbek lesznek akkor, ha kevés bakteriális fertőzés éri a szervezetet, és nem alakul ki a bakteriális stresszfehérjék ellen hatékony immunválasz (van Eden és mtsai., 1998). Nagyon hasznos tehát, ha mérsékelten koszosan élünk, nem mindent sikálunk patyolattisztára, és kisgyermekünket nem áztatjuk éjt nappá téve antibakteriális szappanfelhőben. A steril körülmények között nevelt gyermek lehet, hogy kevesebbszer lesz beteg, de „cserébe” felnőttkorában a sokkal több szenvedést okozó autoimmun betegségek áldozata lehet.

Stresszfehérje-oltás mint az autoimmun betegségek gyógyszere

A stresszfehérjék ellen termelődő autoantitestek kimutatása hatékony eljárás lehet számos autoimmun kórkép diagnosztikájában. Ha az előzőekben ismertetett, stresszfehérje-alapú autoimmun betegségekben a bakteriális stresszfehérjék megfelelő részleteinek, mint oltásnak a beadásával a szervezet immunválaszát ezekre a bakteriális antigénekre jobban fókuszáljuk, az autoimmun betegségben javulás érhető el (Elias és mtsai, 1991; Yang és Feige, 1992). Javulást okoz a stresszfehérje-oltás abban az esetben is, amikor az autoimmun betegség a bakteriális stresszfehérjék ellen kialakuló immunválasz gyengesége miatt erősödött meg (van Eden és mtsai., 1998). A bakteriális stresszfehérje elleni immunválasz arra is alkalmas lehet, hogy vakcinálások során a bakteriális stresszfehérjéket, illetve azok immunológiailag aktív részleteit mint immunválasz erősítő anyagokat, azaz mint adjuvánsokat használjuk.

6.8. A stresszfehérje mint rákgyógyszer

Távolról sem az a szándékom, hogy részvétet igyekezzek kelteni az olvasóban a tumorsejt iránt, de gondoljunk bele egy pillanatra a helyzetébe. Több, véletlenszerűen keletkezett mutáció révén elromlottak azok a szabályozó mechanizmusai, amelyek a normális (a környezet által kontrollált) növekedését biztosították. Emiatt örült tempójú osztódásba kezd. Mindent felzabál, ami a közelébe kerül, minden oxigént lenyel. E tevékenysége folytán az első néhány osztódást követően olyan amorf sejtömeget alakít ki, amelynek a mélyébe nem jut el a véráram, így a belső tumorsejtek éhezésre és fulladozásra (hipoxiára) kényszerítettek. Nem csoda, hogy a nagyobb tumorok közepe hamar döglődni kezd. Mivel a tumoros sejtekben a 4.9. fejezetben említett „elegáns”, becsomagolással járó programozott sejthalál is gátolt, a döglődés nekrozissal jár, amikor az elhalt tumorsejt kipukkad és környezetét szeméttel önti el. Mindehhez hozzájárulnak az immunrendszer támadásai az idegen anyag ellen. Kialakulásuk során elég sok stressz éri tehát a fejlődő tumorokat. A legtöbb

tumor már fejlődésének kezdeti szakaszában megadja magát és elhal. Sajnos akadnak azonban túlélők. Ezek az iszonyatos környezeti stressz miatt egy erőltetett, felgyorsított evolúción mennek keresztül és megtanulják, hogyan élhetik túl az ártalmakat: vérereket fejlesztenek ki, szóródással áttéteket, metasztázisokat képeznek, ezer és egy trükkel csapják be az immunrendszert. Ilyen mostoha élet során a tumorsejtek stresszfehérjéi minden bizonnyal létfontosságúak a túlélés szempontjából.

Stresszfehérjék a rákos sejtekben

Az előzőek ismeretében nem meglepő, hogy a stresszfehérjék szinte minden családjának fokozott termelődését kimutatták már rákos sejtekben (Sóti és Csermely, 1998). Számtalan olyan mechanizmus ismeretes, amellyel a stresszfehérjék segítik a rákos sejtek túlélését. A mutációk révén állandóan aktív jelátviteli utak jónéhány szereplőjét a Hsp90-rendszer készíti fel a működésre (4.3. fejezet). A felpörgetett sejtciklus számos elemét is ezek a stresszfehérjék aktiválják. A kisméretű hősokkfehérjék és a Hsp70 védik a tumorsejtet a magukat túldolgozó mitokondriumokból megszökő oxigén szabadgyökök ellen (3.4. fejezet). Az oxigén- és táplálékhiány által okozott, az előzőekben említett „csúnya”, széteséssel járó sejthalált, a nekrozist nagymértékben késleltetni tudják a tumorsejt stresszfehérjéi (Kabakov és Gabai, 1997). Sok esetben az immunrendszer támadásait, és az emiatt beinduló programozott sejthalált (4.9. fejezet) is a stresszfehérjék segítségével küzdik le a rákos sejtek. Egyre szaporodnak azok a megfigyelések, amelyek összefüggést vélnek találni a tumorsejtek áttétképző hajlama (metasztatizálása) és stresszfehérje mennyisége között (Sóti és Csermely, 1998; Storm és mtsai, 1996).

Szinte minden olyan beavatkozás, amellyel a rákot gyógyítják (kemoterápia, besugárzás, fototerápia, hogy a hipertermiáról ne is beszéljünk) a tumoros stresszfehérjék még fokozottabb termelődését váltja ki. Meg vagyunk mi bolondulva? Tovább edzzük a tumoros sejteket, hogy még ellenállóbbak legyenek? Valóban, számos esetben a stresszfehérjék fokozott mennyisége növeli a tumorsejteknek a kezeléssel szemben mutatott rezisztenciáját (Oesterreich és mtsai., 1993; Sóti és Csermely, 1998).

A helyzet azonban mégsem ilyen reménytelen. Már a 6.1. fejezet végén is felhívtam a figyelmet arra, hogy a stresszfehérjék túlzott mennyisége megmérgezheti a gazdasejtet. Valóban, voltak olyan esetek, amikor a kisméretű hősokkfehérjék vagy a Hsp90 túltermelődésével a tumoros sejtek életkilátásai nem javultak, hanem éppen romlottak (Galea-Lauri és mtsai., 1996; Knauf és mtsai., 1992). A „Janus-arcú” stresszfehérjék kettős viselkedésére egy másik jó példa a Hsp70 szerepe a p53-as tumorelnyomó (tumor szupresszor) fehérje működésében. A p53 olyan transzkripciós faktor, amely a sejtosztódás felpörgését gátló p21 fehérje szintézisét segíti elő. Ennek ismeretében nem meglepő, hogy a p53 mutációi nagymértékben elősegítik a rákos elváltozás kifejlődését. A Hsp70 segíti a p53 kötését a DNS-hez, így részt vesz a fehérje tumorelnyomó hatásában (Hupp és mtsai, 1992). Ugyanakkor a Hsp70 és a Hsp90 a mutáns, tehát csökkent DNS-kötésre képes p53 fehérjét tekeredési selejtnek ismeri fel, és egyáltalán nem engedi a DNS-hez közelkerülni (Hinds és mtsai., 1987). Így a Hsp70, hasonlóan a minőségi kontrollnak a 6.5.

fejezetben leírt túlkapásaihoz, még a p53 maradék aktivitásának kifejeződését is lehetetlenné teszi. A stresszfehérjék tumorgátló szerepének a legerőteljesebb megnyilvánulása az, amikor a tumorsejt az átélt rengeteg szenvedéstől bevadul, és néhány stresszfehérjét kihelyez a felszínére.

Stresszfehérjék a rákos sejtek felszínén

Már az előzőekben is említettem, hogy a tumoros sejt olyan szabályozatlan, a változatos körülményekhez folyvást alkalmazkodásra kényszerülő életet él, amely egy normális testi sejt életénél sokkal inkább hasonlít az egysejtűek életére. Nem csoda, hogy a gyakorta oxigénmentes környezetben élő tumorsejt abban is hasonlatossá válik baktériumokhoz, hogy a normális sejtekre általában nem jellemző módon stresszfehérjéket ültet ki a felszínére. A kijuttatás oka és módja még nem ismeretes. A következménye azonban igen. Az előző fejezetben leírtam a szervezet immunrendszerének hihetetlenül nagy érzékenységét a sejtek felszínén megjelenő stresszfehérjék ellen. A fertőzésekben közös antigénként szereplő, szerkezetükben rendkívüli módon konzervált stresszfehérjék olyan ismételt immunválaszt adnak, amely fellép minden ellen, ami hasonlít a vissza-visszatérő káros stresszfehérje-részletekhez. Ebben az immunválaszban a T-limfociták két fő osztálya (citotoxikus és segítő T-limfociták) közül egyikbe sem tartozó, úgynevezett „ $\gamma\delta$ ” T-sejtek vesznek részt. A rákos sejt tehát saját sírját ássa meg azzal, amikor stresszfehérjéi felszínreküldésével jelzi a szervezetnek, hogy: „vigyázz, én beteg vagyok”. Így nem meglepő, hogy a hősokkfehérjék elleni antitestek megjelenésekor az adott tumor kisebb mértékben fejleszt áttéteket, és jobb kilátásokkal lehet felvenni a küzdelmet is ellene (Trieb és mtsai., 2000). Sajnos azonban a helyzet mégsem ennyire egyszerű, hiszen messze nem minden tumor fejleszt ki felszíni stresszfehérjéket, és még az is, amelyik teszi, a legtöbb esetben más trükköket eszel ki az arra tévedő immunsejtek hatástalanítására (Multhoff és Hightower, 1996).



Mi szabja meg, hogy melyik tumor pakol ki stresszfehérjéket a felszínére és melyik nem?

Stresszfehérjék a rák gyógyításában – oltás a rák ellen

Ha a stresszfehérjék a legtöbbször oly hatékonyan védik a rákos sejteket, mint ahogy azt az előzőekben bemutattam, kézenfekvő a gondolat: csökkentjük mennyiségüket, és ezzel a rákos sejt sokkal érzékenyebbé tehető a környezet pusztításaival szemben. Valóban, ha a Hsp70 endoplazmatikus retikulumbeli homológját, a Grp78-at kiiktatjuk, a tumorsejtek védtelenné válnak az immunrendszer támadásaival szemben (Jamora és mtsai, 1996). Ugyanakkor a felszíni stresszfehérjéket egy meglehetősen váratlan módon is fel lehet használni a tumorok elleni védelemben.

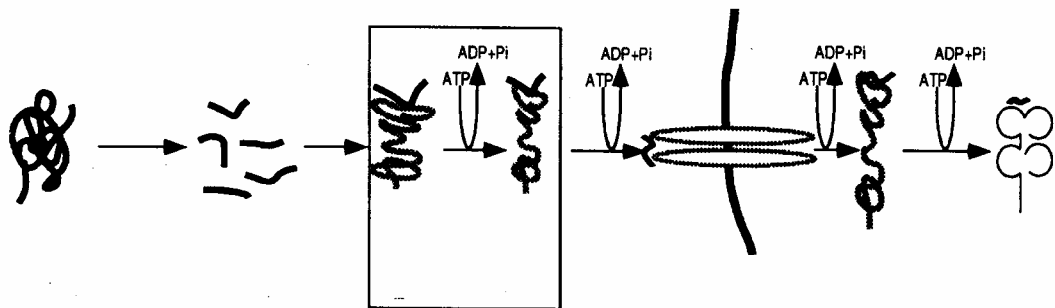
A nyolcvanas években elég értetlenül álltak a kutatók azelőtt a jelenség előtt, hogy egyre-másra stresszfehérjéket izoláltak az úgynevezett tumorspecifikus transzplantációs antigénekként. Ha ezeket az egyik állatban indukált tumorból származó antigéneket egy másik állatba adták, akkor ez utóbbiban kialakuló immunválasz megakadályozta, hogy az állatba átoltott (transzplantált) tumor ott

kifejlődjön. Az ilyen transzplantációs antigének tumorspecifikusak, azaz csak és kizárólag annak a tumornak a kialakulását akadályozzák meg a második állatban, amelyből az immunizálásra felhasznált antigén eredetileg származott.

Miért okozott gondot, hogy ezek az antigének stresszfehérjéknek bizonyultak? Mint korábban említettem, a stresszfehérjék a földi élővilág egyik legkonzerváltabb szerkezettel megőrzött fehérjéi, így meglehetősen nehéz elképzelni azt, hogy önmagukban tumorspecifikus immunsajátságokat viseljenek. És valóban: a gondos (és kíméletlen) eljárással megtisztított tumorstresszfehérje nem képes a tumorelles immunválasz kiváltására. *Pramod Srivastava* volt az, aki feltételezte, hogy nem a stresszfehérje maga, hanem a hozzáragadt tumorpeptidek azok, amelyek az immunitást hordozzák. Hogyan ismerik fel az immunsejtek ezt az antigént?

A sejt saját stresszfehérjéi a 3.1. fejezetben ismertetett szemétszedő funkciójuk részeként résztvesznek abban, hogy az adott sejtre jellemző peptidek az MHC I-es fehérjére kerüljenek. Az MHC I-es komplex olyan, a sejten belüli „saját” peptideket az immunrendszernek felkínáló molekula, amely minden sejt felszínén megtalálható, és a citotoxikus T-limfociták révén gyors, helyi immunválasszal az adott sejt kiirtását teszi lehetővé vírusos fertőzésekben. (Ilyenkor ugyanis a vírus peptidjeit is felkínálja, amelyet az immunrendszer idegennek ismer fel.) Az immunrendszer a sejten kívüli, kóborló idegen antigéneket egy teljesen más mechanizmussal az MHC II-es fehérjére helyezi ki. Az MHC II-es komplex olyan, a sejten kívüli, „idegen” peptideket az immunrendszernek felkínáló sejt felszíni molekula, amely csak néhány immunsejt felszínén található, és amely a segítő T-limfociták révén lassan kifejlődő, általános immunválaszt idéz elő bakteriális fertőzések és más, a szervezetbe jutott idegen anyag (szemét) ellen.

Ha idegen peptidekkel megrakott idegen stresszfehérje jut a szervezetbe, egy idő után a mindent felzabáló makrofág sejtek hasáiban találja magát. A makrofágokban — a stresszfehérjék nagyfokú hasonlósága miatt — az idegen stresszfehérje is bekapcsolódik abba a láncolatba (*14. ábra*), amellyel a makrofág sejten belüli, „saját” peptidjei bemutatásra kerülnek, és (teljesen „szabálytalanul”) a tumorból származó idegen peptideket is az MHC I-es fehérjére juttatja. Így a tumorsejtek ellen egy gyors citotoxikus válasz keletkezik, amellyel a tumorsejtek az immunrendszert megkerülő mechanizmusai „kicseleződnek”. A tumorok felismerésének e hatékony mechanizmusa valószínűleg külső hatás nélkül is működik, és fontos szerepet játszhat abban, hogy a bennünk lépten-nyomon keletkező tumoros sejtek ne öntsék el már kiskorunkban a szervezetünket.



14. ábra. A stresszfehérjék lehetővé teszik az „idegen” peptidek „bemutatását” a „saját” peptideket felkínáló MHC I-es komplexen.

A stresszfehérjék részt vesznek a peptidek összegyűjtésében és továbbításában mind a citoszolban (Hsp70, Hsp90), mind pedig az endoplazmatikus retikulum (ER) belsejében (Grp94). További rövidítések: ATP, adenzin trifoszfát; ADP, adenzin difoszfát; P_i, inorganikus foszfátion. A TAP elnevezés a peptideket az endoplazmatikus retikulumba transzportáló fehérjét jelöli (Srivastava és mtsai., 1994 nyomán).

Pramod Srivastava 1994-ben hipotézisként megfogalmazott elképzelései (Srivastava és mtsai., 1994) mára szinte teljes mértékben beigazolódtak, és egyértelművé vált, hogy a stresszfehérjék igen fontos szerepet töltenek be a peptidek antigénként való bemutatásában (Srivastava és mtsai., 1998). Ez a felfedezés megnyitotta az utat azelőtt, hogy az autoimmun betegségek leküzdésében használt oltásokhoz hasonlóan az adott beteg primér tumorából származó stresszfehérje-peptid komplexekkel immunizálják a beteget. Ezzel az oltással az eredetileg is jelenlévő immunválasz a sokszorosára erősíthető, és elérhető, hogy az eredeti tumorról azonos fajtájú másodlagos tumorok (metasztázisok, áttétek) csökkent mértékben jelentkezzenek (Tamura és mtsai., 1997). A stresszfehérje-oltás további előnye a stresszfehérjéknek az előző fejezetben már leírt általános, immunrendszer aktiváló (adjuváns) hatása is (Heike és mtsai., 1999).

A későbbiekben a stresszfehérje-peptid oltást valószínűleg bizonyos ráktípusokban (például prosztataraák) közös tumorspecifikus peptidekkel feltöltött stresszfehérjékkel is el lehet végezni, amellyel a személyre szabott, drága, időigényes és némi kockázattól sem mentes oltások kifejlesztése néhány esetben elmaradhat.

Egy másik módszer kiiktatja a stresszfehérje izolálását, és a kinyert tumorsejteket a bakteriális Hsp70 fehérje kifejezésével érzékenyvé teszi az immunrendszer támadásaira. Ha ilyen rákos sejteket visszaoltanak a tumoros állatba, az immunrendszer nemcsak a beoltott sejteket pusztítja el, hanem — ma még nem ismert módon — képessé válik a Hsp70-nel nem rendelkező (adott esetben már metastázisokat képzett) tumorsejtek felismerésére és elpusztítására is (Lukacs és mtsai., 1993). A *Gabriele Multhoff* által kifejlesztés

alatt álló módszer (Multhoff és Hightower, 1996) bizonyos tumorsejteknek azt az előzőekben említett tulajdonságát használja ki, hogy maguktól stresszfehérjéket pakolnak ki a felszínükre. Ezt az áldásos tulajdonságukat a szervezetből eltávolított tumorsejtek speciális sanyargatásával is elősegítik, majd a tumorsejteket itt is visszaoltják, és a várt eredmény, a masszív immunválasz, a legtöbb esetben be is következik.

6.9. Stressz-chip: a stresszfehérjék jelzőszerepe

Ha a sejtet ért szinte minden káros hatás stresszfehérjék indukciójához vezet és az emelkedett stresszfehérjeszint az élővilág egyik legáltalánosabb veszélyjelző válasza, milyen egyszerű is lenne stressz-chipet konstruálni, ahol valamilyen mostoha körülmények között is életképes (például műanyagzabáló) mikroorganizmus tengeti életét, és egy beépített automatika jelzi, ha stresszfehérjéket kezd el kifejleszteni. Ilyenkor a stressz-óra (Bio-Swatch) hátlapja pittyegni kezd, és a viselője értesül arról, hogy jobb ha a helyszínt mihamarabb elhagyja.

A stressz-biomonitorozásnak persze vannak kevésbé futurisztikus módjai is. Például, amikor azt kellene eldönteni, hogy egy tó életfeltételei romlottak vagy javultak egy beavatkozás nyomán. Ilyenkor megoldás az is, ha a szakértői csapat hónapokon át tépi egymás haját, hogy a tó minőségi jellemzői közül melyiket és milyen súllyal kell megmérni és figyelembe venni a végső, igen-nem válasz meghozatalakor. Ennél egyszerűbbnek tűnik, ha megkérdezzük a tó lakóit, hogy hogyan is érzik magukat. Sajnos ma még a delfinek nyelvét sem értjük, így a direkt kommunikáció még fejlett piáros környezetvédő hatóságok számára is meglehetősen nehézkes lenne. Nem marad más hátra, mint a kommunikáció egy sajátos válfajaként a lakók egyikét-másikat feltrancsírozzuk és megmérjük stresszfehérjék szintjét. Az eddigiekben leginkább halakkal és férgekkel végeztek hasonló kísérleteket (Candido és Jones, 1996; de Pomerai, 1996; Iwama és msai., 1999). Az eredmények biztatóak, csak az a baj, hogy – az 5.3. fejezetben már említett módon – a stresszfehérjék igen bonyolult mintázat szerint, egyedenként és helyzetenként különböző módon indukálódnak (Wang és mtsai., 1999). Azonban ha a tapasztalatok gyűjtögetésével megleljük, hogy ebben a káoszban mi a rendszer (merthogy a legtöbbször a legnagyobb káoszban van a legnagyobb rend, csak sokszor nehéz rájönni a kulcsára), akkor egy nagyon hasznos méréshez jutunk, amely a környezet ezernyi változásából egy integrált válaszjelet állít elő: gáz van vagy nincs gáz.

7. Stresszfehérjék és evolúció

Az eddigiekben azt tekintetem át, hogy a stresszfehérjék milyen feladatokat végezhetnek a molekulák, a sejt és az egész szervezet szintjén, azaz mennyiben járulnak hozzá a jelenlegi földi élet elemeinek fennmaradásához. Mivel a stresszfehérjék családja egyike az élővilág legősibb és legfontosabb fehérjecsaládjainak, a stresszfehérjék szerepe nemcsak térben (az anyag szerveződésének különböző szintjein), hanem időben is értelmezhető. Feltehető az a kérdés: mennyiben járultak hozzá a stresszfehérjék a földi élet kialakulásához és fejlődéséhez? E fejezetben erre a kérdésre adok választ.

7.1. A stresszfehérjék szerepe a földi élet kialakulásában

Ahhoz, hogy a stresszfehérjéknek az élet kialakulásában játszott szerepéig eljussunk, először tekintsük át, mit tudunk (képzelnünk) a fehérjék kialakulásának történetéről. Több mint hárommilliárd évvel ezelőtt, az élet születésének körülbelül ötszázmillió éve alatt (Lazcano és Miller, 1996; Schidlowski, 1988), az úgynevezett „prebiotikus evolúció” során még nem az élőlények harcoltak a fennmaradásért folyó küzdelemben, hanem kémiai, biokémiai reakciók serege zajlott egymással párhuzamosan az adott földi körülményeknek legmegfelelőbb makromolekulák és reakcióutak fennmaradását eredményezve.

A „reakciók csatájának” kezdetén a Földet túlnyomó részben szervetlen molekulák uralták. A légkörből hiányzott az oxigén, a mainál sokkal redukálóbbr atmoszféra nitrogént, vízgőzt, széndioxidot, szénmonoxidot, hidrogént, esetleg ammóniát és metánt tartalmazhatott. Mivel a széndioxid mennyiségét, és ezáltal a földi öslégkört felmelegítő üvegházhatást éppúgy nehéz megbecsülni, mint a vulkáni tevékenység kiterjedését, nincsenek pontos fogalmaink arról, hogy a földi ósóceán mennyiben volt folyékony, illetve befagyott. A földköpeny számos olyan szilikátból, agyagásványból, piritből és más anyagokból álló felületet kínált, amely alkalmas volt bizonyos kémiai reakciók szelektív meggyorsítására, katalízisére (Csermely, 1997a). Ezek voltak a legfontosabb elemei annak a szintérnek, amelyen az élet keletkezéséhez vezető folyamatok lejátszódtak. Mielőtt azonban a reakciók

csatájának „végcélja”, az élet kritériumait, illetve az élethez vezető út lehetséges lépéseit sorra venném, két megjegyzést szeretnék tenni.

Megismerésünk korlátai

A sokmilliárd évvel ezelőtti evolúció kutatói már a kezdet kezdetén is számos, szinte áthághatatlan nehézségbe ütköznek. Egyrészt az eltelt évmilliárdok a korai történések szinte minden nyomát elmosták. Másrészt a prebiotikus evolúciót jellemző folyamatok újraálmódásához legalább két szemléleti, megközelítésbeli korlátot is le kell dönten: ezek közül az egyik az időkorlát. Az a kémiai reakció, amely mondjuk százezer évet igényel ahhoz, hogy közel teljesen lejátszódjon, mai pergő agyunknak, amely a „nagyapapa által még elmondható történelem” maximálisan százéves horizontján megreked, reménytelenül lassú. Ugyanakkor százezer év az élet kialakulására rendelkezésre álló időnek mintegy ötezred része (az élet teremtésének napjából mintegy 17 másodpercet foglal el). Az időkorlát a folyamatok befejezettségében is jelentkezik. A mai élővilágot szemlélve óhatatlanul annak viszonyait, megoldásait akarjuk visszavetíteni a teljesen más körülmények között kialakult régmúltba. Nagyon nehéz, emberpróbáló szemléleti kérdés, hogy a mai aggyal szinte rekonstruálhatatlan, sok százmillió évvel ezelőtt nyomtalanul eltűnt, primitív formációkat az akkori fejlettségre és viszonyokra helyes választ adó, szinte egyeduralkodó megoldásokként fogjuk fel.

A másik korlát térbeli. Az emberi gondolkodás hüvelyekben, lábokban, méterekben mért dimenzióihoz már az egész Földre kiterjedő egynemű, homogén modell alkotása is nehéznek bizonyulhat. Ha azt is figyelembe vesszük, hogy az élet keletkezésének magyarázatában az egész Földre kiterjedő, homogén modellnek értelme sincs, hiszen az irdatlan bolygóméreteknél olyan kicsi, helyi elemei játszhatták a legnagyobb szerepet, mint a megbecsülhetetlen számú vulkánok óceánmosta lejtői, a nem tudjuk hol, és nem tudjuk mikor éppen kiszáradófélben lévő lagúnák vagy esetleg néhány kis kőzetlyuk több kilométerrel a földfelszín alatt, akkor képet alkothatunk arról, milyen nehéz az élet keletkezéséhez vezető kémiai folyamatok mai nyomon követése.

Mi kell ahhoz, hogy egy szervezet élő legyen?

A prebiotikus evolúció az élet kialakulásával fejeződik be. Mi kell ahhoz, hogy valamit élőnek nevezhessünk? Melyek az élő kritériumai? Ha egy utcán sétáló embert megkérdeznénk, mi alapján tudná eldönteni, hogy az előtte lévő valami él vagy nem él, válaszában jó eséllyel szerepelne a „magától mozog” fogalma. E definíció alkalmazásából fakadó nyilvánvaló tévesztések (él-e a mellettünk elhaladó gépkocsi?) is mutatják, hogy a kérdés ellentmondásmentes, tehát tudományos igényű megválaszolásához az élő szervezetek más tulajdonságait kell megragadnunk.

A legrititívebb élő szervezetnek is rendelkeznie kellett olyan örökítő anyaggal, amely a szervezet működéséhez szükséges információt az utódokra átörökítheti. Ahhoz, hogy függetlenedjen a környezet változásaitól, szüksége volt egy határoló hártýára, egy membránra. Végezetül a membránnak az osztódással párhuzamos növekedéséhez és az örökítő anyag kettőződéséhez már az első élő szervezeteknek is ki kellett fejlesztenie egy primitív anyagcsere

rendszer, amely saját magát szabályozni képes (Gánti, 1979; Eigen és Mutschler, 1981; Szathmáry és Maynard Smith, 2000). Biokémikusból előlépett botcsinálta evolúciókutatóként azt az egyszerűsítést is megkockáztatom, hogy molekuláris szinten az élethez kell valami, amelyről közel hibamentesen másolatok készíthetők (ezt a továbbiakban *templátnak* nevezem) és kell valami, amely a kémiai folyamatokat felgyorsítani, szabályozni, irányítani képes (a továbbiakban: *katalizátor*).

Elméletek az egyszerű szerves molekulák keletkezésére

Olyan szerves molekuláknak, mint a fehérjealkotó aminosavak közül a glicin, az alanin, az aszparaginsav és a glutaminsav, illetve az anyagcsere-folyamatokban részt vevő tejsav és borostyánkősav, az ősi légkörhöz hasonló körülmények közötti gyors és hatékony szintézisét először *Harold Urey* tanácsait felhasználva *Stanley Miller* (1953) valósította meg. Miller az ósatoszférát utánzó gázelegyben a villámlásoknak megfelelő elektromos kisüléseket hozott létre. Úttörő kísérleteit számos hasonló próbálkozás követte, ahol a kiindulási gáz-, illetve folyadékelegy összetételét, a közölt energia jellegét (elektromágneses sugarak, illetve a közel 4 milliárd évvel ezelőtti Földet ért gyakori meteorbecsapódások) és a jelenlévő katalizátorokat variálták. Így az ősi földi légkör elemi alkotóiból számos olyan egyszerűbb szerves molekulát elő lehetett állítani, amely a képzelt primitív lény életfolyamataihoz nélkülözhetetlen (Csermely, 1997a; Kajtár, 1963; Wächtershäuser, 1992). Bizonyos szerves molekulákat a Földünk légterébe lépő üstökösök is magukkal hozhattak. Az építőkövek megjelenése után a következő lépés az információhordozó makromolekulák előállítása lehetett.

Fehérje és ribonukleinsav: a tyúk-tojás probléma

Az előzőek szerint az élethez molekuláris szinten egy templát és egy katalizátor jelenléte a legfontosabb. A kémiai reakciókat gyorsító, és szelektivitásukat biztosító fehérjéket hosszú ideig az élet egyik legfontosabb feltételének tekintették. E kép kialakulásához a század hatvanas és hetvenes éveiben a fehérjebiokémia diadalmenetén kívül az is hozzájárult, hogy különösen *Sidney Fox* (1965) munkássága nyomán a fehérjék aminosavakból történő szintézisének meglehetősen egyszerű módjait sikerült felfedezni. Nem volt olyan adat azonban, amely fehérjéről fehérjét másoló rendszer létrejöttét engedett volna következtetni. Ismertük a *katalizátort*, de hiányzott a *templát*. A hetvenes évek végétől úgy az ezredfordulóig az élettudományokra a nukleinsavakkal foglalkozó molekuláris biológia térhódítása nyomta rá a bélyegét. A nukleinsavak, különösen az ősi körülményeknek jobban megfelelő ribonukleinsav (RNS) ideálisak a *templát* szerepére. A fehérjék „trónfosztása” a ribonukleinsavak katalitikus szerepének felfedezésével (Zaug és Czech, 1986) következett be. A korábbi, „Hogyan alakították ki a nukleinsavakat a létező primitív enzimek?” kérdés helyébe a „Hogyan szintetizálódtak a fehérjék a primitív, csak ribonukleinsavakat tartalmazó riboszómákon?” felvetés lépett. A ribóz kémiaiilag sokkal reakcióképesebb, mint az egy hidroxilcsoporttal kevesebbet tartalmazó dezoxiribóz. Így a ribóztartalmú molekulák meglehetősen instabilak magasabb hőmérsékleten vagy reakcióképes anyagok közelében. Ez a tisztán ribonukleinsav-alapú földi ősvilág létét megkérdőjelezi. A fehérjéknek a nukleinsavakhoz hasonlatos átszabását (splicing

mechanizmusát) már 1990-ben felfedezték (Cooper és Stevens, 1995). Ez az átalakulás bizonyos fehérjetemplát szerepre enged következtetni. Az a felfedezés, amelyben önmaga kialakulását elősegítő kis fehérjéről (peptidről) számoltak be (Lee és mtsai., 1996), újabb példát adott arra, hogy primitív körülmények között fehérjék igenis működhetnek *templátként*. Azzal párhuzamosan, hogy a tudományos világ érdeklődése a DNS szekvenálási hajsza után kezd a kódolt fehérjék funkciója felé terelődni, a fehérje—RNS mérkőzésben a fehérjék kezdenek az egyenlítés felé haladni.

Az előzőekben vázolt fehérje-ribonukleinsav tyúk-tojás problémának van egy igen szellemes megoldása is: se a fehérjék nem előzték meg a ribonukleinsavakat, se a ribonukleinsavak a fehérjéket. A két molekulafajta egymás mellett, egymással kölcsönhatásban fejlődött ki (Lahav, 1991). Ezen elmélet szerint a kezdeti szakaszban mind a fehérjék, mind pedig a ribonukleinsavak spontán polimerizációja során a másik molekulafajta gyakorta jelen volt. Így a kezdeti fehérjék RNS-t, a kezdeti RNS-ek fehérjéket kötöttek. A két molekulatípus stabilizálta egymást, és egymás polimerizációjában és betekeredésében is kölcsönösen gyorsító szerepet tölthetett be.

A ribonukleinsavak ősi világa

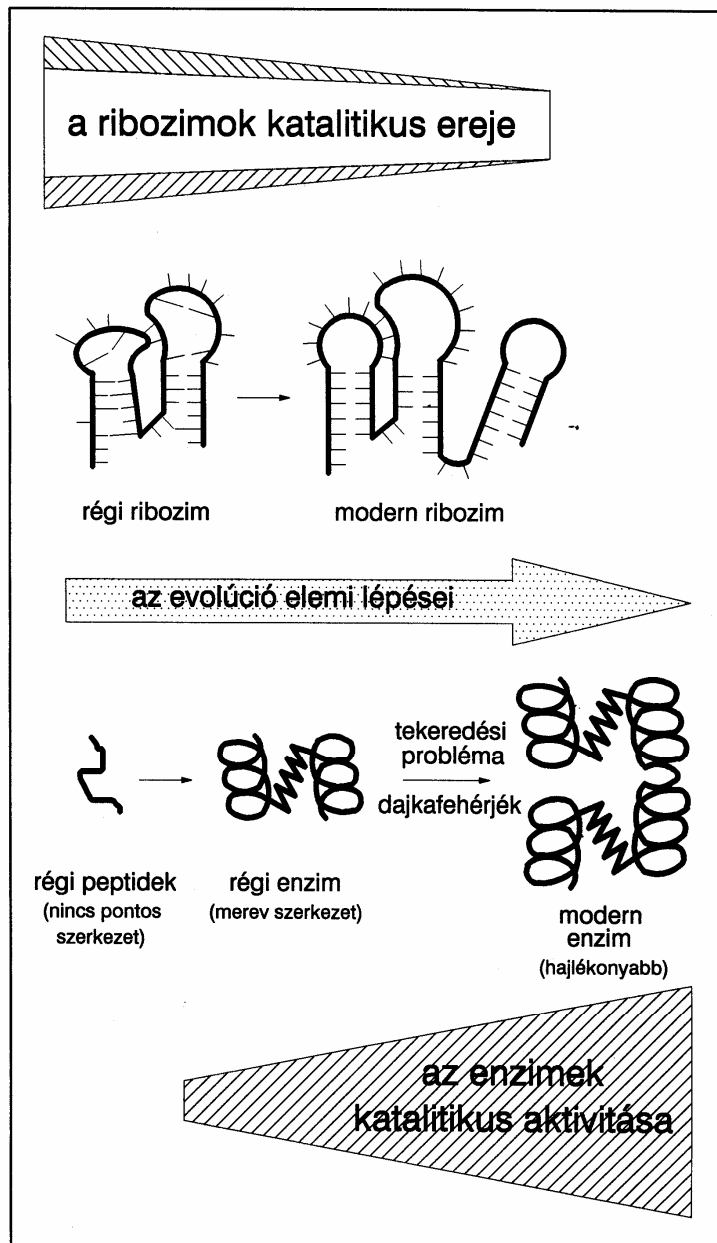
Az RNS azért annyira vonzó, mint ősmolekula, mert egyesíteni tudja az enzimekre jellemző katalitikus aktivitást a megkettőződés (önmásolás) precizitásával, amely mindenfajta molekuláris szintű információ pontos megőrzésének alapvető feltétele. A legegyszerűbb RNS-enzim (úgynevezett ribozim) pusztán hat nukleotidból, három uracilból és három adeninből áll (UUUAAA; Pyle, 1993). Az RNS-enzimek elképesztően sokféle kémiai reakciót képesek meggyorsítani: képesek szinte bármilyen kémiai anyag nagy pontosságú és nagy erősségű megkötésére, és segítségükkel mind a fehérje, mind az RNS-szintézis végbevihető. Az RNS-ek katalitikus aktivitását a mai szervezetek is felhasználják. Számos mai fehérjeenzim katalitikus aktivitásában résztvevő koenzim (NAD, ATP stb.) az ősi RNS-enzimek leszármazottjának is tekinthető.

Szervezetünkben azonban az enzimek mégsem RNS-ek, hanem fehérjék. A sok fehérje között RNS-enzim csak nagyon elvétve fordul elő. Ha az RNS-ek által katalizált reakciók ilyen hatékonyak és sokrétűek voltak, miért szorították ki őket a fehérjék? A kérdésre adott szokásos válasz az, hogy a *húsfajta* különböző *aminosavból* felépülő fehérjéknek több mint 500-szor nagyobb esélyük van egy aktív, katalitikus hely kialakítására, mint az azonos méretű, *négyféle nukleotidból* felépülő RNS-enzimeknek. Az általános magyarázat ott sántít, hogy a Föld őskorában minden bizonnyal nem volt még hús aminosav. Ezzel összhangban, a jelenlegi fehérjeszerkezetek elemzésével kiderült, hogy hús helyett tízfajta aminosav is elég ahhoz, hogy stabil fehérjeszerkezet jöjjön létre (Romero és mtsai., 1999). Ugyanakkor nagyon valószínű, hogy az ősi RNS-eket nemcsak négy, hanem többféle nukleotid is alkotta. Más elképzelés is kell tehát az RNS-ek katalitikus erőtlenségére.

Annak további magyarázatául, hogy miért maradt le az RNS a reakciók meggyorsításáért vívott sokszázmillió éves versenyben a fehérjék mögött, szerkezeti okok szolgálnak. Az RNS-ek tekeredése sokkal kevésbé kooperatív, mint a fehérjéké, így sokkal kisebb a valószínűsége annak, hogy az RNS-

molekula valamely részlete kényszerűen magas energiaállapotban maradjon (Csermely, 1997b; Draper, 1996). Ha pedig nincs lokálisan igen magas energiaállapotú RNS-darabka, akkor nincs jól funkcionáló RNS aktív hely sem, azaz az RNS-ek elvileg sem lehetnek igen hatékony enzimek. A fejlődés későbbi fokán tehát a fehérjetermészetű enzimeknek szükségszerűen teret kellett hódítaniuk (15. ábra). Azok a fehérjék, amelyek bizonyos RNS-enzimeket teljesen helyettesíteni képesek, mind a mai napig őrzik e térhódítás emlékét (Mohr és mtsai., 1994). Természetesen a fehérjék messze nem minden katalitikus funkciót vettek át, jól működő RNS-enzimekre a ma élő szervezetekben is számos példa hozható. A fejlődés során az RNS-ek bázispárosodásában egyre kisebb lehetett a „lötyögés”, ezzel párhuzamosan a lehetséges nukleotidok száma négyre csökkent (Szathmáry és Maynard Smith, 2000). A csökkenő nukleotidszámmal az RNS-ek katalitikus aktivitása is csökkent. A kezdetben együtthaladó ős-RNS és ős-fehérje útja az evolúció során kettéágazott: az RNS a pontos másolásra, a fehérje a katalízisre szakosodott molekulává vált.

Az RNS-ek tehát elvesztették vezető szerepüket a katalitikus versenyben. De vajon volt-e valaha vezető szerepük? Igen sok érv szól az ellen, hogy az RNS a földtörténet közel 4 milliárd évvel ezelőtti korszakában egyeduralkodó szerves molekula volt: az RNS nem elég stabil, és polimerizációja során a különböző térállású formái összegabalyodhatnak. Így számos olyan elképzelés született, amely az RNS szerkezetében szereplő ribózt valamely más, egyszerűbb molekulával helyettesítette (Csermely, 1997a; Szathmáry és Maynard Smith, 2000).

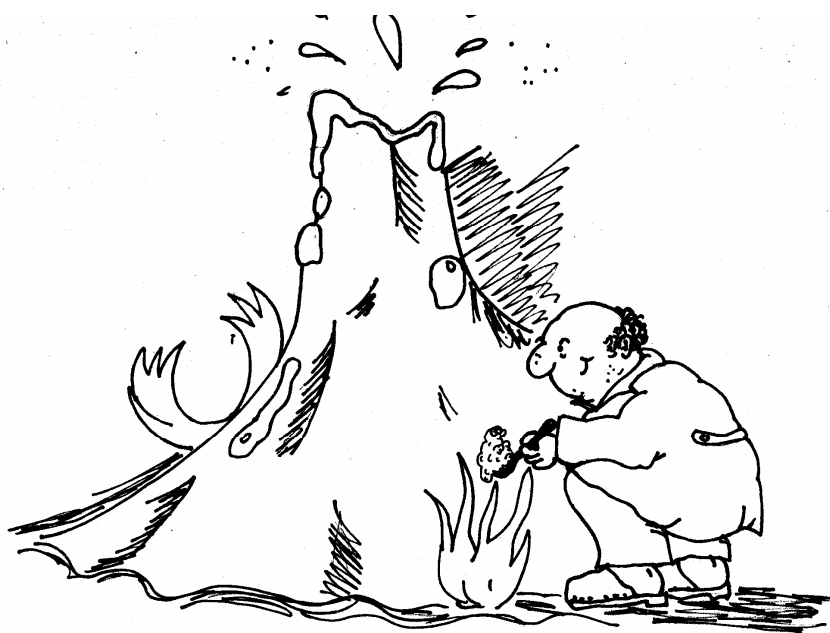


15. ábra. A modern RNS és fehérje enzimek fejlődése.

Az ábra azokat a képzeletbeli változásokat foglalja össze, amelyek során az ősi RNS-ek egyre kevesebb fajta nukleotidból épültek fel, így kapcsolódási hatékonyságuk nőtt, de katalitikus aktivitásuk csökkent. Ezzel párhuzamosan az ősi fehérjéket alkotó aminosavak száma mind mennyiségében, mind fajtájában növekedett, ezáltal a fehérjék katalitikus aktivitása fokozatosan meghaladta az RNS-ekét (Csermely, 1997b, nyomán).

Tehát nem biztos, hogy a ma ismert RNS-ek valaha is a katalitikus aktivitás egyedüli letéteményesei voltak. Hogyan állunk a templát szereppel? A sok milliárd évvel ezelőtti, kezdetleges világra korántsem biztos, hogy az információ továbbadásának, az öröklődésnek olyan molekulárisan konzervált formái voltak a jellemzők, mint a dezoxiribonukleinsav (DNS) másolásának pontos, mai mechanizmusa. Másrészt még nem is volt szükség a létező szerveződések igen pontos öröklődésére, mert a meglévő formák csekély

bonyolultságuk és igen kezdetleges hatékonyságú működésük miatt „kis evolúciós értéket” képviseltek (Csermely, 1997a).



A fehérjék, enzimek kialakulása

A fehérjetermészetű anyagok közvetlen előállításában *Sydney Fox*-nak (1965) már az előzőekben is említett kísérletei jelentették a legnagyobb előrehaladást. Fox a természetes aminosavak glutaminsavban és aszparaginsavban feldúsított keverékét 160-200 fokon néhány órán át hevítette. A keletkezett olvadékot vízben oldva akár 20 kDa molekulatömegű, úgynevezett „proteinoid”-ot kapott. A proteinoid elnevezés arra utal, hogy a képződött polipeptidben a fehérjékre jellemző α -helyzetű peptidkötés mellett az aszparaginsav és a glutaminsav másik, β - vagy γ -helyzetű karboxilcsoportja is részt vesz a peptidkötések kialakításában, azaz a fehérje kicsit hasonlít az öregedő szervezetekben feldúsuló, izopeptid kötésű fehérjematuzsálemekre (6.4. fejezet). A kapott fehérjeszerű anyag katalitikus tulajdonságú. A fehérjék keletkezésének e termikus útját az alkalmazott, viszonylag magas hőmérséklet miatt sok kritika érte, de ha meggondoljuk, hogy az ősi vulkánok oldalán, a Föld akár több kilométeres mélységeiben, illetve a meteorbecsapódások közelében uralkodó hőmérséklet könnyen elérhette a szintézishez szükséges értéket, és ha azt is figyelembe vesszük, hogy bizonyos adalékok alkalmazásával az alkalmazott hőmérséklet 100 fok alá szorítható, a Fox-féle proteinoid szintézis az ősi, földi körülmények között is elképzelhetővé válik. Ezekkel a folyamatokkal párhuzamosan vagy azok előtt természetesen felvetődhet a ribonukleinsavak által katalizált fehérjeszintézis lehetősége is (Joyce, 1989).



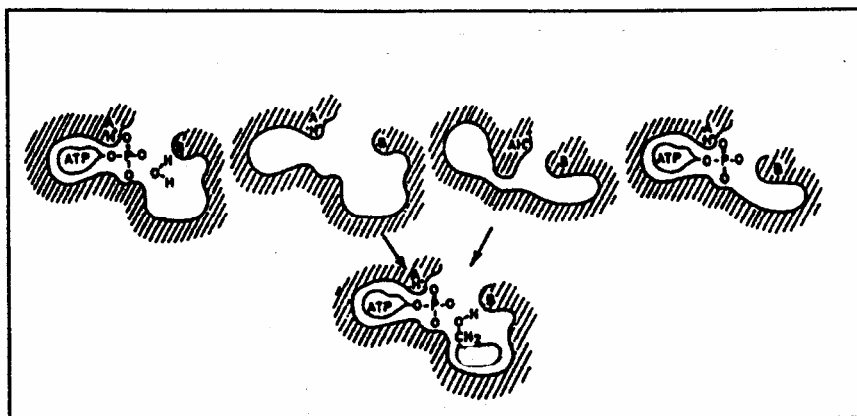
Miért mellőzi a természet az izopeptid kötést a fehérjékben, ha az a stabilabb?

Az enzimek evolúciója

A fehérjék lehetséges abiotikus kialakulásának felvázolása után az enzimek evolúciójáról teszek néhány megjegyzést. A kezdetben megjelenő oligopeptidek önmagukban nem voltak képesek számottevő katalitikus aktivitást kifejteni, hiszen a tíz-húsz aminosavból felépülő peptidek vizes oldatban nem rendelkeznek stabil szerkezettel. Ezek a kezdeti peptidek esetleg valamilyen felszínhez (ásvány, membrán) rögzülhettek, és annak a katalitikus hatásait gazdagították. A kezdeti aminosavak, peptidek részt vehettek az RNS-alapú katalízis kibővítésében is (Szathmáry, 1999). A fehérjetermészetű anyagok kialakulása során megjelenő első önálló fehérjekatalizátorok, az enzimek, a kezdeti peptideknél nagyobb, körülbelül 50-100 aminosavból állhattak. Ekkora polipeptidek már képesek stabil, állandó szerkezetet alkotni (15. ábra).

Az első enzimek meglehetősen rossz hatásfokkal és igen kis specificitással működtek (Csermely, 1997b; Kacser és Beeby, 1984; Koshland, 1976). Ez segítette az ősi élő szervezeteket, hiszen így igen kisszámú katalizátor elegendő volt a gyorsítandó folyamatok teljes körének viszonylagos felpörgetésére. Egy ma is létező szerveződés életéhez minimálisan 250 különböző fehérje kell (Patthy, 1999). Ennyifajta katalizátor nem állhat össze az egyik pillanatról a másikra. Az ősi, sokfunkciós enzimek hatókörét tovább növelte, hogy a folyamatokban résztvevő koenzimeknek (például NAD, ATP stb.) is széles tárházát köthették meg, viszonylag kis preferenciát mutatva egyikük vagy másikuk iránt.

Ezen ősi protoenzimek viszonylag csekély katalitikus aktivitása a fehérjeszerkezet kis hajlékonyságával járhatott. A stabil, merev szerkezet önmagában is okozója lehetett a különböző lehetséges szubsztrátok közötti kis szelektivitásnak (16. ábra). A fehérjeszerkezet merevségének egyik fontos oka az, hogy az adott fehérje energiája betekert állapotában igen alacsony. Azoknak a fehérjeszerkezeteknek a száma, amelyek egyrészt betekerten elég stabilak, másrészt pedig ebbe a stabil végállapotba gyorsan be is tudnak tekeredni, igen kevés. Így nem csoda, hogy ezek az ősi fehérjeformák a ma létező stabil fehérjeszerkezetek jelentős részét alkotják (Li és mtsai., 1996; Orengo és mtsai., 1994). A fehérjék formavilágának magja tehát a 2.1. fejezetben már említett módon szegényes, és az is elképzelhető, hogy az első, ősi fehérjék alakját őrzi ma is.



16. ábra. A primitív, merev enzim mindennel reagál.

A glukózból adozin trifoszfát (ATP) segítségével glukóz-6-foszfátot alkotó glukokináz enzim szelektivitása a glukóz és a tízezerszeres feleslegben lévő vízmolekula között merev és hajlékony fehérjeszerkezetnél. A primitívebb,

merev szerkezetű enzim kevéssé tud különbséget tenni a glukóz és a víz között, aminek eredményeként az enzim glukokináz helyett inkább ATP-t hasító ATP-ázként működik. A hajlékony enzim aktív centruma glukóz nélkül „lapos”, így az ATP-t hasító víz nem fér hozzá az ATP magasenergiájú kötéseéhez (Koshland, 1976 nyomán).

A stabil és gyorsan betekeredő fehérjéknek viszonylag kisméretűeknek kell lenniük. Ha az első fehérjék kicsik, kevesek, merevek, lusták és buták voltak, hogyan fejlődött ki a mai nagy, fürge, hajlékony, okosan válogató fehérjék gazdag tárháza? Mint már az eddigiekből is kiderült, a mai fehérjék szerkezetének a vázát is a buta ősök merev szerkezete adhatja. Ezekhez a tekeredési magokhoz azonban hozzáépültek olyan hajlékony, rugalmas fehérjerészek, amelyek éppen a stabil elemek betekeredéséből származó energiát használják ki arra, hogy saját, nem olyan stabil szerkezetük az adott fehérjében mindig közel azonos módon újraképződjön. Közben minden bizonnyal a fehérjéket alkotó aminosavak száma is nőtt.

A szilárd maghoz később „hozzátoldott” fehérjerészek közül vannak olyanok, amelyek az egész fehérje betekeredése során „mindig a rövidebbet húzzák” (övék marad a Fekete Péter) és igen labilis állapotban kell maradniuk ahhoz, hogy a fehérje többi része stabil legyen. Az ilyen részeket a 2.1. fejezetben már említett módon „*aktív helyeknek*” hívjuk. Az *aktív helyek* csak más molekula kötésével képesek stabilizálódni. Ez a más molekula lehet kicsi, ilyenkor az *aktív hely* egy enzim szubsztrátkötő helyévé válik, és lehet nagy is, ilyenkor az *aktív hely* azt segíti elő, hogy a fehérje más fehérjéhez vagy nukleinsavhoz kötődjön. A fehérjék *aktív helyei* tehát viszonylag később alakulhattak ki, és az enzimhatás, a makromolekulák szelektív felismerő képessége, a mai élővilág működése szempontjából alapvető fontosságúak.

A stresszfehérjék szerepe a fehérjetípusú enzimek kialakulásában

Mi tette lehetővé az aktív helyek kialakulását? A fejlettebb, nagyméretű, instabil részekkel rendelkező fehérje a tekeredése során tekeredési csapdákba eshet (2.3. fejezet). Szerkezetének kialakulásához olyan segítségre van szüksége, ami e betekeredést megkönnyíti és a csapdából kivezeti. A stresszfehérjék pedig éppen ennek a feladatnak a megoldására alakultak ki. A stresszfehérjék megjelenésének tehát a földi evolúció viszonylag korai és igen fontos eseményének kellett lennie (Csermely, 1997b).

Egy kérdéssel tovább mehetünk: mi tette lehetővé a stresszfehérjék kialakulását? Ki volt az első tekerő? A stresszfehérjék, azaz a fehérjekötő fehérjék kialakulása nem olyan nagy csoda, mint ahogy azt esetleg elsöre gondolnánk. A monomerek spontán polimerizációja során szinte törvényszerű, hogy a keletkező polimer kösse azokat az anyagokat, amelyek a polimerizáció során a közelében voltak (Pande és mtsai, 1994). Ezt az elvet a fehérjék kialakulására alkalmazva elmondhatjuk, hogy aminosavak fehérjék jelenlétében megvalósuló polimerizációjakor a keletkező új fehérje a folyamat során jelenlévő régebbi fehérjéket kisebb vagy nagyobb affinitással kötni képes. Így az aggregáció ellen védő primitív stresszfehérje kialakulásának esélye már a kezdetektől fogva adott.

A stresszfehérjék keletkezésének e lehetséges útja mellett emlékeztetni szeretnék azokra a korábbi állításokra is, amelyek megmutatták, hogy primitív tekeredéssegítő tulajdonságokkal kisméretű molekulák: cukrok, lipidek is rendelkeznek. A tekeredést a földfelszín alatti akár több kilométeres mélységben vagy a tengerek fenekén uralkodó nagyobb nyomás vagy egy szilárd felület (ásványfelszín, membrán) jelenléte is elősegítheti. Az élet kezdetén tehát a primitívebb enzimek számos olyan megoldást lehettek tekeredési problémáikra, amelyek a stresszfehérjék segítségével kevésbé hatékonyak voltak ugyan, de úgy-ahogy megoldást jelentettek.

Az enzimfejlődés egy későbbi szakaszában, a fehérjék méretének fokozatos növekedése során kerülhetett sor a több fehérjeláncból, alegységből álló enzimek kialakulására. Az összetapadt fehérjeláncokból álló enzimkomplexeket nehezebben veszi el a mai lipid kettősrétegeknél (membránoknál) talán áteresztőbb határoló felszínnel rendelkező, ősi sejt. A nagyobb enzimkomplexek lebontással szembeni ellenállóképessége is nagyobb (Koshland, 1976).

A stresszfehérjék mint a régi fehérjeszerkezet lehetséges mai őrzői

Találhatunk-e olyan fehérjéket, amelyek az ősi (lusta és buta) fehérjék bizonyos tulajdonságait mind a mai napig megőrizték? Ezek a tanúfehérjék igen rossz katalitikus aktivitásúak, igen sokféle szubsztrátot kell kötniük, és az sem árt, ha RNS kötéseire is képesek. Szétnézve a fehérjék között a glikolízis bizonyos ősi enzimeit mellett a stresszfehérjéknek a fehérjeszerkezet kialakulását segítő családja az, amely az előzőekben említett kritériumoknak megfelel. Elképzelhető tehát, hogy ezek az evolúció korai szakaszában megjelenő, igen konzervált szerkezetű fehérjék e korai szakaszra jellemző fehérjetulajdonságok némelyikét meglehetősen változatlansággal mind a mai napig hordozzák.

7.2. A stresszfehérjék mint az evolúciós ugrások segítői

Az előző fejezet végén a stresszfehérjéket mint az állandóság példaképeit, az ősi fehérjeszerkezetek esetleges őrzőit mutattam be. Az állandóság őrei segíthetnek-e a változatosság kialakulásában?

Egyre több adat gyűlik össze annak bizonyítására, hogy az evolúciós ugrásokat valamiféle nagyobb természeti katasztrófa környékén kell keresnünk. 2,4 milliárd évvel ezelőtt a Föld óceánjai szinte teljesen befagytak (Kirschvink és mtsai., 2000). A többsejtű élőlények megjelenésének időszakában, mintegy 550-750 millió évvel ezelőtt, a Föld ugyancsak jópár óriási eljegesedésen (-50 °C) és masszív felolvadáson (+50 °C) ment keresztül (Hoffman és mtsai., 1998; Hoffman és Schrag, 2000). A modern emlősök megjelenésének időszakában, körülbelül 55 millió évvel ezelőtt pedig egy gyors felmelegedés zajlott le (Katz és mtsai., 1999). Az azóta eltelt időszak is óriási hőmérséklet-ingadozásokkal járt (Kukla, 2000; Lear és mtsai., 2000). A környezeti katasztrófákra adott evolúciós változásokat általában a fajösszetétel szintjén szokták magyarázni. A megváltozott körülmények (a földméretű környezeti stressz) számos faj kipusztulásához vezetnek, és így utat nyitnak néhány, addig háttérbe szorult faj gyors terjeszkedéséhez. Vajon nem lehetséges-e az, hogy egy fajon belül a túlélésért folytatott küzdelem valamilyen ugrásszerű fejlődésben nyilvánuljon

meg? Csak és kizárólag az egész Föld genetikai változatosságában bízhatunk? (Ameddig még bízhatunk...) Másban nem?

1998-ban *Suzanne Rutherford és Susan Lindquist* (Rutherford és Lindquist, 1998) kísérletei találták meg a molekuláris szintű okát annak, hogy masszív környezeti stressz egy adott fajon belül is evolúciós ugráshoz vezethet. Ráadásul ezek az evolúciós ugrások a stresszfehérjék közreműködése nélkül nem lennének elképzelhetők. Mi történik ilyenkor? Minden populáció egyedei számos olyan mutációt hordoznak génállományukban, amelyeknek genetikai szakkifejezéssel élve „nem okoznak fenotípusos változást”, azaz a DNS megváltozása, a mutáció, a hordozó egyed külső tulajdonságaiban nem jelentkezik. Molekuláris szinten nagyon gyakran ez úgy valósul meg, hogy az adott mutációt hordozó fehérje meghibásodik ugyan, de a hibát a stresszfehérjék áldásos működése kijavítja. A stresszfehérjék tehát a mutációs változásokat (az elemi evolúciós lépéseket) pufferni képesek: a stresszfehérjék működése nyomán ezek a lépések kívülről nem látszanak. A külsődleges változások közül a legszembetűnőbbek azok, amelyek az adott egyed külső megjelenését, alakját érintik. A külsődleges jegyeket meghatározó embrionális fejlődési folyamatokat irányító molekuláris szintű lépéseket jelenleg is intenzíven kutatják. Annyi az eddigi ismeretek alapján is elmondható, hogy változatos jelátviteli rendszerek ki-be kapcsolása kell ahhoz, hogy valakinek a keze, a lába, az arca, a háta éppen olyan legyen amilyen.

A stresszfehérjék részvételét a jelátviteli folyamatokban a 4.3. fejezetben foglaltam össze. Kiderült, hogy leginkább a Hsp90 az a stresszfehérje, amelyik számos jelátviteli komponenst tart aktiválódásra képes állapotban mindaddig, ameddig a jel meg nem érkezik. Ha az embrionális fejlődés során a fejlődő szervezetet erőteljes környezeti stressz éri, a Hsp90 „nem ér rá” a jelátviteli pályákkal foglalkozni, mert az embrió sejtjeiben termelődő tönkrement fehérjék javításával van elfoglalva, illetve azzal, hogy javítható állapotban tartsa őket. A Hsp90 segítő, karbantartó szerepe nélkül az embrió szervecskéinek alakját meghatározó jelátviteli lépések félresiklanak, mivel mindazon funkcióromboló mutációk érvényre jutnak, amelyeket addig a Hsp90 áldásos javító munkája elfedett. Így a születendő embriók közül sokan korcsok lesznek, hiszen valamely testrészük a szokásostól eltérő lesz. Az eltérés öröklődik mindaddig, amíg a stressz fennáll, és emiatt a Hsp90 javítókapacitása lekötött.

Akármiben is áll a stresszfehérjék mutációrejtő szerepe, e hatás kikapcsolása az érintett egyedek többségének tragédia, hiszen vakon, fél kézzel stb. születnek. Az egész populációnak viszont az egyedek hirtelen elötörő ugrásszerű változatossága a túlélés záloga, hiszen a populáció addigi formája az addigi (stressz előtti) életfeltételekhez volt igazítva, a megváltozott feltételek (az addigiakhoz képest: stressz) viszont már egy másfajta formát igényelnének. Ha viszont a változatos mutánsok között születik néhány, amelyik életképebb, az a saját előnyösnek bizonyult mutációját tovább örökíti bizonyára nagyszámú utódaiban. Röviden összefoglalva ez volt a tanulsága a *Suzanne Rutherford és Susan Lindquist* (1998) által közölt, mérföldkönek számító munkának.

????



Képes-e a többi stresszfehérje az evolúciós ugrások elősegítésére?

Mázlink van tehát. Akár gyökeresen felforgathatjuk a földi klímát, az emberi faj valószínűleg akkor is fennmarad. Bár lehet, annak az embernek majd stresszfehérjéink másirányú elfoglaltságai miatt nyolc, kitinnel fedett lába lesz, hogy a ciános, savas szennyvizeken jobban át tudjon kelni. Ha az utódok esetleg nem is így gondolják, az úkapák szempontjából a szemétdobáló, benzinpufogató pazarlásért biztosan méltányos ár.

El kell-e mennünk a földtörténeti régmúltba vagy a környezetpusztító ember méltán megérdemelt jövőjébe ahhoz, hogy a stresszfehérjék váratlan elfoglaltsága által felgyorsított evolúciót találjunk? Nem. Elég kicsit magunkba mélyedünk. És itt nem valamiféle lelki gyakorlatra invitálom az olvasót, hanem arra, hogy gondoljon bele a beleiben élő milliárdnyi baktérium életébe. A változatos stressz (a gazda hol ezt zabál, hol meg amazt) tetemes evolúciós nyomást jelent. Ráadásul a versenytársak is mindig változnak, mert az új élelem mindig új baktériumokat is hoz magával. Bármely fertőző ágens, legyen az baktérium vagy gomba, hasonló kényszerevolúción megy át a mi saját áldásos közreműködésünk eredményeként. Gyógyszereink, pláne antibiotikumaink csak fokozzák ezt a helyzetet. Mi tenyésztjük ki saját ellenségeinket. Legyőzésükre irányuló elkeseredett és türelmetlen küzdelmünkkel újabb és újabb esélyt adunk nekik arra, hogy ők győzzenek le minket.

Az emberi szervezetben zajló stressz-szülte kényszerevolúció másik példájáról már a 6.8. fejezetben szó esett. A fejezetben részletesen elemeztem mindazokat a stresszhatásokat, amelyek rákos sejteket ezen sejtek önpusztító életformája, a szervezet saját védekező mechanizmusai, és az orvostudomány egyre gyarapodó fegyvertára miatt érik. Ha valamilyen sejtnek a stresszválasza gőzerővel bekapcsol a szervezetünkben, akkor az a rákos sejté. Ezzel azonban a rákos sejt azt is eléri, hogy minden további mutációja azonnal élesben megy: a stresszfehérjék csillapító hatása nélkül rögtön hatni kezd. Sugárkezeléssel, kemoterápiával megöljük a burjánzó sejtek döntő többségét. A baj csak azzal a néhányal van, amelyik esetleg marad. Mert ez a pár gonoszul ellenálló sejt annyit már nem kapott a gyilkos hatásokból, hogy elpusztuljon, de annyit bizonyára, hogy további mutációk keletkezzenek benne, és a stresszfehérjék elfoglaltsága miatt ezen mutációk közül néhány azonnal megmutassa „áldásos” hatását. Így a rákos sejtek maradéka gyorsított kényszerevolúción megy keresztül, amelyben sokkal pusztítóbbá válhat, mint az eredeti sejt volt, ahol az osztódási folyamatot elindító első néhány mutáció keletkezett. Így ebben a fázisban már csak az immunrendszerben bízhatunk.

A stresszfehérjék tehát nemcsak a mai életünk fennmaradásában, a földi élet kialakulásában voltak nélkülözhetetlenek, hanem szerepük, létük szükségesnek tűnik abban a folyamatban is, ahogy a földi élet mai szemet gyönyörködtető vagy éppen lelket nyomorgató változatossága kialakult. A továbbiakban az evolúciós ugrások egyikét, az eukarióta szerveződések kialakulását elemzem abból a szempontból, hogy a stresszfehérjéknek lehetett-e valamilyen szerepük ebben a folyamatban.

7.3. Stresszfehérjék és az eukarióták kialakulása

Az evolúció során az eukarióták másfél milliárd évvel ezelőtti kialakulása igen nagy fejlődést indított el. Az eukarióták színrelépésével lehetővé vált a DNS becsomagolása a sejtmagba. A DNS fokozott védelme, és a mitokondriumok által szolgáltatott energiabőség a DNS hosszának ugrásszerű növekedéséhez vezetett, amely a gének aktiválásának bonyolultabb szabályozását tette lehetővé. A bonyolultabb sejtbeli szervezéséhez nélkülözhetlenné vált a sejtváz, amely a mikrotubulusok és a mikrofilamentumok kifejlődésével a helyváltoztatás fejlett módjait alakította ki.

A stresszfehérjék mint az eukarióták kialakulásának nyomjelzői

Hogyan jött létre az eukarióta sejt? Hogyan lehet egy keletkezési elméletet alátámasztani azon kívül, hogy az ember vesz egy papírt, meg egy ceruzát, és jópofa ábrákat kezd el rajzolni arról, hogy melyik membrán fűződött le melyikről, illetve arról, hogy melyik baktérium zabálta be a másikat pármilliárd évvel ezelőtt?

Az ősi fejlődés lehetséges módozataira adott válasz abban rejlik, hogy megpróbálja az ember összehasonlítani azoknak a fehérjéknek és RNS-eknek a jelenlegi eubaktériumokban, ősbaktériumokban (Woese és Fox, 1977) és eukariótákban létező változatait, amelyek igen nagy hasonlósággal öröklődnek az evolúció során. Így jutottak evolúcióbizonyító szerephez a stresszfehérjék. Aminosavsorrendjük gondos elemzésével valószínűsíthetővé vált, hogy egy eubaktérium szimbiózist alakíthatott ki egy ősbaktériummal, majd ez a szimbiózis bekebelezésben folytatódott. Az ősbaktérium membránja feltöredezett, és az eubaktérium DNS-e átkerült az ősbaktérium DNS-e mellé, a most már sejtmagnak hívható sejtszervecskébe (Gupta és Golding, 1996; Gupta, 1998). A kezdeti szimbiózis okáról és mikéntjéről (ki kit nyelt le) megoszlanak a vélemények: van, aki az energiatermelő folyamatokból kiindulva egy hidrogénzabáló és egy hidrogéntermelő baktérium egyesülésének képzelettel a kifejlődésünket lehetővé tevő nagy evolúciós nászt. A mitokondriumok bekebelezésének idejéről is vita dúl. Előbb volt mitokondrium és utána az ősbaktérium-eubaktérium egybeolvadás vagy fordítva? Jelenleg a válasz még nem teljesen tisztázott, de az egyre valószínűbb, hogy sorrendtől függetlenül a két folyamat között nem telhetett el irtatlanul sok idő (Lopez-Garcia és Moreira, 1999; Martin és Müller, 1998; Vellai és Vida, 1999).

Akárhogy is történt, egyvalamit érdemes észben tartani a vizsgálódások közben: a ma létező, a fejlődés különböző fokán álló baktériumok és más élőlények elemzésével igen sok, és nagymértékben helytálló következtetést lehet levonni, de a 7.1. fejezet elején említett időbeli korlát e munkálatok során is fennáll. Nem tudjuk soha teljesen visszavetíteni a jelenleg tapasztalható génmegoszlásból a régmúltat. *Carl Woese* (1998) még egy ennél is fontosabb tényezőre hívta fel a figyelmet. Mai állapotában az élőlények genetikai állományát befagyottnak véljük, hiszen a nagypapa fotóján látható ló egészen korrektül hasonlít a tegnapi ügetőn megszemlélt pacikra. Ugyanakkor a horizontális géntranszfer, azaz a genetikai állomány folyamatos kicserélődése a különböző egyedek és fajok között ma is állandóan folyik. (Itt az olvasó ne okvetlenül a „Szaporodjatok és sokasodjatok!” intelmére gondoljon, hanem a baktériumok egymás közötti géncseréjére, vagy azokra az úgynevezett retrovírusokra, amelyek még a továbbörökített génállományba is képesek beépülni). Woese arra figyelmeztetett, hogy ez a géncserebere régebben sokkal,

de sokkal intenzívebb lehetett, ami egy idő után megnehezíti a következtetéseket, hiszen az a génállomány, amit ma vizsgálunk, az időben visszafele haladva egyre jobban elmosódik. Ha továbbvisszük a gondolatot, arra juthatunk, hogy a régmúltban (jóval az eukarióták előtt) a teljes élővilág génállománya átjárható lehetett. Így a leszármazási vonalak összegubancolódtak, mivel elegendően hosszú idő alatt egy adott gén bármely vonalról bármely más vonalra átvándorolhatott.

A stresszfehérjék az eukarióták kialakulása során

Az előzőekben azt mutattam be, hogyan segítették a stresszfehérjék az eukarióták kialakulásának megértését. Érdekes azonban egy pillanatra azon is elgondolkodni, milyen kihívást jelenthetett az eukarióta lét a stresszfehérjékre. A kialakulóban lévő eukarióta sejt nagy membránburjánzással, amelyet ma endoplazmatikus retikulumnak hívunk, beengedte magába a külvilágot. A halálosan oxidatív légkör és a gyilkosan magas kalcium-koncentráció ezentúl ott lapult a sejt közepén. Ez egyrészt egy sokkal intenzívebb kapcsolatrendszert tett lehetővé a külvilággal, de ugyanakkor számos veszély forrásává is vált. Nem véletlen, hogy az endoplazmatikus retikulum stresszválasza mind a mai napig olyan sokrétű, és kiemelt fontosságú szerepet tölt be a sejt mozgósításában a veszély elhárítására (lásd 5.3. fejezet).

A másik nagy veszély a mitokondrium bekebelezésével jelentkezett. Ennek egyik része a mitokondrium nagy előnye, az oxidáció maga. Egy ilyen energiatermelő nagyüzem gyárt selejtet is. Az oxigén szabadgyökök formájában sokszor megszökik. A szabadgyökök által előidézett oxidatív károsodás a sejtek rohamos kopását, öregedését idézi elő (6.4. fejezet). Valószínűleg az sem véletlen, hogy a mitokondrium az egyik beindítója az elviselhetetlen stressz esetén a többsejtű élőlényekben kialakuló aktív sejthalálnak, az apoptózisnak.



Mennyire zökkenőmentes az eukarióta sejtet alkotó három baktérium együttélése?

A mitokondrium azonban más miatt is stresszhez vezethet. A mitokondriummal rendelkező sejtek ATP-bőségben éltek vendégoxidációt be nem faló társaikhoz képest (Vellai és Vida, 1999). A sok ATP azonban nem hasznos, az ATP-koncentráció ingadozásai pedig még kevésbé előnyösek. Így az ATP-t kötő, de csak lassan hidrolizáló, nagy mennyiségben jelenlévő stresszfehérjék könnyen lehet, hogy ATP-raktárként, ATP-pufferként is használatosak. Ez egyben összefüggésben áll a 4.2. fejezetben ismertetett rendező szerepükkel, amellyel stresszmentes helyzetben is hozzájárulnak az eukarióta sejt bonyolult szerkezetének stabilizálásához és optimális anyagforgalmához.

8. Ahol a stressz mindennapos: élet extrém körülmények között

Az 5. és a 6. fejezetben azokat az élethelyzeteket tekintettem át, amelyek alkalmat kínálnak arra, hogy a stresszfehérjék aktivizálásával a szervezet mentesüljön a környezet hatásainak káros következményeitől. Mi van akkor, ha a szervezet olyan körülmények között él, amelyek mindig károsak? Kevésbé antropomorf módon fogalmazva: mit lehet tenni akkor, ha az életkörülmények csak nagyon nehezen összeegyeztethetők a Földön kialakult élet szokásos formáival? A válasz számos elemét a következő fejezetekben találja meg az olvasó. A legnagyobb társasági bűnök egyike: előre lelőni a pónt, de így, az olvasóval kettesben, talán megbocsátható, ha a fejezet számomra legnagyobb tanulságát az elején elmondom. A bemutatandó példák bizonyítani fogják, hogy fantasztikus tartalékok vannak a földi alkalmazkodó-képességben. 250 millió éves sókristályban is találtak már életképes baktériumspórát, baktériumok élnek több ezer méter mélyen a földfelszín alatt, és vannak baktériumok, amelyek vidáman szaporodnak felhők jégkristályain (Price, 2000). A példák rámutatnak arra is, hogy az alkalmazkodás csak és kizárólag akkor lehet tartós és sikeres, ha a szerveződések kölcsönösen harmonikus együttélésre rendezkednek be. Különösen igaz ez akkor, ha az egyedi életforma folyamatos veszélynek kitett. Adja ég, hogy minél többen felismerjük ezeknek az igazságoknak a saját életünkre vonatkozó tanulságait is.

8.1. A hőtűrők

A vulkánikus hőforrások, gejzírek, a tenger alatti kitörések hidrotermális áramlatai eddig kevésbé ismert élőlényeknek, a *hipertermofil baktériumok* számos változatának adnak otthont. Hogyan válik az élet elviselhetővé ilyen szélsőséges körülmények között? A túlélést segítő mechanizmusok vizsgálata nemcsak a földi élet keletkezésének jobb megértéséhez, hanem saját szervezetünk jobb megismeréséhez is közelebb vihet minket, megteremtheti a lehetőségét számos ipari-biotechnológiai alkalmazásnak és felkészítheti az emberiséget egy esetleges idegen életforma jobb megértésére is.

Mit kell védelmezni?

Ha az ember arra gondol, hogy az úszómedence kellemes vize helyett száz fok feletti, túlhevített vízbe, esetleg kénsavba, ecetbe vagy a légköri nyomás sokszorosát tartalmazó tartályba kellene ugrania, nem sok esélyt jósolna magának a túlélésre. Ha azonban egy mikroszkóppal megfigyeljük a Yellowstone Nemzeti Park gejzirjeinek vagy a tengermély hőforrásainak környékét, számos vidáman szaporodó baktériumot találhatunk, amelyek szemlátomást igen jól alkalmazkodtak a különleges körülményekhez (Csermely, 1998; 1999c; Madigan és Marris, 1997).

Az 50 foknál nagyobb meleget kedvelő, úgynevezett hipertermofil baktériumok általában a víz forrásához közeli (illetve a mélytengeri magas nyomásviszonyok közepette akár a 100 fokot jóval meghaladó) hőmérsékleten élnek. A legtöbb hipertermofil nem a környezetünkben megszokott eubaktériumok közé, hanem a sokáig ősi baktériumfajtának gondolt, de mára már az eukarióta szervezetek egyik szülőjévé előlépett ősbaktériumok közé tartozik (Woese és Fox, 1977; lásd 7.3. fejezet). Az akár százfokos melegben élő ősbaktériumok működése szempontjából nélkülözhetetlen makromolekulák szinte mindegyikét védelmezni kell. Ilyen magas hőmérsékleten legtöbbször nem az okozza a fő problémát, mint az emberi szervezet sejtjeiben, hogy „Hogyan tudom egy kívánt reakció sebességét megnövelni?”, hanem éppen ennek a fordítottja, nevezetesen, hogy „Hogyan lehet a nem kívánt reakciók sebességét csökkenteni?”. A fejezet további részében néhány olyan tanulságos védekezési módot kívánok bemutatni, amellyel az extrém magas hőmérsékleten élő baktériumok védelmezik a fehérjéiket, RNS-, DNS-molekuláikat, illetve a sejtet határoló membránt.

Fehérjék a víz forráspontjához közeli hőmérsékleten

A víz forráspontjához közeli (illetve néhány esetben akár azt meghaladó) hőmérsékleten élő hipertermofil baktériumok fehérjéi igen erős kémiai bontóhatásnak (leginkább hidrolízisnek) vannak kitéve. Ez ellen a fehérje leginkább a sérülékeny kötések mellőzésével vagy elrejtésével védekezhet. A mellőzés szép példája a fura peptidkötések kialakítására és aggregációra hajlamos glutamin aminosav (6.4. és 6.6. fejezetek) viszonylag kis mennyisége a hipertermofil *A. aolicus* baktérium fehérjéiben (Deckert és mtsai., 1998). Más hipertermofilek enzimeiben az ugyancsak labilis aszparagin és a könnyen oxidálható cisztein hiánya is gyakran kimutatható. Az elrejtés lehetséges módozataira a fehérje-stabilizálás módjait felsoroló 5. táblázatban mutatok be néhány példát (Daniel és mtsai., 1996; Fágán, 1997; Kates és mtsai., 1993; Vogt és mtsai., 1997).

A hipertermofilekre jellemző fehérjék szerkezetének stabilitását sokféle módon lehet biztosítani. Sok esetben a fehérjerészek közötti kötések száma nő. Még többször figyelhető meg az, hogy a fehérje tömöttebbé válik. Egy másik szokásos trükk, hogy a fehérje más molekulákkal képzett komplexek külső merevítő hatása révén stabilizálja magát (5. táblázat). A hőtűrő fehérjékben megnő a hidrofób aminosavak aránya. Ez azzal magyarázható, hogy a hőmérséklet emelkedésével (úgy 70 fokig) a hidrofób kölcsönhatások energiája

is nő. A fehérjeszerkezet tömörsége növelésének további jó példái az α -hélixek módosulásai a hőstabil fehérjékben. E fehérjékben az α -hélixek két végét lezáró „sapka” még a szokásosnál is több extra hidrogénhíddal csökkenti az addigi szabályos, helikális struktúra megtöréséből fakadó sérülékenységet. Az α -hélixek egyenetlen töltéseloszlását pedig a hélixek pozitív részöltésű N-terminális részein felszaporodó negatív töltésű aminosav-oldalláncok egyenlítik ki (Jaenicke, 1996).

5. táblázat. A fehérjeszerkezetet stabilizáló mechanizmusok a víz forráspontjának közelében

Változás	Szerkezet-stabilizálás	Kötés-elrejtés
<i>pótlólagos kötések</i>		
prolingazdag régiók	+	
ionpárok	+	
hidrofób kötések	+	
keresztkötések	+	
<i>tömörebb szerkezet</i>		
tömör fehérjebelső	+	+
hidrofób felszín hiánya	+	+
kilógó hurkok hiánya	+	+
α -hélixek stabilizálása	+	+
<i>komplexek nagy molekulákkal</i>		
fehérje	+	+
DNS	+	+
RNS	+	+
glikoziláció	+	+
<i>komplexek kis molekulákkal</i>		
kálium*	+	
kalcium, magnézium	+	
difoszfo-glicerát	+	+
inozitol-foszfát	+	+

*A káliumkoncentráció akár a szokásos érték húszszorosát is elérheti (Csermely, 1997b és Vogt és mtsai., 1997 nyomán).

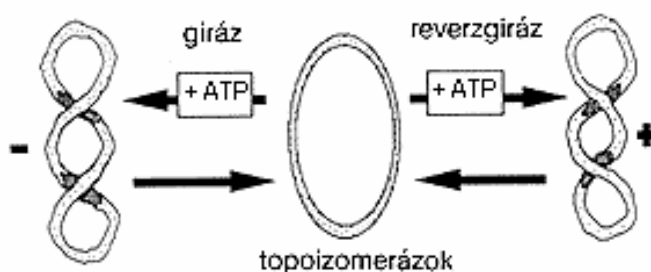
A fokozott stabilitásnak azonban ára van. A stabilizálással kialakuló merev szerkezet nem tudja annyira felgyorsítani az enzim által katalizált kémiai reakciókat, mint azt a hajlékony enzimszerkezet tenné. A merev szerkezet arra is alkalmatlan, hogy az enzim kellő szelektivitását biztosítsa (Csermely, 1997b). Azonban ezek a „károk” csak látszólagosak. A reakciósebesség a magas hőmérsékleten számottevő katalízis nélkül is elegendően nagy. Az enzimreakció szelektivitását pedig azzal biztosítja a sejt, hogy sok esetben az enzim aktív centrumába csak azt a molekulát engedje bejutni, amelyiket az enzimnek át kell alakítania. Ezt éppen azokkal a fehérje-fehérje kölcsönhatásokkal lehet elérni, amelyek amúgy szükségesek a kölcsönható fehérjék szerkezetének magas hőmérsékleti stabilizálásához. Az enzim által átalakítandó anyag az előzőekben leírt, irányított bejuttatását csatornázásnak

hívjuk. A csatornázásról a 4.2. fejezetben már volt szó, a hipertermofilekben betöltött jelentőségére még e fejezet későbbi részében visszatérek.

Sajnos mind a mai napig meglehetősen keveset tudunk a hipertermofilek stresszfehérjéinek fehérje- és sejtvédő szerepéről. Elgondolkodtató, hogy pl. a csaknem forráspontra hevített savas környezetben vidáman tenyésztő *Sulfolobus shibataeban* miért csak a Hsp60-nak megfelelő stresszfehérje dúsult fel nagy mennyiségben és miért nem találjuk meg a Hsp70/DnaK család tagjait (Macario és mtsai., 1999; Trent és mtsai., 1997).

A DNS és az RNS védelme magas hőmérsékleten

A nukleinsavak védelmének egyik legkézenfekvőbb eszköze a guanin-citozin párok arányának növelése. E nukleotidpár ugyanis a másik lehetséges variációval, az adenin-timin (illetve RNS-ben adenin-uracil) párral ellentétben nem két, hanem három hidrogénhíddal kapcsolódik egymáshoz. A pótlólagos hidrogénhidak a nukleinsav két szálának összetapadását nagymértékben megnövelik. Érdekes, hogy várakozásunkkal ellentétben, csak a magas hőmérsékleten élő baktériumok stabil RNS-eiben, de nem a teljes DNS-ében találunk az átlagnál magasabb arányú guanin-citozin párokat (Deckert és mtsai., 1998; Kates és mtsai., 1993). A guanin-citozin pároknak a DNS védelmében betöltött alárendelt szerepe érthetővé válik akkor, ha meggondoljuk, hogy a „szuperstabil”, csak és kizárólag guanin-citozin párt tartalmazó DNS információ-hordozó képessége nulla lesz. Így a hipertermofil baktériumoknak az adaptáció során a DNS és a hírvivő RNS stabilizálásának más útjait is ki kellett találniuk.



17. ábra. A DNS pozitív és negatív szupertekercsei, a reverzgiráz enzim működésének vázlatos mechanizmusa.

Adenozin trifoszfát (ATP) segítségével a giráz enzim negatív, míg a magasabb hőmérsékleten élő organizmusokra specifikus reverzgiráz enzim pozitív szupertekercseket hoz létre a DNS molekulán. Az ATP-vel vagy anélkül működő, szorosabban vett topoizomeráz enzimek akár a pozitív, akár a negatív szupertekercsekkel rendelkező DNS-t a tekercsek nélküli, kinyújtott formába alakítják vissza.

A DNS védelmének lehetséges mechanizmusai

A DNS szerkezetének védelmében eddig két fő mechanizmust sikerült megtalálni. A stabilizálás talán legfontosabb módja a magas hőmérsékleten élő baktériumok egy speciális enziméhez, az úgynevezett „reverzgirázhoz” kötődik. A reverzgiráz működésének alapelvét a 17. ábrán érthetjük meg. A reverzgiráz a kettősszalú DNS molekulában pozitív szupertekercseket hoz létre,

és ezáltal a magas hőmérsékletű élőlények DNS-ét stabilizálja (Kates és mtsai., 1993). A DNS stabilizálásának másik fő eszköze az az eukarióta szervezetek által tökéletesített eljárás, amelyben a DNS szerkezete különböző fehérjék kötésével válik ellenállóbbá. A DNS-stabilizáció oka és célja a két szervezetben más. A hipertermofil ősbaktériumok a magas hőmérséklet lazító hatása ellen védekeznek így, az eukarióta sejtek pedig a bakteriális sejtekéhez képest rendkívül megnövekedett méretű DNS-t igyekeznek az így kialakuló nukleoszómák segítségével jobban bepakolni, illetve az átíródását még szabályozhatóbbá tenni.

A legtöbb hipertermofil DNS-ének szerkezetében további stabilizációt lehetett elérni azzal, hogy a „felesleges” részeket, azaz az egyes fehérjéket kódoló gének második, harmadik és magasabb számú kópiáit, valamint a hosszú, génközötti DNS szakaszokat a sejt az evolúció során sorra elhagyta (illetve azok ki sem fejlődtek). A hipertermofilek génsűrűsége több mint ezer gén egymillió bázispáronként, ez az érték a többi baktériumban 800-900 körül van, az ember „lötyögős” DNS-ében pedig csak húsz (Kates és mtsai., 1993; Patthy, 1999). A száz fok körüli hőmérsékleten már a DNS kémiai módosítását (és/vagy tördelését) okozó reakciókra is fokozottan ügyelni kell. A jónéhány hipertermofil baktériumban megfigyelt magas (akár 2,3 mólos, azaz a mi sejteinkben uralkodó érték több mint hússzorosát elérő) káliumklorid-koncentráció, illetve magnézium- és a cinkionok mind-mind a DNS stabilizációját okozzák. A stabilabb szerkezet a DNS degradálódását is gátolja. Mindemellett azonban a hipertermofileknek minden bizonnyal hatékony DNS-javító mechanizmusokat is ki kellett fejleszteniük.

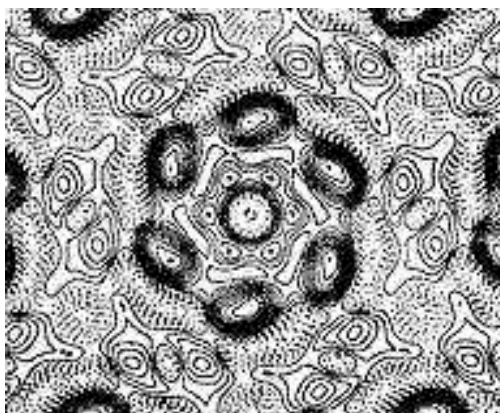
Az RNS-eket stabilizáló mechanizmusok

A sejt életében hosszabb ideig résztvevő RNS-eket (transzfer- és riboszómális RNS) a már említett guanin-citozin feldúsulás mellett (amely riboszómális RNS-ben akár a várt 50 százalék helyett a 70 százalékot is elérheti) különböző kémiai módosítások is védik a degradáció, illetve a szerkezetvesztés ellen. Megfigyelték, hogy a leggyakoribb módosítások a nukleotidok acetilációi és a metilezések. Ezek a módosítások egyrészt az RNS szerkezetét stabilizálják azáltal, hogy kevesebb forgási szabadságot hagynak az egyes nukleotidokban elhelyezkedő kémiai kötések körül. Másrészt viszont a módosítások elérhetőségük csökkentésével, illetve elektronellátottságuk megváltoztatásával védik a különböző kötések a degradációtól. A nukleotidok módosítása mellett a kétértékű kationok (leginkább a magnéziumionok) kötődése is az RNS-molekulák számottevő stabilizálódásához vezet. A szerkezeti merevség ugyan a fehérjeenzimekhez hasonlóan az enzimaktivitású RNS-ek (ribozimek) katalitikus tulajdonságainak csökkenésével jár, de ez a kémiai reakciókat amúgy is felgyorsító, magas hőmérsékletű környezetben valószínűleg a „kisebbik rossz”-nak bizonyult (Kates és mtsai., 1993).

A hipertermofilek sejtfalának különleges vonásai

A baktériumsejtet határoló réteg az emberi sejtekre is jellemző sejtmembrán mellett legtöbbször további külső védőréteggel, sejtfallal is rendelkezik. A sejtfal a hipertermofil baktériumokban is a sejtmembránhoz kötött fehérjék és poliszacharidok komplexe. A fehérjealkotókban gyakran olyan peptidkötések is

előfordulnak, amelyek az α -aminosavak oldalláncairól indulnak tovább. Ezek a szokványos peptidbontó hatásoknak ellenálló kötések tovább fokozzák a baktérium ellenállóságát. A sejtfal (sajnos még a legtöbb hipertermofil organizmusban kevésbé felderített) struktúrái igen szabályos, ismétlődő alakzatokká állnak össze (18. ábra; Kates és mtsai., 1993).



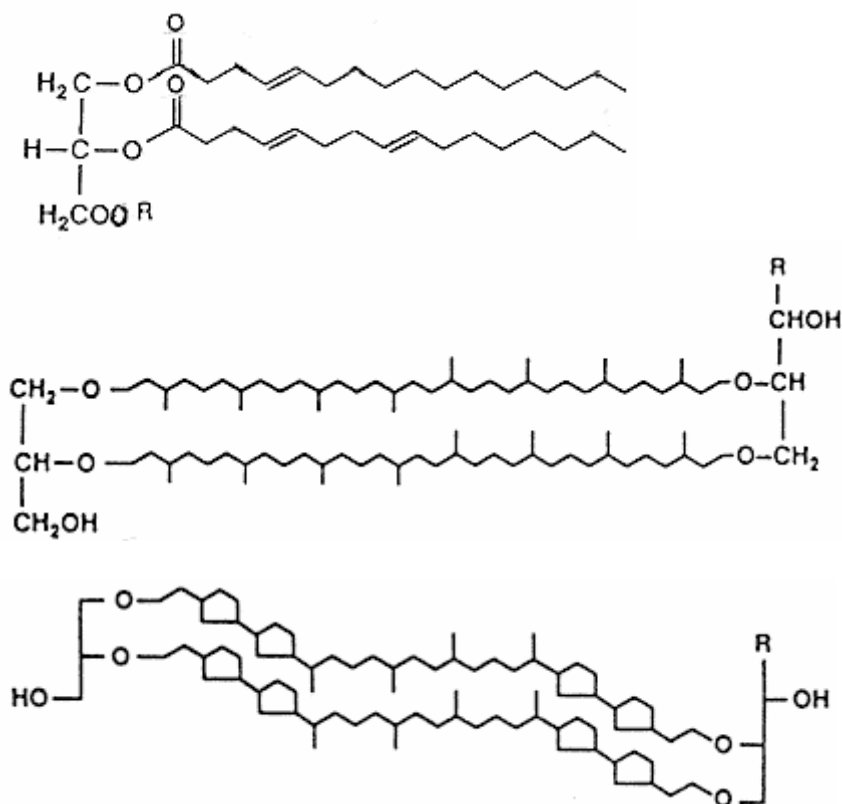
18. ábra. A *Hyperthermus butylicus* baktérium sejtfalának elektronmikroszkópos vizsgálatával kapott elektrondenitász-térkép (Kates és mtsai., 1993 nyomán)

A sejtmembrán adaptációja a magas hőmérséklethez

A sejtfalat, illetve sejtfalszerű struktúrákat azonban nem találhatjuk meg minden hipertermofil baktériumban. A pucér egysejtűek védelmében különösen fontos szerep jut a sejtet határoló sejtmembrán fokozott ellenállóképességének. A baktériumok membránjának átjárhatatlansága az ionok számára nemcsak az elszigeteltség biztosítása miatt fontos, hanem azért is, mert a sejtmembrán két oldala közötti ionkoncentráció különbségek biztosítják azt az energiát, amellyel a baktériumok (az emberi sejtek mitokondriumaihoz hasonlóan) adenozin-trifoszfátot, ATP-t tudnak termelni. Az ellenállóképesség fokozásának egyik legfontosabb eszköze, hogy a sejtmembrán lipidjei döntően nem észter, hanem éterkötésekkel tartalmaznak. Az éterkötések ellenállóak magas hőmérsékleten, és a vulkanikus környezetben gyakori savas pH-n az észterkötésekkel igen gyorsan lebontó hidrolízissel szemben (19. ábra). A lipidek felépítésében résztvevő szénhidrogén-láncokban szinte soha nem találunk a saját sejteinket felépítő lipidekben gyakori (és oly kívánatos, lásd például a szívinfarktus megelőzésére szedett telítetlen lipid tartalmú tablettákat) kettőskötéseket, ezáltal a telítetlen kettőskötések káros és magas hőmérsékleten meglehetősen gyors oxidációjára sem kerülhet sor. A lipidek sajátos felépítése a „kérgek” alkotó glicerinnegatív molekuláknak olyan egyedi, feszített alkatot kölcsönöz, amelyet a más élőlények által kiválasztott támadó foszfolipáz enzimek nem ismernek fel. Ezáltal a speciális szerkezet révén az extrém körülmények között élő baktériumok további evolúciós előnyre tesznek szert.

Magas hőmérsékleten azonban nemcsak az egyes lipidmolekulák kémiai stabilitására kell gondot fordítani, hanem arra is, hogy az egymás mellé kerülő lipidek összessége, a membrán is stabil legyen. Olyan változtatásokat kell tehát kifejleszteni, amely a hőmérséklet növelésével az „elfolyósodó” membránt merevebbé, az „olvasztásnak” ellenállóbbá teszik. Emiatt az éterkötésekben

résztevő glicerín molekulákból igen gyakran a lipidrészletek mindkét végére jut egy-egy, és az így kialakuló tetraéter-vegyületek (19. ábra) még nagyobb ellenállóságot kölcsönöznek a membránszerkezetnek. A telítetlen kettőskötéseknek az előzőekben említett hiánya is a membránszerkezet merevítéséhez vezet. Nemritkán a szénhidrogén-láncokba ciklopentán gyűrűk ékelődnek be, amelyek tovább csökkentik a lehetséges rotációk számát és ezáltal merevítik a kialakuló membránszerkezetet. (19. ábra). A lipidek glicerínmolekuláihoz gyakorta cukorkomponensek és foszfát-, valamint szulfátsoportok kapcsolódnak, hogy az extrém savas közeg fokozott polaritásához a kellő átmenetet megteremtsék (Kates és mtsai., 1993).



19. ábra. Az emberi sejtek membránjára jellemző lipidek (felső képlet) összehasonlítása a hipertermofil baktériumokban megtalálható lipidekkel (alsó két képlet)

A hipertermofil baktériumok mindkét oldalukon keresztkötésekkel ellátott lipidjei sokkal merevebbek az emberi lipideknél

A sejtszerkezet sajátosságai

Amint azt már korábban említettem, a hipertermofileknél, az igen magas hőmérsékleten nem a kívánt reakciók felgyorsítása, hanem a mellőzendő reakciók elleni védelem jelenti a legnagyobb gondot. Emiatt a szervezetünk sejtjeiben megszokott anyagcsereutak egymás után következő enzimeinek egymáshoz sokkal szorosabban kell kapcsolódnak, mint az a jelenleg szokványos földi hőmérsékleten élő sejteknél megszokott. Előáll tehát a 4.2. fejezetben már említett csatornázás jelensége. Csatornázással meg lehet akadályozni, hogy egy reakcióláncba tartozó köztitermék „elkóboroljon”, és valamely versengő reakcióban felhasználódjon vagy valamely bomlási folyamat áldozata legyen.

Külön mechanizmusokkal kell azokat a molekulákat védeni, amelyek igen sok reakcióban vesznek részt, de egyszersmint igen reakcióképesek. Ilyen molekula például az adenzin-trifoszfát, az ATP, amelynek a féléletideje védelem nélkül csupán 1 másodperc lenne a hipertermofilek szokásos hőmérsékletén (Jaenicke és Závodszy, 1990). A csatornázás által nyújtott védelem mellett a hipertermofilek azzal is védekeznek az ATP gyors elbomlása ellen, hogy számos reakcióban, így például a glikolízisben az ATP-t a kevésbé bomlékony, de szintén nagy energiájú adenzin-difoszfáttal (ADP-vel), illetve pirofoszfáttal helyettesítik.



Milyen szerkezeti elem segíti a csatornázást a hipertermofilekben?

A csatornarendszernek a működtetésére általában, így az emberre jellemző sejtekben is, különböző enzimkomplexek szolgálnak. A hipertermofil ősbaktériumokban a szokásosnál is magasabb szervezetségnek olyan körülmények között kell létrejönnie, amikor az eukarióta szervezetekben megszokott vázrendszer szokványos elemei (aktin, tubulin) még hiányoznak. Így nem csoda, ha a hipertermofilek stresszfehérjéi, elsősorban a legnagyobb mennyiségben jelenlévő Hsp60, fokozott filamentumképzéssel hívják fel magukra a figyelmet (Trent és mtsai., 1997). A hipertermofilek stresszfehérjéi valószínűleg a 4.2. fejezetben említett citoplazmatikus hálózat stabilabb, és ezért könnyebben azonosítható változatát alkotják.

A szimbiózis mint a túlélés segítője

A mostoha körülményekkel nagyon sok élőlény nem egymagában, hanem egy többé-kevésbé szoros társulás részeként birkózik meg. Ennek egyik példjaként 46 fokok forrásokból olyan baktérium—élesztő csomagokat izoláltak, amelyben a baktérium tiamint eresztett a tápfolyadékba. A tiamin növelte az élesztő osztódási sebességét és hőtűrőbbé tette az élesztő sejtjeit. Az élesztő viszont „cserébe” tápanyaggal látta el a baktériumot (Rikhvanov és mtsai., 1999).

Még szorosabb egymásrautaltság tapasztalható a mélytengeri hőforrások⁶ lakói között (Csermely, 1999c). A több ezer méter mélyen elterülő tengerfenék általában halott, üres. A földkéreg repedéseinél azonban forró és ásványi anyagokban gazdag vízáramlatok törnek fel. Az ilyen mélytengeri hőforrások környékén számos baktériumfaj alkalmazkodott a hőforrás környékének változatos életfeltételeihez. Ezek a baktériumok sokszor vastag párnát alkotnak a hőforrást körülvevő sziklákon. A sűrűsége jellemző, hogy egy grammnyi sziklatörmeléken akár százmillió baktérium is megtelepedhet. Így nem csoda, hogy a baktériumok gazdagsága fejlettebb állatokat is eltart. Az élő anyag teljes sűrűsége elérheti a négyzetméterenkénti 30 kg-ot is, ami a szokásos tengerfenéki „életsűrűségnek” csaknem ezerszerese.

A hőforrások környezetében a víz nagy sebességgel áramlik tova. A feltörő víz a kisebb élőlényeket, így a baktériumokat hamar elsodorja. Emiatt a baktériumok igyekeznek olyan gazdát találni, amely védelmet biztosít az elsodródás ellen. A legérdekesebb és egyben leggyakoribb gazdaszervezet a csőféreg. A kifejlett csőféreg körülbelül 4 cm átmérőjű, a sziklához szilárdan

rögzült, rugalmas, fehér cső lakója, amelybe veszély esetén a féreg tollcsomónak nevezett felső része visszahúzódik. Az ily módon féltve őrzött, a hemoglobintól vörös színű tollcsomó hozzávetőleg negyedmillió apró szálacskából áll, amelyek az anyagcserét biztosítják a féreg keringési rendszere és a külvilág között. A cső és a tollcsomó együttes hossza elérheti a négy métert is. A féreg növekedési sebessége évente akár 1 m is lehet. A felnőtt féregnek sem szája, sem hasa, sem bele, sem ürítőnyílása nincs. Ezzel szemben az állat testtérfoogatának 90 százalékát olyan, bakteriocitává módosult sejtek alkotják, amelyekben a hőforrás környékén élő baktériumok tömegei telepedtek meg. Bakteriocitákat a gyermekféregben még nem találhatunk. Az életének kezdeti stádiumában még „normális” (tápcsatornás) férget a későbbi életéhez nélkülözhetetlen baktériumoknak meg kell fertőzniük. A baktériumoknak a kifejlett csőféreg specializálódott vérkeringése szállítja a lebontandó anyagokat, és a sejt nyugalma adja az elsodródástól és a hirtelen hőingadozásoktól védett belső körülményeket. A baktériumokat oltalmazó féregnek pedig a baktériumok termelik meg mindazt a szerves anyagot, amelyre a továbbfejlődése szempontjából szüksége van. Látható, hogy ez az együttélés igen sikeres. Bizonyosság erre az is, hogy a hőforrások mellett zuhanyzófülkényi területen akár kétszáz csőféreg is él (Gaill, 1993).



A mostoha körülményekhez a hőforrások közösségének tagjai igen jól alkalmazkodtak. A csőféregben található hemoglobin oxigénszállító hemje a hőforrások környékén gyakori kénhidrogénre nem érzékeny. Ugyanakkor a hemoglobinfehérjén a hemtől független, magas affinitású kénhidrogén-kötőhely is található, amely úgy képes a kénhidrogént megkötni, hogy az akár százszorosára is feldúsulhasson a csőféreg bakteriocitáiban. A bakteriocitákban élő baktériumoknak ez nagyon előnyös, ugyanis számukra a kénhidrogén az egyik legfőbb táplálékforrás. A hemoglobin igen aktív kénhidrogén-kötőhelye arra is alkalmas, hogy szállítás közben a kénhidrogén ne mérgezze meg a féreg ugyancsak hemtartalmú citokróm fehérjéit, amelyekben a hemoglobinban alkalmazott módszer (a hem kénhidrogénre történő érzéketlenítése) a funkcióvesztés miatt nem használható. Az a találmány, hogy a kénhidrogént és az oxigént a csőféreg hemoglobinja elkülönítve szállítja, arra is jó, hogy megakadályozza a kénhidrogén spontán oxidációját. Ha ez megtörténne, a csőféreg a bakteriociták baktériumainak a legfontosabb energiatermelő folyamatát pazarolná el. A hatékonyság növelését okozza, hogy a hemoglobinmolekula a szokásos (például emberben is előforduló) hemoglobinnál körülbelül 15-ször nagyobb. Az ellenállóság fokozására az egyes fehérje alegységeket keresztvidak kötik össze és merevítik tovább (Gaill, 1993).

A csőféreg sokméteres, de ugyanakkor hajlékony csövének ellenállósága külön figyelmet érdemel. A cső fala a rovarok felépítésében is gyakori kitinnek egy speciális változatából áll. A szokásos kitinben az alkotóelemek (az N-acetil-glukózamin egységek) úgynevezett „alfa” térállásban kapcsolódnak össze. A csőféreg csövében a térállás „béta”. Ennek érzékeltetésére, hogy ez az ellenkező térfélről történő kapcsolódásban megnyilvánuló kicsiny különbség mekkora előny az ellenállóság szempontjából, hadd hozzam a könnyen oldható keményítő és az olvasó kezében tartott könyv papírjában is megtalálható cellulóz példáját, ahol ugyancsak egy ilyen „alfa”-„béta” térállásbeli különbség okozza a cellulóz sokkal nagyobb ellenállóképességét.

A csőféreg egyetlen részét, amely kilóg a cső tetején, a gázcserére szakosodott, vörös tollcsomót speciális kollagén védi. Ez a másfél mikron hosszúságú, 1700 kDa molekulatömegű óriásfehérje szinte minden harmadik aminosavként treonint tartalmaz. A treonin hidroxilcsoporttal rendelkező aminosav, amelyhez a tollcsomó kollagénjében egy, kettő vagy három galaktóz cukormolekula kapcsolódik. A galaktóz-molekulák növelik a kollagén fizikai ellenállóképességét, és védelmet nyújtanak a kollagén-molekula peptidkötéseinek elhasadása ellen is. A csőféreg belső szerveinek kollagénje az emberi kollagénnél is alkalmazott módszert használja az ellenállóság elérésére: prolin aminosavakra hidroxilcsoportot ragaszt (Csermely, 1999c).

A hőforrások lakói elszigeteltségük és kívülről jövő háborítatlanságuk miatt igen hosszú evolúcióra tekinthetnek vissza. Nem csoda, hogy az egymásrautaltság és a hosszú, zavartalan fejlődés az együttélésnek olyan mintaszerű, szimbiotikus példáját fejlesztette ki, mint a baktériumtartályá differenciálódó csőféreg, és a benne lakó sokmilliárd baktérium. A zárt ökoszisztémában kötelező egymásrautaltság egy másik példáját, a mélytengeri hőforrásoktól oly különböző antarktisi vízzárványokban tapasztalható együttélést a következő fejezetben ismertetem. Nagy kérdés, hogy az ázsiai részén túlszaporodó, atlanti részén pedig túlfogyasztó földi népességünk mikor jön rá arra, hogy a Föld is zárt ökoszisztéma, ahol az egymásrautaltság a törvény. Amíg ez bekövetkezik (?) csak azon izgulhatunk, hogy legalább a létező, működő, és a földi túlélést lehetővé tevő ökoszisztémákat ne romboljuk szét, ami a mélytengeri hőforrások bizonyos részének háborítatlanságát kimondó egyezményel hőforrások lakóira legalább részben teljesülni látszik.



A tengerfenék lakói éheznek. A hőforrások lakóit az előzőekben részletezett módon nagyon sok viszontagság éri. Ugyanakkor a többi tengerfenéklakónál mérhetetlenül szerencsésebbek. 1999 májusában jelent meg a *Science* c. folyóiratban az a közlemény (Smith és Kaufmann, 1999), amely igen riasztó képet fest a tengerfenék viszonyainak változásáról a megelőző tíz évben. A tengerfenék hőforrásoktól távol élő lakói közül azoknak, amelyek nem egymást eszik, elsődleges tápláléka a fölülről lepotyogó planktontömeg. Ennek mértéke a tengerek lassú, de biztos melegezése (Roemmich, 1992) miatt olyannyira csökkent, hogy indirekt mérések alapján 1996-ra már a tengerfenék lakóinak 75 százaléka (!) éhezett (Smith és Kaufmann, 1999). (A melegedés miatt a felszíni kevert réteg vastagsága lecsökken, ami a planktontömeg csökkenésével jár.) A nyugati, túlfogyasztó társadalmakhoz büszkén felzárkózó kis hazánkban is jó lenne elgondolkodni azon, hogy minden egyes felesleges gépkocsihasználat, minden égve felejtett villanykörte, hiába elpacsált víz, és sorolhatnám, sok-sok minden kár és baj mellett többek között a tengerfenék lakóinak tömeges éhezését is magával hozza. A cikkben részletezett hőforrásvidékek lakói ez alól persze kivételek. Magunkat ismerve azt kell mondjam: még egy ideig.

A természetes adaptív mechanizmusok felhasználása a gyakorlati életben

Az ipari termelésben felhasznált enzimek összértéke már 1996-ban is meghaladta a 2,5 milliárd dollárt (Madigan és Marrs, 1997). Az ipari enzimek döntő többsége extrém körülmények között is stabil. Termofil enzimeket találunk szinte minden mosóporban. A mai „kőmosott” farmerek követ sose láttak, sajátosan kopott megjelenésüket a termofil „celluláz 103” nevű enzimnek köszönhetik. A szennyező anyagoktól való megszabadulni ma már az extrém körülmények között is aktív enzimek nélkül ugyancsak elképzelhetetlen. A DNS-darabok nagy hatékonyságú felszaporítására használt polimeráz láncreakció (PCR) is egy termofil DNS-függő DNS-polimerázt, legtöbbször a *Thermus aquaticus* baktérium úgynevezett „Taq polimerázát” használja fel a DNS másolására az egyes DNS-megkettőzési szakaszokban. A PCR reakció a biotechnológiai munkálatok alaplépéseként ma már a személyazonosításnak és a klinikai diagnosztikának hazánkban is kiterjedten alkalmazott eszköze. A hipertermofil baktériumok sejtfalának ellenálló, szabályos mintázatai (18. ábra) mint szerkezeti anyagok, illetve mint molekuláris méretű szűrők is alkalmazást nyerhetnek.

8.2. A fagyoskodók

A tengerfenék hőforrásainak az előzőekben bemutatott mostoha viszonyai mellett más extrém körülmények is kedveznek az egymásra utalt, zárt életközösségek kialakulásának. Ilyen az az egyedülálló életközösség, amelyre az Antarktisz McMurdo völgyében fekvő hat befagyott tóban találtak rá (Priscu és mtsai., 1998). A völgyben a leggyakoribb hőmérséklet mínusz húsz fok körüli, és szinte soha nem emelkedik a fagypont fölé. Ugyanakkor a jég rendezettség, és a szilárd körülmények közötti reakciók lelassulása miatt – eddigi ismereteink szerint – a jég és az élet egymással összeegyeztethetetlen. A jégtavak részletesebb tanulmányozása azonban fényt derített arra, hogy a fotoszintetizáló cianobaktériumok és algák, a nitrogénmegkötő baktériumok és számos heterotróf baktérium antarktisi életközössége nem a jégben magában, hanem a jég által közrezárt, mintegy másfél centiméter átmérőjű vízárványokban maradhatott fenn (Priscu és mtsai., 1998).

Hogyan alakulhat ki, és maradhat meg egy vízcsepp a jég közepén? A vízcseppek kialakulását a jégre eső porszemcsék teszik lehetővé. Ezek a részecskék általában sötétek. Így a napsugarak energiáját elnyelve helyi felmelegedést okozhatnak, ami megolvasztja a környező jég kis darabját. Ha ilyenkor a felszíni cseppbe a szél néhány baktériumspórát belepottyant, az élet feltételei – elég mostoha és kezdetleges változatban ugyan – összeálltak. A baktériumokat tartalmazó cseppeket általában a jégfelszíntől mért mintegy kétméteres mélységben lehetett megtalálni. Ez arra utal, hogy a felszíni cseppek a beszáradás, az újrafagyás, és a baktériumok továbbodródása miatt nem válhatnak az élet tartós gazdáivá. Ezzel ellentétben a mélybesüllyedt csepp a szél által behordott baktériumok hatására még növekedésnek is indulhat, hiszen a baktériumok kiválasztásra kerülő anyagcsere-termékei a cseppbe zárt víz fagyáspontját csökkentik. A jég mélyebb rétegeiben a hőmérséklet sem hűl le annyira, mint a felszínen. Ugyanakkor az izolált cseppben a bentrekedt baktériumoknak speciális közösségének kell kialakulnia, egy olyan helyi ökoszisztémának, amely a zártság feltételeinek megfelel. Ez azt jelenti, hogy a

különböző tápanyagokat a baktériumoknak át kell adniuk egymásnak. Bizonyos tápanyagokat persze a cseppbe zárt porszemből is kivonhatnak, de a túlzott mohóság bajt okoz. Ugyanis a csepp még langyosnak sem mondható vendégszeretetét élvező baktériumok számára az antarktisi lét minden évben csak öt hónapig tart. A nyár elmúltával a csepp befagy, és a baktériumkolónia teljes hibernációban tölti a telet, amíg – szerencsés esetben – a tavaszi nap újra fel nem olvasztja a lakhelyüket. Ha azonban a baktériumok a csepp létét okozó porszemet közben felzabálták, az újraolvadásra jóval kisebb esélyük van. Azt hiszem nem ártalmas dolog, ha a fogyasztói társadalom felé kacsingató polgárként egy pillanatra magunkat képzeljük az antarktisi baktériumok helyzetébe, és végiggondoljuk (porszem)fogyasztói szokásainkat. A baktériumok azonban – kényszerszülte módon is – óvatosak. Nem úgy szaporodnak, ahogy a földi ember – nem európai része – mostanában szokott, hanem körülbelül minden második olvadásra időzítenek egy osztódást (azaz évente „felet”, ami még a fagyban lelassult baktériumi időskálán sem mondható elkapkodottnak). Így a csepp kitart, és baktériumi méreteiben a boldog, hosszú – és fagyos – élet őrzője lesz.

Az antarktisi jég azonban nem csak centis cseppecskéket rejteget. 1974-ben fedezték fel az Antarktisz jege alatt található Vosztok-tavat, amely 200 km hosszú és átlagosan 125 méter mély. A tavat 75 kisebb-nagyobb társával együtt a Föld geotermikus energiája védi a befagyás ellen. A Vosztok-tó vízkészlete a Balatonénak sokszázszorosa. A tó a számítások szerint többmillió éve a külvilágtól teljesen izolált, és emiatt egészen meglepő életformákat is megőrizhetett. Megismerésükre azonban még várni kell, mivel – igen bölcsen – a tó fölötti jégbe lyukat fúró kutatók 1996-ban a cél előtt 150 méterrel abbahagyták a munkálatokat attól félve, hogy a Földnek ezt az egyedi, izolált kincsét a fúrt lyukon keresztül befertőzik. Az eddig kifúrt lyuk végén, a 3600 méter vastag jégtakaró alatt (!) azonban a korábban melegebb Vosztok-tóból származó, hosszú ideje jégbefagyott, de még mindig élő baktériumokat találtak (Karl és mtsai., 1999). A jégbeszorult baktériumokat olyan, mikrométeres átmérőjű csatornahálózat tarthatja életben, amelyben híg kénsav és salétromsav kering. A savtartalom miatt a jégbevált hálózaton belül áramló víz nem fagy meg, és így az élet fennmaradása lehetővé válik (Price, 2000). A sok tízezer év óta jégbe fagyott baktériumok azért is érdekesek, mert a földi éghajlat felmelegedésével egyikük-másikuk néha kiolvadhat, és „izgalmas”, új járványok elindítója lehet. (Ilyenkor óhatatlanul az embernek a Föld lelke, Gaia jut az eszébe, akinek bizonyára kezd elege lenni a hatmilliárd környezetrombolóból...)

Mi a helyzet a hozzánk közelebb eső Északi-sarkkal? Sajnos, az Északi-sark élővilága messze nem annyira izgalmas, mint a délié. Az északi poláris jégsapka alatt nincs földdarab, tehát a Vosztok-tóhoz hasonló, „alulról melegített” óriászárvány nem alakulhatott ki. Mivel az Északi-sark sokkal jobban körülvett kontinensekkel, mint a déli, a meleg tengeráramlatok nem tudják annyira elérni, és így nyári felmelegedése, megolvadása sem olyan nagymértékű, mint a Déli-sark bizonyos részeié. Olvadás nélkül, pedig élet sem tud elindulni még abban a cammogó formájában sem, amelyet az antarktisi McMurdo-völgy cseppecskéinek baktériumai produkálnak. Sajnos jég alatti tavakat Grönlandon sem sikerült felfedezni (Price, 2000).

Az eddigi eszmefuttatásokból kitűnt, hogy az aktív élethez víz kell. Az is nyilvánvaló azonban, hogy ez a víz lehet nulla fokos, sőt, nagyobb nyomáson, sózva vagy felhőkben akár még nulla fok alatti is. Hogyan lehet így élni? A válaszhoz szerencsére nem kell megvárunk, amíg a kutatók újra felkeresik a McMurdo-völgyet az Antarktiszon. Az első hidegtűrő baktériumokat tengeri halakból izolálták több mint százötven évvel ezelőtt. Valóban, a nulla fok közelében tenyésztő, úgynevezett *pszichrofil baktériumok* zömét a mélyvizi óceánokban kell keresnünk, amelyek több mint 90 százalékában a hőmérséklet tartósan 5 fok alatt marad (Gounot, 1986). A hidegtűrő baktériumokra azonban jóval közelebb, például a konyhai jégsekreényben is számos példa akad. Tulajdonképpen az elmúlt évszázadban az emberiség is hozzájárult a pszichrofil baktériumok számos válfajának kialakulásához azzal, hogy a bakteriális táptalajnak ideális élelmiszereit a fagyponthoz közelében őrizgeti. Sőt! Jópár hidegtűrő baktérium túléli a magas hőmérsékleteket is, így élelmiszereink szokásos hőkezelésével, majd hűtött tárolásával csak bakteriális vetélytársaiktól szabadítjuk meg őket... A hidegtűrés kialakulásáért mai ismereteink szerint alapvetően két mechanizmus, a sejtek lipidjeinek és fehérjéinek változása felelős.

A hidegtűrés és a sejt lipidjei: membránok és jelátvitel

A fagyponthoz közelében élő sejtek membránjainak „lazább”, fluidabbá kell válniuk ahhoz, hogy a lipidek a hőmérsékletcsökkenéssel együttjáró rendeződését ellensúlyozzák. Ugyanakkor a membránok létének elsődleges okát, az elválasztó funkciót változatlanul be kell tölteniük, azaz odáig nem „fluidizálódhatnak”, hogy lyukakat okozó helyi rendezetlenségek is keletkezzenek rajtuk. A pszichrofil organizmusok membránjai a következő „trükköket” találták ki membránjaik fellazítására:

- gazdagodás cisz-térállású telítetlen kötéseket tartalmazó zsírsavakban;
- a zsírsavak szénláncainak rövidülése;
- elágazó szénláncú zsírsavak kialakítása.

Az elágazásokat metilcsoportok biztosítják, amelyek a lánc végétől számított második és harmadik szénatomra épülhetnek be. A membránok a zsírsavak telítetlenségének növelésével tehetősebbé válnak. A telítetlen zsírsavak a legtöbb baktériumban csak egy kettőskötést tartalmaznak, azonban néhány tengeri hidegtűrő baktérium többszörösen telítetlen zsírsavak feldúsításával is biztosítja membránjai folyékonyágát. A telítetlenség növelése döntően kétféle folyamat révén, a telítetlen zsírsavak újonnan történő szintézisével vagy a telített zsírsavak úgynevezett deszaturáz enzimek által biztosított átalakításával történhet meg. A membránok túlzott fellazulását a transz-helyzetű kettőskötésekkel rendelkező zsírsavak és a membránokba beépülő festékmolekulák akadályozzák meg. Ezek a molekulák mind a membránok szilárdságát növelik (Gounot, 1986).

Hideg hatására a sejtmembrán a növényekben is lazább szerkezetet vesz fel. A membránösszetétel változásai megnyitják a növényi plazmamembránban elhelyezkedő kalciumcsatornákat, így a sejt külső részén lévő kalciumionok a lehűlt sejt citoplazmájába áramlanak. A kalciumszint emelkedése olyan fehérjék szintézisét idézi elő, amelyek segítik a hidegadaptációt. A citoplazmatikus kalciumszint emelkedése fehérjék foszforilációját okozza,

amely a növényi hidegadaptáció még gyorsabb reakcióképességét teszi lehetővé (Monroy és Dhindsa, 1995).

Fehérjék a fagyponthoz közeli hőmérsékleten

A hidegadaptációnak a membránok „karbantartásán” túl a másik legfontosabb kérdése, hogy hogyan tudja a sejt mozgásban tartani a működéséhez szükséges legfontosabb mechanizmusokat az egyre jobban szilárduló környezetben. Ahhoz, hogy a sejt reakcióit katalizáló enzimek a kémiai mozgásokat befagyasztó, hidegebb körülmények között is működőképesek maradjanak, szerkezetüknek a szokásosnál hajlékonyabbnak, flexibilisebbnek kell lennie. Hogyan lehet ezt megvalósítani? A legfontosabb változásokra az alapvető törvényszerűségekből kiindulva is tehetünk néhány jóslást. A fehérjéket összetartó kötések kialakulása (a hidrofób kölcsönhatások kivételével) hőtermelő, exoterm folyamat. Így, a Le Chatelier-elv értelmében, ha hűtjük a fehérjéket, a bennük lévő kölcsönhatások az erősödés irányába tolódnak el, hiszen a kötések kialakulása hőfelszabadulást okoz, ami a hűtést részben kompenzálja. Ezen általános szabály alól egyedül a hidrofób kölcsönhatások lesznek kivételek, mert ezek gyengülésével számolhatunk. Ezek szerint a hűtés következtében megerősödött ionpárokat és a hidrogénhidakat gyengíteni kell az alacsony hőmérsékleti adaptáció során azért, hogy a fehérje hidegen is hajlékony maradjon. Ugyanakkor a gyengítést csak módjával kell alkalmazni, hiszen a fehérjék összetartásában döntő szerepet játszó hidrofób kölcsönhatások automatikus csökkenése miatt a túlzott gyengítés a fehérje szétesését eredményezheti (Gerday és mtsai., 1997; Vajda, 1999).

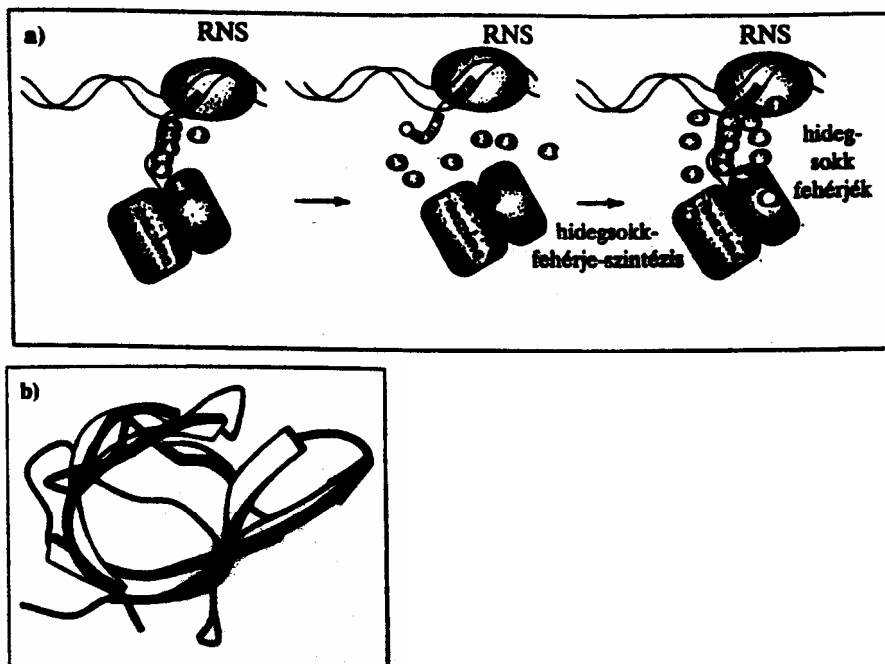
A pszichrofil organizmusok fehérjéiben az elméleti megfontolásokkal összhangban lévő változásokat tapasztalhatunk. Az ionpárok mennyisége csökken, és a gyengülő hidrofób kölcsönhatások miatt a fehérjék hidrofób magja is kisebb, lazább lesz, mint az ugyanolyan funkciót betöltő mezofil (szokványos hőmérsékleten honos) társaiké. A fehérjeszerkezet további lazulását a pszichrofil élőlény a merevítő hatású prolin aminosavak elhagyásával, és rugalmas szerkezetű glicin aminosavak, valamint hurokszerű struktúrák beiktatásával éri el. A környezetükkel akár öt kölcsönhatást is létesítő, így merevebb szerkezetet eredményező arginin aminosavak pedig a csak egy hidrogénhíd kiépítésére képes, így lazább lizinekre cserélődnek ki. Néhány pszichrofil fehérjében a szerkezetet még az azonos töltésű aminosav-oldalláncok feldúsulásával előálló taszítóerő is tovább lazítja (6. táblázat).

6. táblázat. Fehérjék alkalmazkodása a fagyáspont közelében

Változás
<i>csökkent mennyiségű szerkezeti elemek</i> ionpárok prolingazdag régiók kölcsönható aromás oldalláncok kiterjedt, tömör hidrofób fehérjemag
<i>feldúsult szerkezeti elemek</i> glicin lizin az arginin helyett

A 6. táblázatban összefoglalt módosítások hatására a pszichrofil enzimek katalitikus hatékonysága a sokszorosa annak, mint a szobahőmérséklethez közeli klímában működő (mezofil) társaiké. A katalitikus hatékonyság növelésének azonban ára van: a hidegtűrő enzim rugalmas szerkezete kisebb stabilitást eredményez, így a hidegtűrő enzim sok esetben már szobahőmérsékleten is tönkremegy. Az enzimreakciók közben tapasztalható szerkezeti változások a pszichrofil enzimekben jóval kevesebb kötést bontanak fel a fehérjén belül, mint a saját sejtjeink enzimatisz mechanizmusai (Gerday és mtsai., 1997). Erre azért van szükség, mert a kötésfelbontás hőközlés árán valósulna meg, ami a nulla fokon még enzimatisz méreteken is luxusnak minősül.

Fagyponz közelében a molekulák oldatbeli vándorlása, a diffúzió csak cammogva megy. Emiatt szinte bizonyos, hogy az enzimek egymáshozcsatolásából fakadó, a 4.2. és 8.1. fejezetekben már említett csatornázás a hidegtűrő sejtben sokkalta inkább jelen van, mint saját sejtjeinkben, azonban e feltételezések bizonyításához a konkrét, kísérleti bizonyítékok még hiányzanak. A molekulák egymásratalálását segíti a 3.5. és 4.1. fejezetekben már említett trigger-faktor, amely a bakteriális fehérjék membránbajutását, szekrécióját, illetve a Hsp60-hoz kerülését irányítja. A lehűlő sejt lassuló diffúziójának ismeretében nem csoda, hogy a trigger faktor egy hidegsokkfehérje, amely a sejtnek fokozott védelmet nyújt a fagyoskodás alatt (Kandror és Goldberg, 1997).



20. ábra. A hidegsokk fehérjék mint RNS-tekerő enzimek.

20.a. ábra. A hírvivő RNS-ek többsége hidegsokk hatására az eredetileg jelenlévő (az ábrán kis gömbbel jelölt) hidegsokkfehérjéket ledobja, betekeredik, és ezáltal leválik a riboszómáról. A hidegsokk után szintetizált

hidegsokkfehérje többlet kitekeri a hírvivő RNS-t, kötődik hozzá, és a fehérjeszintézis újraindul (Graumann és Marahiel, 1998, nyomán). 20.b. ábra. A hidegsokkfehérjék RNS- és DNS-kötésben részt vevő, jellemző szerkezete (Schindelin és mtsai., 1993 nyomán).

Hidegsokkfehérjék

Mint ahogy azt már korábban, a növényi membránok adaptációja során említettem, lehűlés hatására változatos védőmechanizmusok indulnak be a sejten belül, ilyenek többek között az ismertetett membránváltozások. Fehérjeszinten egy sajátos fehérjecsaládnak, az 5.1. fejezetben már említett hidegsokkfehérjék családjának a felszaporodása is megfigyelhető. A család tagjai változatos védőfunkciókat látnak el. A legjobban ismert bakteriális hidegsokkfehérje, a CspB (Graumann és Marahiel, 1998; Jones és Inouye, 1994) például az RNS-ek kitekerésére szakosodott (20. ábra). Ahogyan azt a fehérjeszerkezet leírásánál már említettem, hidegben a hőfelszabadulással járó kötések kialakulása kedvezőbbé válik. Így az RNS két szálát összetartó hidrogénhidak is erősebbek lesznek, azaz a melegben egyszálú RNS a hidegben kettőszálúvá tekeredik. Ez nem is lenne nagy baj, hiszen ezáltal az RNS szerkezete stabilabb lesz, csak így azok a folyamatok, például a fehérjeszintézis, amelyek egyszálú RNS-t igényelnek, leállnak. Emiatt válik a CspB-hidegsokkfehérje mennyiségének növelése igen fontossá, ugyanis ez a fehérje szét tudja tekerni az RNS két szálát, és a keletkező egyedi szálakhoz tapadva az egyszálú RNS-t is stabilizálja. Ugyanakkor a riboszóma affinitása a hírvivő RNS-hez a CspB-fehérje affinitásánál nagyobb, így az átmeneti védelmet biztosító CspB-fehérjéket a riboszóma a hírvivő RNS-ről leszorítja, és az új fehérjék szintézise a hideg ellenére zavartalanul folytatódhat (Graumann és Marahiel, 1998).



Mi védi a hidegsokkfehérjék hírvivő RNS-ét a betekeredéstől?

Az RNS betekeredése mellett természetesen a DNS betekeredése is megfigyelhető hidegsokkban. Így nem meglepő, hogy a hidegsokkfehérjék számos DNS-sel összefüggő szabályozó folyamatban (így például saját szintézisük felgyorsításában) is kulcsfontosságú szerepet játszanak. Emellett az aktinhálózat átrendezése, a már említett membránfolyósítás, valamint minden bizonnyal számos más, eddig még fel nem derített mentőfunkció is feladatuk (Graumann és Marahiel, 1998).

Hogyan érzékeli a sejt a hideget? Mi indítja be a hidegsokkfehérjék szintézisét? A kérdésekre jelenleg biztos válaszunk még nincs. A növényeknél említett „hidegindukálta” jelátviteli utak (membránszerkezet-változás, kalcium beáramlás, fehérjefoszforiláció) mellett az 5.2. fejezetben említett alarmonok közé tartozó polifoszforilált guanozin (ppGpp, ppGppp, ahol a „p” foszfátcsoportot, a „G” pedig guanozint jelöl) felszaporodását is észlelték. Egyes elméletek a riboszómákat vagy a membránokat tekintik a sejt hidegérzékelőjének, azonban a sejt fagyponthőmérsékletének végleges megtalálása az 5.3. fejezetben leírt hősokkos hőmérő felleléséhez hasonlóan a jövő feladata.



Mi a hidegsokkfehérjék szintézisének kezdeti jele?

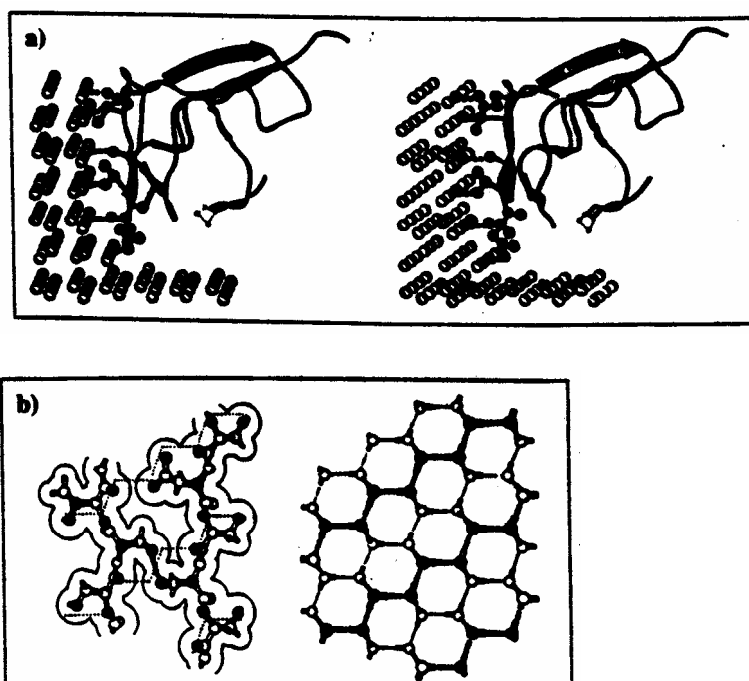
Hűlés során a sejt számára az energia megőrzése még a szokásosnál is fontosabb lesz. Így a sejt a szokásos fehérjeszintézist lezárja, hogy ezáltal se csökkentse tovább a megcsappant energiakészleteket. Ilyen körülmények között, a hősokkfehérjék keletkezésének mechanizmusához hasonlóan (5.3. fejezet) a hidegsokkfehérjék az egyedüliek, amelyek a keletkezése úgy-ahogy zavartalanul folyik. A hidegsokk és a hősokk között elég sokrétű kapcsolat figyelhető meg, hiszen a hidegsokk utáni visszamelegedést a sejt sokszor hősokk-ként éli meg, és számos hősokkfehérje hidegsokkfehérjeként is ismeretes. A hidegsokkfehérjeként „vendégszereplő” hősokkfehérjék ugyanúgy a többi fehérje helyretekérésében vesznek részt, mint hősokkban. Ha a sejtet csak fokozatosan hűtjük, a hidegsokkfehérjék helyett az úgynevezett hidegadaptációs fehérjék keletkezése fokozódik. Ezeknek a fehérjéknek a jellemzése azonban jelenleg csak igen kezdeti stádiumban van.

A jég mint halálos veszedelem és mint hatékony fegyver

Mint ahogy azt már a fejezet bevezetőjében említettem, a jégtömbök és az élet mai tudásunk szerint összeegyeztethetetlenek. Emiatt a különböző sarkvidéki és mérsékelt égövi élőlények és a teleket átvészelni kénytelen növények változatos eszközöket fejlesztettek ki sejtjeik belső jegesedésének gátlására. A legegyszerűbb ilyen eszköz, ha a sejt feltölti magát különböző kis molekulákkal (cukrokkal, glicerinnel, aminosavakkal), amelyek egyrészt a sejtes folyadék fagyáspontját is csökkentik, másrészt a jégkristályok kiválását is késleltetni tudják. A kis molekulák hatására azonban megnövekszik az ozmózisnyomás, aminek hatására a beáramló víz a sejtet szétrepesztheti. Így a kis molekulák halmozásánál hatékonyabb védelemre is szükség van. Erre szolgálnak a jegesedésgátló fehérjék (21.a. ábra). Ezek a fehérjék periodikusan ismétlődő cukor-, illetve aminosav-szerkezeteket tartalmaznak, amelyek a képződött kisebb jégkristályokkal kölcsönhatásba lépnek. Ugyanakkor a periodicitás hidrofób aminosavakat is magában foglal, illetve nem tökéletes. Így a jegesedésgátló fehérje fogva tartja a kis jégkristályokat, illetve jéghibákat generál, és megakadályozza a kristályok további növekedését (Jia és mtsai, 1996; Worrall és mtsai, 1998). Ugyanakkor az a jég, amely ennek ellenére mégiscsak növekedésnek indul, a jegesedésgátló fehérjék hatására a szokásostól eltérő kristályszerkezetben nő. A szokatlan jég szerkezet fagyáspontcsökkenést okoz, azaz a jegesedésgátló fehérjék mellett a jég kiválása emiatt is nehezebben indul meg (Vajda, 1999).

A jég keletkezése azonban meglehetősen magas aktiválási energiát igényel, így a csapvíz akár $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ -ra is lehűthető jégkiválás nélkül, és a kisméretű vízcseppek még $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on is folyékonyak maradhatnak. A „szuperhideg” vízben a jégkiválás robbanásszerű lehet, és a keletkező nagy jégkristályok igen komoly károkat okozhatnak (Gurian-Sherman és Lindow, 1993). Így jónéhány béka és teknős az eddigiekben leírtakkal ellentétes taktikát követ. Nem a jég növekedését gátolja, hanem kisméretű jégkristályok keletkezését segíti elő speciális „jegesítő” fehérjék szintézisével. A békák mikrojegesedése olyan

nagymértékű lehet, hogy teljes testfolyadékuknak akár 65 százaléka is jéggé alakul (Csermely, 1999b).



21. ábra. Jegesedésgátló és jegesítő fehérjék.

21.a. ábra. A jegesedésgátló fehérje jégkötő szerkezete. A lapos jégkötő felszín valószínűleg a jégkristály egy sarkát fogja meg (Jia és mtsai., 1996 nyomán).

21.b. ábra. A jegesítő fehérjék ismétlődő β -redős szerkezete (balra) nagymértékben átfed a formálódó jégkristályok rácsszerkezetével (jobbra) (Kajava és Lindow, 1993 nyomán).

A jegesítő fehérjék, a jegesedésgátló fehérjékhez hasonlóan periodikus szerkezetűek, csak itt nem hidrofób, hanem szerin és aszparaginsav oldalláncok ismétlődését figyelhetjük meg. Ezek az aminosavak hidrogénhid kötésekkel segítik a fagyáshoz készülődő vízmolekulák rendeződését (21.b. ábra; Kajava és Lindow, 1993). A jegesedés megindításában a jegesítő fehérjéken kívül még továbbrendező membránok is szerepet játszanak. A sejtek jegesítő fehérjéiket általában a sejtjen kívülre szekretálják, így a jegesedés a sejtközötti folyadékban indul meg, ahol jóval kisebb károkat okoz. A növényi sejtek ilyenkor vízkészletük jelentős részét is kipumpálják. Így a belső sejt-folyadékban oldott anyag koncentrációja megnő, és ezáltal a sejt-folyadék fagyáspontja is csökken. A jegesítő fehérjéket néhány baktérium a növények elleni harcában is kamatoztatja. Ha ilyen baktériumok támadják meg a jegesedésnek ritkán kitett területeken élő, fagyásra érzékeny növényeket, jegesítő fehérjéikkel fagyhalálra készítetik a növény külső sejtjeit, és így utat nyitnak maguknak a növény belseje felé (Gounot, 1986; Gurian-Sherman és Lindow, 1993).

A hidegtűrő élőlények felhasználása a gyakorlati életben

Az ember haszonelvű állat. Így az előző eszmefuttatások után óhatatlanul felvetődik a kérdés: mindez szép és izgalmas, de vajon jók-e valamire ezek a fehérjék és az őket hordozó organizmusok? Megvizsgálva a lehetséges

felhasználási formákat számos meglepetéssel találkozhatunk. A hidegadaptációban szerepet játszó (például hidegsokk-, illetve jegesedésgátló) fehérjék expressziójával számos haszonnövény az eddigiéknél mostohább körülmények között is termeszthetővé válik. E fehérjékkel a mezőgazdaságban és az élelmiszeriparban évente több milliárd dollárnyi veszteséget okozó fagykarak is mérsékelhetők lesznek. A jegesítő fehérjéket termelő baktériumokat jelenleg is alkalmazzák a fagylalkészítésben, a müho előállítása során, sőt, „esőcsinálásra” is (Gurian-Sherman és Lindow, 1993). A hidegtűrő organizmusokból származó enzimeket használják a „hidegen-mosó” mosószerekben, a húspuhítás során, és a kontaktlencsét tisztító folyadékokban. A pszichrofil baktériumok jól hasznosíthatók a téli szennyvíztisztításban és a hideg környezetben (például az óceánfenéken) végzett harmadlagos olajkitermelésben. Néhány tengeri pszichrofil baktérium pedig gazdag forrása lehet a táplálék-kiegészítő többszörösen telítetlen zsírsavaknak.

8.3. Megnyomottak, besózottak és sugártűrők

A forró és a fagyos környezetet kedvelő élőlények túlélési trükkjei után ismerkedjünk meg azzal, hogy mit tehetnek a Föld mélységeiben, magas nyomáson élő, illetve a magas sókoncentrációhoz alkalmazkodott lények az életbenmaradásért.

Megnyomottak

Magas nyomáson a bakteriális alkalmazkodás olyan sikeres lehet, hogy még a tengerfenék alatt 3000 méterrel elterülő, százfokos olajmezőkben is lehetővé teszi egyes baktériumtörzsek túlélését (Stetter és mtsai., 1993). A magas nyomás elsősorban a különböző fehérje—fehérje, illetve fehérje—RNS, fehérje—DNS komplexek szétválását okozhatja (Jaenicke és Závodszy, 1990). Ezzel összhangban, magas nyomást sikeresen alkalmaztak számos fehérjeaggregátum feloldására (St. John és mtsai., 1999). A nyomás hatására bekövetkező fehérjeszétválás fő oka az, hogy a fehérjékhez kötött víz kisebb térfogatot foglal el, mint a lazán „összehányt” vízmolekulák a tiszta víz közepén. Így a vízmolekulák kötését eredményező fehérjeszétválást a nyomásnövelés kedvezővé teszi. A vízkötés növekedése a legfontosabb oka a fehérjék nyomásra történő denaturációjának is. Denaturált állapotban a fehérjék több vizet kötnek meg, mint natív szerkezet esetén, így magasabb nyomásokon a kötött víz térfogatcsökkenése miatt a fehérje alegységei akár teljesen ki is tekeredhetnek. Magas nyomáson mind az ionos, mind a hidrofób kölcsönhatások gyengébbé válnak. Ezzel szemben a hidrogénhid kötések megerősödnek, mivel bomlásuk térfogatnövekedéssel járna (Mozhaev és mtsai., 1996). A nyomásváltozások tehát alapvetően átrendezik a stabilitási viszonyokat. Ennek ismeretében nem csoda, hogy nyomáscsökkenésre vagy -növekedésre a sejtek élénken reagálnak. Az elmúlt években sikerült néhány nyomásváltozásra termelődő fehérjét azonosítani. Ennyi stresszfehérje-kutatás után gondolom már nem meglepő, hogy e fehérjék többsége a huzigáló Hsp60 és Hsp70 rokona volt (Gross és Jaenicke, 1994).

???



Mennyire denaturáltak a fehérjék az emberi szervezet nyomásnak kitett (például porc-) sejtjeiben?

Besóztak

A halofil (magas sókoncentrációt szerető) baktériumok számára az egyik legnagyobb probléma az élethez nélkülözhetetlen víz megszerzése. A baktériumokat körülvevő sós víz nátrium- és kloridionjai ugyanis hidrátburkukkal a környezet víztartalmának jelentős részét megkötik. Így nem csoda, hogy a halofil baktériumok sejtmembránjában a többszörös negatív töltésű lipidek igen felszaporodtak. A töltött lipidek fokozatosabb átmenetet teremtenek meg a magas iontartalmú környezethez, és az ellenionként odavonzott nátriumionok óriási hidrátburka révén vízhez juttatják a „szabad” vízben szegény környezetben élő baktériumokat. Valószínűleg ugyanez, a víz „csapdába ejtése” lehet az oka annak is, hogy e baktériumok fehérjeiben is igen sok a töltéssel rendelkező aminosav-oldallánc. A többletként megjelenő töltött oldalláncok általában a „szokásos” ionkoncentráció mellett kialakuló fehérjemaghoz csatlakozó hurkokon helyezkednek el. A fehérje belseje felé mutató töltéseket sóhidakkal lehet stabilizálni. Így a fehérje belső üregeiben vízmolekulák seregét lehet csapdába ejteni (Csermely, 1998; Richard és mtsai., 2000).



Lassul-e a fehérjék mozgása a vízhiányos halofil szervezetekben?

Sugártűrők

1000 rad radioaktív sugárterhelés után egy átlagos ember tíz napig él. Egymillió rad-os sugárterhelésnél már a baktériumok tárolására szolgáló üveg mintatartó is elszíneződött, repedezett, papírszerű árnyéka lesz annak a vastagfalú törhetetlen edénynek, ami a kobaltágyú alá bekerült. Ilyen besugárzás után egy szokványos baktérium már rég elpusztult, szinte füst csupán. Nem így a *Deinococcus radiodurans*. Az vígan él. Sőt, osztódik tovább. Előtte persze rendbeszedi a DNS-ét, ami a sugárzás hatására sokszáz darabra tört szét. A sugárzás befejezése után eltelt 12 óra alatt a *D. radiodurans* mindent a helyére rak, összefércel, egyberendez, és él tovább, mintha semmi sem történt volna. Honnan tudja, hogy mi hova kerüljön? A *D. radiodurans* minden kromoszómából négyet-ötöt tárol. Annak az esélye, hogy ezek ugyanott törjenek el, kicsi. Így nem marad más hátra, mint összerakni a sokszázdarabos puzzle-t és kipótolni a hiányzó részeket. Ez évekig is eltarthatna, ha a 4-5 DNS kópia nem lenne egy csomóban és szigorúan párhuzamosan rendezetten a *D. radiodurans* speciális, sejtmagyszerű szervecskéjében. Így azonban az összetartozó DNS-szakaszok megtalálása jóval könnyebb (Huyghe, 1998).



Hogyan rendezi újra a *D. radiodurans* a négy-öt DNS szálát az osztódás után?

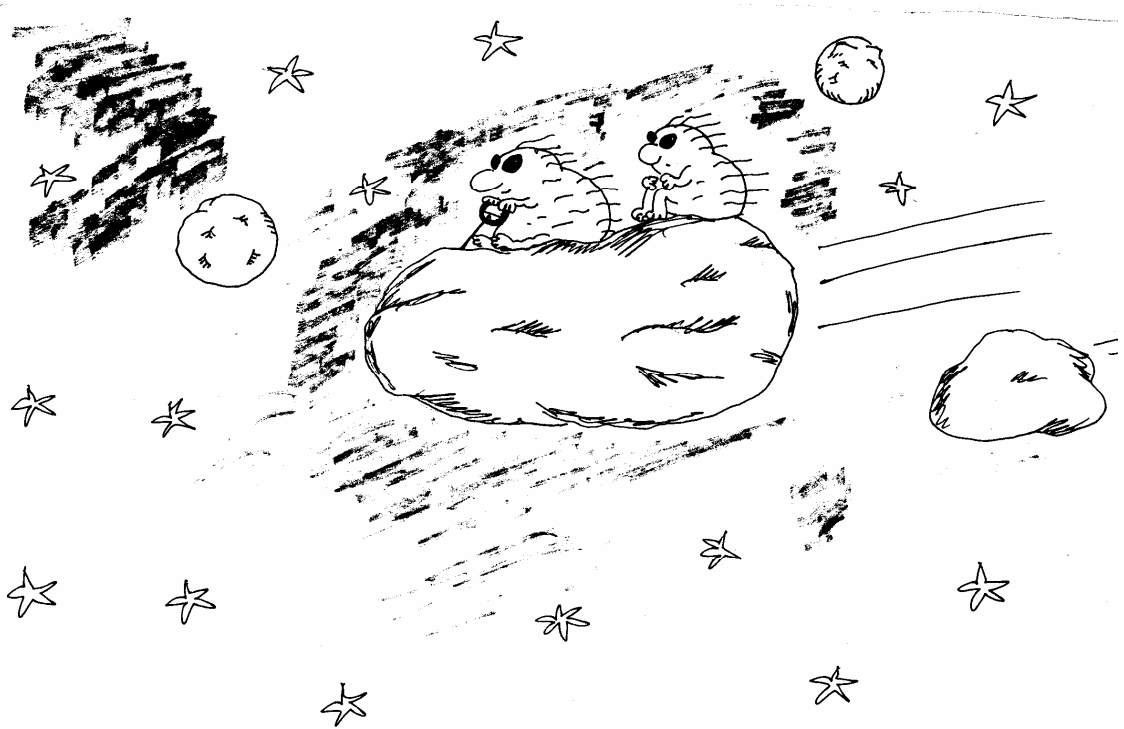
A *D. radiodurans* tehát elképesztő hatékonysággal képes kijavítani DNS-ét. Hol szokott rá erre? Hiszen a baktérium szerteszét megtalálható az egész Földön, és nem csak az uránbányákban él. A természetes sugárzás pedig évente

20 rad körül jár a legjobban exponált helyeken is, ami messze alatta marad annak az egymilliónak, amelyet a *D. radiodurans* könnyedén kibír. A *D. radiodurans* természetes stresszhatásain a fejüket törő kutatók egy húszéves cikk leírása alapján jöttek rá arra, hogy mind a *D. radiodurans*, mind a többi radioaktivitással szemben ellenálló baktérium elképesztően szárazságtűrő is. A kiszáradás és a sugárártalom elleni védőmechanizmusok közös elemei még nem teljesen tisztázottak. A baktérium teljes DNS-szekvenciáját nemrég határozták meg (White és mtsai., 1999), amely minden bizonnyal gyors előrehaladást tesz lehetővé ennek a kérdésnek a megválaszolásában is. A DNS szerkezetének elemzése során kiderült, hogy a *D. radiodurans* DNS-e tele van szórva a gének közé ékelődő ismétlődő szekvenciákkal, amelyek a DNS-szálak egymáshoz illesztését könnyítik meg. Egy másik érdekes mechanizmussal a *D. radiodurans* felismeri, és a sejten kívülre dobálja a károsodott nukleotidokat, amellyel megakadályozza, hogy azok újra beépüljenek DNS-ébe.



Miért kell öt DNS a kiszáradás ellen?

A *Deinococcus radiodurans* más baktériumokból származó enzimekkel kiegészítve az eddig megismertek közül az egyedül alkalmas élőlény a Földön arra, hogy a radioaktív szeméttárolókba bezúdírt mérgező anyagokat semlegesítse. Sajnos olyan baktérium még elvileg sem létezik, amellyel a radioaktivitást lehetne valahogy csökkenteni, de a sugárzó anyagok mellett lévő mérgek elbontása már önmagában is nagy eredmény. A *D. radiodurans* alkalmas lehet arra is, hogy a földi életet más bolygókra exportálja, hiszen ha egy meteor belsejében a bolygóközi térbe kerül, mind a szárazságot, mind a kozmikus sugárzást túl tudja élni. Ki tudja? Lehet, hogy *D. radiodurans*-tól hemzseg a Mars?



8.4. Élet a Földön kívül

Az extrém körülmények között élő baktériumok által kifejlesztett túlélési mechanizmusok megértése közelebb vihet minket a Földön kívüli élet formáinak megértéséhez is. A Marson jégsapka van, a Jupiter egyik holdja, az Európa, pedig egy egész jég alatti óceánt tartalmaz. Ezek a földi élet számára is lakhatónak bizonyult helyeken esetleg fellelhető életformák — minden bizonnyal — a földi élet extrém körülmények között kifejlődött változataihoz hasonlíthatnak a leginkább. Így nem árt, ha szellemünket és fantáziánkat a környezetünkben található „legvadabb” példák tanulmányozásával is edzzük az elképzelhetetlen elképzeléséhez.

Az idegen világ közelebb is lehet, mint hinnénk. 1996-ban fordult elő az a szokatlan eset, hogy az Amerikai Egyesült Államok elnöke is beszámolt egy tudományos felfedezésről. Ekkor közölték ugyanis a *Science*-ben, hogy vizsgálataik szerint az Antarktiszon 1984-ben megtalált, 13 000 évvel ezelőtt a Földbe csapódott, marsi eredetű ALH 84 001-es meteorit belsejében az ősi, marsi élet egysejtű élőlényei nyomaira bukkantak (McKay és munkatársai, 1996). Bár a későbbiekben a felfedezést sokan megkérdőjelezték, az ALH 84 001-es elemzése újólal felhívta a figyelmet arra, hogy az idegen világ követői bármikor megérkezhetnek vagy esetleg már itt lapulnak a Földön, esetleg valamelyik éppen olvadásnak induló jégtakaró páncélja alatt. A *Deinococcus radiodurans* az előző fejezetben leírt hihetetlen ellenállóképessége mutatja, hogy nem is kell okvetlenül valamilyen repülő csészealjat elképzelni ahhoz, hogy a Földön kívüli élet képviselői bolygónkra kerülhessenek. Saját, földi példánk mutatják, hogy egy nagyobb fajta meteor belsejében utazó extremofil baktérium simán átvészeli mind az utazás, mind pedig a földetérés viszontagságait.

9. Zárszó

Amikor belekezdtem ennek a könyvnek az írásába, valahol sejtettem, de azért mégsem gondoltam teljesen komolyan, hogy a stresszfehérjék ürügyén szinte egy sejtbiológia könyvet fogok írni számos biokémiai, biofizikai, evolúciobiológiai, élettani, immunológiai és orvostudományi elemmel kiegészítve. Szerencsésnek mondhatom magam amiatt, hogy a stresszfehérjék a tudományterületeknek ennyire a csatlakozási pontjain helyezkednek el, és a kicsit is érdeklődőbb kutatóknak esélyt sem hagynak arra, hogy belegyepesedjen saját törpe megközelítésének csapdáiba.

Sajnos napjaink fragmentálódó tudományában (Csermely, 1995; 1999d) ez egyre inkább kivétel, mint szabály. A mai szédült iramú adatgyűjtés arra hasonlít, amikor a gyümölcsöskertbe beszabadult, addig szárazkenyéren élő utcagyerek letép mindent, ami a keze ügyébe akad, és telezabálja magát. A gyümölcsöskertben ennek gyomorrontás és diaré lesz a vége. A tudományban nem tudom mi lesz a vége, csak attól félek, hogy a mások által már lezabált, félredobott, rothadófélben lévő gyümölcsök tetemes késéssel válnak csak vonzóvá a következő generáció esetleg már jobban lenyugodott tagjai számára.

Van azonban más baj is. A sietség, az analógiák mentén haladó panelépítkezés, a terjedőfélben lévő agyatlan, manufaktúra-kutató óhatatlanul gyakrabban termel selejtet is. Nem készakarva, hanem a pusztá jósándék által vezérelve. A sokszor ismételt selejt azonban hamar tudássá kövesül. Az így halmozódó tudományos szemét eltakarítása pedig nehéz feladat. Hála Istennek a tudomány öngyógyító folyamat, így az eltakarítás előbb-utóbb menni fog (tudományos stresszfehérjéink lépten-nyomon aktivizálják magukat), és azt is csak ötven év múlva lehet majd megmondani, hogy a ezekből az érzésekből mennyi volt a nyavalygás, és mennyi az objektív valóság.

A tudomány egészségének mindenesetre nagyon jót tenne, ha a 21. században az az amerikai ihletésű szabadverseny, ahol a tudós kolléga, mint versenytárs („my competitor”) szerepel, alábbhagyna. Sokszor százezer gén szekvenálása után csak eljön majd a csömör, és eljutunk abba az állapotba, ahol a töprengés, a mélyebb összefüggések keresése válik uralkodóvá az adatömlesztés (a „high-throughput science”) helyett. Ehhez persze valahogy le kell küzdenünk azt az iszonyatos nyomást, amely a profitéhes tudásipar részéről ér minket, a fogyasztásra (értsd: volumennövelésre) sarkallva minden kutatót. A tudásiparba ma már a tudást hasznosító ipar mellett a tudás termelését – látszólag – kiszolgáló iparágak, a laborműszergyártók, a reagensgyártók és az egyre multinacionálisabbá váló kiadóvállalatok is beletartoznak. A hajszára sarkalló érdek közös. Ráadásul – mint minden, ami igazán sikeres mai korunkban – emberi gyengékre: hiúságra, önzésre, szerzésvágyra épít. Ember legyen, aki megállja.

Nem mindent kell megvizsgálni, amit megvizsgálni lehet. Nem minden kísérletet kell elvégezni azok közül, amelyeket képesek vagyunk elvégezni. Többször kell feltenni a „tényleg van-e értelme?” kérdést, mint ahányszor azt mostanában megszoktuk. Ehhez persze időt kell hagyni arra, hogy gondolataink leülepedjenek, és felderengjenek agyunk mélyén a Válaszok. A Válasz persze annál jobb, minél kevésbé partikuláris. A tudomány olyan ismeretháló, amelynek fontosabb megállapításai mindig a lehető legszélesebb területet igyekeznek átfogni (Csermely és mtsai., 1999). Ezzel visszajutottunk a gondolatmenet elejére, az egészre tekintő, holisztikus szemlélet hangsúlyozására a szűklátókörű matatás helyett.

A stresszfehérjék igen jó terepet kínálnak arra, hogy az ember a szélesebb összefüggések meglátására edzze az elméjét. A fehérjék szerkezetének összefüggései a sejt szerkezetével, a soksejtű szerveződések koordinált válaszai, és a stresszfehérjék fejlődése az evolúció során mind-mind olyan terep, amely a lényegre figyelő, „új élettudomány” megerősödésének egyik kristályosodási pontja lehet.

Természetesen a szerző témájával most is, mint mindig, elfogult. A stresszfehérjék tudományok sokaságát behálózó csodáit és kincseit önnön tudatlanságának egyre jobban feltáruló alázatával figyeli. Közben hálája is nőttön nő, hogy játszadozásaiban annyi, de annyi örömet talált. Ha ezekből néhányat az olvasó is átélt, elmélyüléséért, beleérző megértéséért fogadja őszinte köszönetem.

Függelék

Irodalom

- Abagyan, R.A., Tatrov, M.M. and Kuznetsov, D.M. 1994. *ICM – a new method for protein modeling and design*. J. Computer Chem. 15, 488-505.
(<http://www.molsoft.com>)
- Agarraberes, F.A., Terlecky, S.R. and Dice, J.F. 1997. *An intralysosomal hsp70 is required for a selective pathway of lysosomal protein degradation*. J. Cell Biol. 137, 825-834.
- Anathan, J., Goldberg, A.L. and Voellmy, R. 1986. *Abnormal proteins serve as eucaryotic stress signals and trigger the activation of heat shock genes*. Science 232, 252-254.
- Anfinsen, C.B. 1973. *Principles that govern folding of protein chains*. Science, 181, 223-230.
- Aridor, M. and Balch, W.E. 1999. *Integration of endoplasmic reticulum signaling in health and disease*. Nat. Med. 5, 745-751.
- Arrigo A.P. 1998. *Small stress proteins: Chaperones that act as regulators of intracellular redox state and programmed cell death*. Biol. Chem. 379, 19-26.
- Arumugam, S., Pascal, S., North, C.L., Hu, W., Lee, K.-C., Cotten, M., Ketchum, R.R., Xu, F., Brenneman, M., Kovacs, F., Tian, F., Wang, A., Huo, S. and Cross, T.A. 1996. *Conformational trapping in a membrane environment: a regulatory mechanism for protein activity?* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 5872-5876.
- Barron, L.D., Hecht, L. and Wilson, G. 1997. *The lubricant of life: a proposal that solvent water promotes extremely fast conformational fluctuations in mobile heteropolyptide structure*. Biochemistry 36, 13143-13147.
- Beck, K., Wu, L-F., Brunner, J. and Müller, M. 2000. *Discrimination between SRP- and SecA/SecB-dependent substrates involves selective recognition of nascent chains by SRP and trigger factor*. EMBO J. 19, 134-143.
- Bertók L. 1997. *Természetes ellenállóképeség: epesavak és endotoxinok szerepe*. Studia Physiologica 3, Scientia Kiadó, Budapest.
- Bhattacharyya J. and Das, K.P. 1999. *Molecular chaperone-like properties of an unfolded protein, α_s -casein*. J. Biol. Chem. 274, 15505-15509.
- Blobel, G. 1985. *Gene gating: a hypothesis*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82, 8527-8529.
- Blum, J.H., Dove, S.L., Hochschild, A. and Mekalanos, J. 2000. *Isolation of peptide aptamers that inhibit intracellular processes*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97, 2241-2246.
- Bogdanov, M., Sun, J., Kaback, H.R. and Dowhan, W. 1996. *A phospholipid acts as a chaperone in assembly of a membrane transport protein*. J. Biol. Chem. 271, 11615-11618.
- Bogdanov, M. and Dowhan, W. 1999. *Lipid-assisted protein folding*. J. Biol. Chem. 274, 36827-36830.

- Bork, P., Sander, C. and Valencia, A. 1992. *An ATPase domain common to prokaryotic cell cycle proteins, sugar kinases, actin, and hsp70 heat shock proteins*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, 7290-7294.
- Braan, J. 1992. *Regulated expression of the calmodulin-related TCH genes in cultured Arabidopsis cells: induction by calcium and heat shock*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, 3213-3216.
- Brenner, S.A. 1992. *Predicting de novo the folded structure of proteins*. Curr. Op. Struct. Biol. 2, 402-412. (<http://cbrg.inf.ethz.ch/ServerBooklet/>)
- Brown, M.S. and Goldstein, J.L. 1997. *The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor*. Cell 89, 331-340.
- Brown, I.R. and Sharp, F.R. 1999. *The cellular stress gene response in brain*. Handbook Exp. Pharmacol. 136, 243-263.
- Brown, D.R., Wong, B-S., Hafiz, F., Clive, C., Haswell, S.J. and Jones, I.M. 1999. *Normal prion protein has an activity like that of superoxide dismutase*. Biochem. J. 344, 1-5.
- Brown, D.R., Hafiz, F., Glassmith, L.L., Wong, B-S., Jones, I.M., Clive, C. and Haswell, S.J. 2000. *Consequences of manganese replacement of copper for prion protein function and protease resistance*. EMBO J. 19, 1180-1186.
- Bryngelson, J.D., Onuchic, J.N., Socci, N.D. and Wolynes, P.G. 1995. *Funnels, pathways, and the energy landscape of protein folding: a synthesis*. Proteins 21, 167-195.
- Bukau, B. and Horwich, A.L. 1998. *The Hsp70 and Hsp60 chaperone machines*. Cell 92, 351-366.
- Burrows, J.A.J., Willis, L.K. and Perlmutter, D.H. 2000. *Chemical chaperones mediate increased secretion of mutant $\alpha 1$ -antitrypsin ($\alpha 1$ -AT) Z: a potential pharmacological strategy for prevention of liver injury and emphysema in $\alpha 1$ -AT deficiency*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97, 1796-1801.
- Bychkova, V.E., Dujsekina, A.E., Klenin, S.I., Tiktopulo, E.I., Uversky, V.N. and Ptitsyn, O.B. 1996. *Molten globule-like state of cytochrome c under conditions simulating those near the membrane surface*. Biochemistry 35, 6058-6063.
- Caldas, T., Laalami, S. and Richarme, G. 2000. *Chaperone properties of bacterial elongation factor EF-G and initiation factor IF2*. J. Biol. Chem. 275, 855-860.
- Candido, E.P.M. and Jones, D. 1996. *Transgenic Caenorhabditis elegans strains as biosensors*. Trends Biotechnol. 14, 125-129.
- Carratu, L., Franceschelli, S., Pardini, C.L., Kobayashi, G.S., Horváth, I., Vigh, L. and Maresca, B. 1996. *Membrane lipid perturbation modifies the set point of the temperature of heat shock response in yeast*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 3870-3875.
- Chang, G.C., Liu, R., Panniers, R. and Li, G.C. 1994. *Rat fibroblasts transfected with the human 70-kDa heat shock gene exhibit altered translation and eukaryotic initiation factor 2 α phosphorylation following heat shock*. Int. J. Hyperthermia 10, 325-337.
- Chapman, R., Sidrauski, C. and Walter, P. 1998. *Intracellular signalling from the endoplasmic reticulum to the nucleus*. Annu. Rev. Cell. Dev. Biol. 14, 459-485.
- Chernoff, Y.O., Newham, G.P., Kumar, J., Allen, K. and Zink, A.D. 1999. *Evidence for a protein mutator in yeast: role of the Hsp70-related chaperone*

- Ssb* in formation, stability, and toxicity of the [PSI] prion. *Mol. Cell. Biol.* 19, 8103-8112.
- Chevet, E., Wong, H.N., Gerber, D., Cochet, C., Fazel, A., Cameron, P.H., Gushue, J.N., Thomas, D.Y. and Bergeron, J.J.M. 1999. *Phosphorylation by CK2 and MAPK enhances calnexin association with ribosomes.* *EMBO J.* 18, 3655-3666.
- Chothia, C. 1984. *Principles that determine the structure of proteins.* *Annu. Rev. Biochem.* 53, 537-572.
- Chou, P.Y. and Fasman, G.D. 1974. *Conformational parameters for amino acids in helical, β -sheet and random coil regions calculated from proteins.* *Biochemistry* 13, 211-245.
- Ciavarra, R.P., Goldman, C., Wen, K-K., Tedeschi, B. and Castora, F.J. 1994. *Heat stress induces hsc70/nuclear topoisomerase I complex formation in vivo: evidence for hsc70-mediated, ATP-independent reactivation in vitro.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, 1751-1755.
- Clegg, J.S. 1984. *Properties and metabolism of the aqueous cytoplasm and its boundaries.* *Am. J. Physiol.* 246, R133-R151.
- Cohen, I.R. and Young, D.B. 1991. *Autoimmunity, microbial immunity and the immunological homunculus.* *Immunol. Today* 12, 105-110.
- Combet, C., Blanchet, C., Geourjon, C. and Deleage, G. 2000. *NPS@: network protein science analysis.* *Trends in Biochem. Sci.* 25, 147-150. (<http://www.pbil.ibcp.fr/NPSA>)
- Cooper, A.A. and Stevens, T.H. 1995. *Protein splicing: self-splicing of genetically mobile elements at the protein level.* *Trends in Biochem. Sci.* 20, 351-356.
- Creutz, C.E., Liou, A., Snyder, S.L., Brownawell, A. and Willison, K. 1994. *Identification of the major chromaffin granule-binding protein, chromobindin-A, as the cytosolic chaperonin CCT (chaperonin containing TCP-1).* *J. Biol. Chem.* 269, 32035-32038.
- Cummings, C.J., Mancini, M.A., Antalffy, B., DeFranco, D.B., Orr, H.T. and Zoghbi, H.Y. 1998. *Chaperone suppression of aggregation and altered subcellular proteasome localization imply protein misfolding in SCA1.* *Nature Genetics* 19, 148-154.
- Cunningham, E.L., Jaswal, S.S., Sohl, J.L. and Agard, D.A. 1999. *Kinetic stability as a mechanism for protease longevity.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 11008-11014.
- Currie, R.W., Karmazyn, M., Kolc, M. and Mailer, K. 1988. *Heat shock response is associated with enhanced postischemic ventricular recovery.* *Circulation Res.* 63, 543-549.
- Csermely, P. 1995. *A megismerés csapdái. Mennyire tudunk objektívek maradni a tudományos kutatómunka közben?* *Természet Világa* 126, 434-436, Nívódíjas közlemény
- Csermely, P. 1996. *Jelátviteli folyamatok a sejtmagban.* *Természet Világa*, 127, 6-9.
- Csermely, P. 1997a. *Az élet születésének biokémiája. Elképzelések arról, hogyan vezethetett a molekulák evolúciója az élet keletkezéséhez.* *Természet Világa*, 128, 10-14, Nívódíjas közlemény
- Csermely, P. 1997b. *Proteins, RNA-s and chaperones in enzyme evolution: a folding perspective.* *Trends in Biochem. Sci.* 22, 147-149.
- Csermely, P. 1998. *Hogyan viselhető el az élet 95 °C-on?* *Természet Világa*, 129, 298-301.

- Csermely, P. 1999a. *The "chaperone-percolator" model: a possible molecular mechanism of Anfinsen-cage type chaperone action*. *BioEssays*, 21, 959-965.
- Csermely, P. 1999b. *Élet a fagyponton?* *Természet Világa*, 130, 108-112.
- Csermely, P. 1999c. *Élet a tengerfenék gejzirjei mentén*. *Természet Világa*, 130, 482-485.
- Csermely, P. 1999d. *Limits of scientific growth*. *Science* 284, 1622-1623.
- Csermely, P. 2000. *Új védekező mechanizmusok, a dajkafehérjék*. *Természet Világa*, 131, 1. különszám, 20-24
- Csermely, P. és Somogyi, J. 1992. *Stressz fehérjék az orvostudományban*. *Orv. Hetilap* 133, 1347-1351.
- Csermely, P., Schnaider, T. and Szántó, I. 1995. *Signalling and transport through the nuclear membrane*. *Biochim. Biophys. Acta*, 1241, 425-452.
- Csermely, P., Schnaider, T., Söti, Cs., Prohászka, Z. and Nardai, G. 1998. *The 90-kDa molecular chaperone family: structure, function and clinical applications. A comprehensive review*. *Pharmacol. Therap.* 79, 129-168.
- Csermely, P., Gergely, P., Koltay T. és Tóth J. 1999. *Kutatás és közlés a természettudományokban: tanácsok kezdő és haladó kutatóknak*. Osiris Könyvkiadó
- Daniel, R.M., Dines, M. and Petach, H.H. 1996. *The denaturation and degradation of stable enzymes at high temperatures*. *Biochem. J.* 317, 1-11.
- Daniells, C., Duce, I., Thomas, D., Sewell, P., Tattersall, J. and de Pomerai, D.I. 1998. *Transgenic nematodes as biomonitors of microwave-induced stress*. *Mutat. Res.* 399, 55-64.
- de Pomerai, D.I. 1996. *Heat-shock proteins as biomarkers of pollution*. *Human Exp. Toxicol.* 15, 279-285.
- DeBurman, S.K., Raymond, G.J., Caughey, B. and Lindquist, S. 1997. *Chaperone-supervised conversion of prion protein to its protease-resistant form*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 13938-13943.
- Deckert, G., Warren, P.V., Gaasterland, T., Young, W.G., Lenox, A.L., Graham, D.E., Overbeek, R., Snead, M.A., Keller, M., Aujay, M., Huber, R., Feldman, R.A., Short, J.M., Olsen, G.J. and Swanson. R.V. 1998. *The complete genome of the hyperthermophilic bacterium Aquifex aeolicus*. *Nature* 392, 353-358.
- Delaney, J.M. 1990. *A grpE mutant of Escherichia coli is more resistant to heat than the wild-type*. *J. Gen. Microbiol.* 136, 797-801.
- Denisov, V.P., Johnsson, B.-H. and Halle, B. 1999. *Hydration of denatured and molten globule proteins*. *Nature Struct. Biol.* 6, 253-260.
- Dill, K.A. 1990. *Dominant forces in protein folding*. *Biochemistry* 29, 7133-7155.
- Dill, K.A., Bromberg, S., Yue, K., Fiebig, K.M., Yee, D.P., Thomas, P.D. and Chan, H.S. 1995. *Principles of protein folding – A perspective from simple exact models*. *Protein Science* 4, 561-602.
- Dobson, C.M. 1999. *Protein misfolding, evolution and disease*. *Trends in Biochem. Sci.* 24, 329-332.
- Dobson, C.M., Evans, P.A. and Radford, S.E. 1994. *Understanding how proteins fold: the lysozyme story so far*. *Trends in Biochem. Sci.* 19, 31-37.
- Draper, D.E. 1996. *Strategies for RNA folding*. *Trends in Biochem. Sci.* 21, 145-149.
- Driessen, A.J.M. 1992. *Bacterial protein translocation: kinetic and thermodynamic role of ATP and the protonmotive force*. *Trends in Biochem. Sci.* 17, 219-223.

- Ehrnsperger, M., Gräber, S., Gaestel, M. and Buchner, J. 1997. *Binding of non-native protein to Hsp25 during heat shock creates a reservoir of folding intermediates for reactivation*. EMBO J. 16, 221-229.
- Eigen, M., Schuster, P., Gardiner, W and Winkler-Oswatitsch, R. 1981. *The origin of genetic information*. Scientific American 244, 78-94.
- Eisenberg-Domovich, Y., Kloppstech, K. and Ohad, I. 1994. *Reversible membrane association of heat shock protein 22 in Chlamydomonas reinhardtii during heat shock and recovery*. Eur. J. Biochem. 222, 1041-1046.
- Eisenhaber, F., Imperiale, F., Argos, P. and Froemmel, C. 1996. *Prediction of secondary structural content of proteins from their amino acid composition alone*. Proteins 25, 157-179. (<http://www.bork.embl-heidelberg.de/SSCP>)
- Elbirt, K.K. and Bonkovsky, H.L. 1999. *Heme oxygenase: Recent advances in understanding its regulation and role*. Proc. Assoc. Am. Physicians 111, 438-447.
- Elias, D., Reshef, T., Birk, O.S., van der Zee, R., Walker, M.D. and Cohen, I.R. 1991. *Vaccination against autoimmune mouse diabetes using a T cell epitope of the human 65 kDa heat shock protein*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88, 3088-3091.
- Ellis, R.J. and van der Vies, S.M. 1991. *Molecular chaperones*. Annu. Rev. Biochem. 60, 321-347.
- Fágáin, C.O. 1997. *Stabilizing protein function*. Springer Verlag
- Feder, J.H., Rossi, J.M., Solomon, J., Solomon, N. and Lindquist, S. 1992. *The consequences of expressing hsp70 in Drosophila cells at normal temperatures*. Genes Dev. 6, 1402-1413.
- Feige, U., Morimoto, R.I., Yahara, I. and Polla, B. (eds.) 1996. *Stress Inducible Cellular Responses*. EXS vol. 77, Birkhauser Verlag, Basel.
- Fox, S.W. 1965. *A theory of macromolecular and cellular origins*. Nature 205, 328-340.
- Frydman, J., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P. and Hartl, F.-U. 1999. *Co-translational domain folding as the structural basis for the rapid de novo folding of firefly luciferase*. Nature Struct. Biol. 6, 697-705.
- Gabai V.L., Meriin, A.B., Mosser, D.D., Caron, A.W., Rits, S., Shifrin, V.I. and Sherman, M.Y. 1998. *Hsp70 prevents activation of stress kinases. A novel pathway of cellular thermotolerance*. J. Biol. Chem. 272, 18033-18037.
- Gaill F. 1993. *Aspects of life development at deep sea hydrothermal vents*. FASEB J. 7, 558-565.
- Gajdusek, D.C., Gibbs, C.J., Jr. and Alpers, M. 1966. *Experimental transmission of a Kuru-like syndrome to chimpanzees*. Nature 209, 794-796.
- Galea-Lauri, J., Richardson, A.J., Latchman, D.S. and Katz, D.R. 1996. *Increased heat shock protein 90 (hsp90) expression leads to increased apoptosis in the monoblastoid cell line U937 following induction with TNF- α and cycloheximide: a possible role in immunopathology*. J. Immunol. 157, 4109-4118.
- Galigniana, M.D., Scruggs, J.L., Herrington, J., Welsh, M.J., Carter-Su, C., Housley, P.R. and Pratt, W.B. 1999 *Heat shock protein 90-dependent (geldanamycin-inhibited) movement of the glucocorticoid receptor through the cytoplasm to the nucleus requires intact cytoskeleton*. Mol. Endocrinol. 12, 1903-1913.
- Garnier, J., Osguthorpe, D.J. and Robson, B. 1976. *Analysis of the accuracy and implications of simple methods for predicting the secondary structure of globular proteins*. J. Mol. Biol. 120, 97-120.

- Garrido, C., Bruey, J-M., Fromentin, A., Hammann, A., Arrigo, A.P. and Solary, E. 1999. *Hsp27 inhibits cytochrome c-dependent activation of procaspase-9*. FASEB J. 13, 2061-2070.
- Gánti, T. 1979. *A theory of biochemical supersystems and its application to problems of natural and artificial biogenesis*. Akadémiai kiadó
- Geier, E., Pfeifer, G., Wilm, M., Lucchiari-Hartz, M., Baumeister, W., Eichmann, K. and Niedermann, G. 1999. *A giant protease with potential to substitute for some functions of the proteasome*. Science 283, 978-981.
- Georgopoulos, C. 1992. *The emergence of the chaperone machines*. Trends in Biochem. Sci. 17, 295-299.
- Gerday, C., Aittaleb, M., Arpigny, J.L., Baise, E., Chessa, J.P., Garsoux, G., Petrescu, I. and Feller, G. 1997. *Psychrophilic enzymes: a thermodynamic challenge*. Biochim. Biophys. Acta 1342, 119-131.
- Glover, J.R. and Lindquist, S. 1998. *Hsp104, Hsp70, and Hsp40: a novel chaperone system that rescues previously aggregated proteins*. Cell 94, 73-82.
- Golovina, V.A. and Blaustein, M.P. 1997. *Spatially and functionally distinct Ca²⁺ stores in sarcoplasmic and endoplasmic reticulum*. Science 275, 1643-1648.
- Goodsell, D.S. 1991. *Inside a living cell*. Trends in Biochem. Sci. 16, 203-206.
- Gounot, A.-M. 1986. *Psychrophilic and psychrotrophic microorganisms*. Experientia 42, 1192-1197.
- Graumann, P.L. and Marahiel, M.A. 1998. *A superfamily of proteins that contain the cold-shock domain*. Trends in Biochem. Sci. 23, 286-290.
- Gross, M. and Jaenicke, R. 1994. *Proteins under pressure*. Eur. J. Biochem. 221, 617-630.
- Gupta, R.S. 1998. *Protein phylogenies and signature sequences: a reappraisal of evolutionary relationships among archeobacteria, eubacteria and eukaryotes*. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 62, 1435-1491.
- Gupta, R.S. and Golding, G.B. 1996. *The origin of the eukaryotic cell*. Trends in Biochem. Sci. 21, 166-171.
- Gurian-Sherman, D. and Lindow, S.E. 1993. *Bacterial ice nucleation: significance and molecular basis*. FASEB J. 7, 1338-1343.
- Hall, D.M., Oberley, T.D., Moseley, P.M., Buettner, G.R., Oberley, L.W., Weindruch, R. and Kregel, K.C. 2000. *Caloric restriction improves thermotolerance and reduces hyperthermia-induced cellular damage in old rats*. FASEB J. 14, 78-86.
- Hamman, B.D., Hendershot, L.M. and Johnson, A.E. 1998. *BiP maintains the permeability barrier of the ER membrane by sealing the luminal end of the translocon pore before and early in translocation*. Cell 92, 747-758.
- Hamilton, G.S. and Steiner, J.P. 1998. *Immunophilins: Beyond immunosuppression*. J. Med. Chem. 41, 5119-5143.
- Hamos, J.E., Oblas, B., Pulaski-Salo, D., Welch, W.J., Bole, D.G. and Drachman, D.A. 1991. *Expression of heat shock proteins in Alzheimer's disease*. Neurology 41, 345-350.
- Hänninen, A-L., Simola, M., Saris, N. and Makarow, M. 1999. *The cytoplasmic chaperone Hsp104 is required for conformational repair of heat-denatured proteins in the yeast endoplasmic reticulum*. Mol. Biol. Cell 10, 3623-3632.
- Hartl, F.-U. 1996. *Molecular chaperones in cellular protein folding*. Nature 381, 571-580.
- Haslbeck, M., Walke, S., Stromer, T., Ehrnsperger, M., White, H.E., Chen, S., Saibil, H.R. and Buchner, J. 1999. *Hsp26: a temperature-regulated chaperone*. EMBO J 18, 6744-6751.

- Heike, M., Weinmann, A., Bethke, K. and Galle, P.R. 1999. *Stress protein/peptide complexes derived from autologous tumor tissue as tumor vaccines*. *Biochem. Pharmacol.* 58, 1381-1387.
- Hendil, K.B., Khan, S. and Tanaka, K. 1998. *Simultaneous binding of PA28 and PA700 activators to 20 S proteasomes*. *Biochem. J.* 332, 749-754.
- Henzel, M.J., Boisvert, F.-M. and Bazett-Jones, D.P. 1999. *Direct visualization of a protein nuclear architecture*. *Mol. Biol. Cell* 10, 2051-2062.
- Hightower, L.E. 1980. *Cultured animal cells exposed to amino acid analogues or puromycin rapidly synthesize several polypeptides*. *J. Cell Physiol.* 102, 407-424.
- Hinds, P.W., Finlay, C.A., Frey, A.B. and Levine, A.J. 1987. *Immunological evidence for the association of p53 with a heat shock protein, hsc70, in p53-plus-ras-transformed cell lines*. *Mol. Cell. Biol.* 7, 2863-2869.
- Hoersch, S., Leroy, C., Brown, N.P. and Andrade, M.A. 2000. *The GeneQuiz Web server: protein functional analysis through the Web*. *Trends in Biochem. Sci.* 25, 33-35. (<http://www.sander.ebi.ac.uk/gqsrsv/submit>)
- Hoffman, P.F., Kaufman, A.J., Halverson, G.P. and Schrag, D.P. 1998. *A neoproterozoic snowball earth*. *Science* 281, 1342-1346.
- Hoffman, P.F. and Schrag, D.P. 2000. *Snowball earth*. *Scientific American*, January, 68-75.
- Horváth, I., Glatz, A., Vavrasovszky, V., Török, Zs., Páli, T., Balogh, G., Kovács, E., Nádasdi, L., Benkő, S., Joó, F. and Vígh, L. 1998. *Membrane physical state controls the signalling mechanism of the heat shock response in Synechocystis PCC 6803: identification of hsp17 as a "fluidity gene"*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 3513-1518.
- Houry, W.A., Frishman, D., Eckerskorn, C., Lottspeich, F. and Hartl, F.U. 1999. *Identification of in vivo substrates of the chaperonin GroEL*. *Nature* 402, 147-154.
- Hunter, T. 1998. *Prolyl isomerases and nuclear function*. *Cell* 92, 141-143.
- Hupp, T.R., Meek, D.W., Midgley, C.A. and Lane, D.P. 1992. *Regulation of the specific DNA binding function of p53*. *Cell* 71, 875-886.
- Huyghe, P. 1998. *Conan the bacterium*. *The Sciences*, July/August, 16-19.
- Iwaki, T., Kume-Iwaki, A., Liem, R.K. and Goldman, J.E. 1989. *Aplha B-crystallin is expressed in non-lenticular tissues and accumulates in Alexander's disease brain*. *Cell* 57, 71-78.
- Iwama, G.K., Vijayan, M.M., Forsyth, R.B. and Ackerman, P.A. 1999. *Heat shock proteins and physiological stress in fish*. *Amer. Zool.* 39, 901-909.
- Jäättelä, M. 1999. *Heat shock proteins as cellular lifeguards*. *Ann. Med.* 31, 261-271.
- Jackson, G.S., Hosszu, L.L.P., Power, A., Hill, A.F., Kenney, J., Saibil, H., Craven, C.J., Waltho, J.P., Clarke, A.R. and Collinge, J. 1999. *Reversible conversion of monomeric human prion protein between native and fibrillogenic conformations*. *Science* 283, 1935-1937.
- Jacobson, K. and Wojcieszyn, J. 1984. *The translational mobility of substances within the cytoplasmic matrix*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81, 6747-6751.
- Jaenicke, R. 1996. *Stability and folding of ultrastable proteins: eye lens crystallins and enzymes from thermophiles*. *FASEB J.* 10, 84-92.
- Jaenicke, R. and Závodszy, P. 1990. *Proteins under extreme physical conditions*. *FEBS Lett.* 268, 344-349.
- Jakob, U., Muse, W., Eser, M. and Bardwell, J.C. 1999. *A chaperone activity with a redox switch*. *Cell* 96, 341-352.

- Jamora, C., Dennert, G. and Lee, A.S. 1996. *Inhibition of tumor progression by suppression of stress protein GRP78/BiP induction in fibrosarcoma B/C10ME*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 7690-7694.
- Jarousse, A-S., Petit, F., Kreuzler-Schmid, C., Gaedigk, R. and Schmid, H.-P. 1999. *Possible involvement of proteasomes (prosome) in AUUUA-mediated mRNA decay*. J. Biol. Chem. 274, 5925-5930.
- Jia, Z., DeLuca, C.I., Chao, H. and Davies, P.L. 1996. *Structural basis for the binding of a globular antifreeze protein to ice*. Nature. 384, 285-288.
- Jones, P.G. and Inouye M. 1994. *The cold-shock response — a hot topic*. Mol. Microbiol. 11, 811-818.
- Joyce, G.F. 1989. *RNA evolution and origins of life*. Nature 338, 217-224.
- Jurivich, D.A., Sistonen, L., Kroes, R.A. and Morimoto, R.I. 1992. *Effect of sodium salicylate on the human heat shock response*. Science 255, 1243-1245.
- Kabakov, A.E. and Gabai, V.L. 1997. *Heat shock proteins and cytoprotection*. Springer, New York.
- Kacser, H. and Beeby, R. 1984. *Evolution of catalytic proteins or on the origin of enzyme species by means of natural selection*. J. Mol. Evol. 20, 38-51.
- Kajava, A.V. and Lindow, S.E. 1993. *A model of the three-dimensional structure of ice nucleation proteins*. J. Mol. Biol. 232, 709-717.
- Kajtár, M. 1963. *Vitális jelentőségű szénvegyületek keletkezésének lehetősége a Földön az élet megjelenése előtt*. MTA Kémiai Oszt. Közl. 20, 1-32.
- Kampinga, H.H., Brunsting, J.F., Stege, G.J., Konings, A.W. and Landry, J. 1994. *Cells overexpressing Hsp27 show accelerated recovery from heat-induced nuclear protein aggregation*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 204, 1170-1177.
- Kandror, O. and Goldberg, A.L. 1997. *Trigger factor is induced upon cold shock and enhances viability of Escherichia coli at low temperatures*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94, 4978-4981.
- Kanemori, M., Yanagi, H. and Yura, T. 1999. *Marked instability of the σ^{32} heat shock transcription factor at high temperature. Implications for heat shock regulation*. J. Biol. Chem. 274, 22002-22007.
- Karl, D.M., Bird, D.F., Björkman, K., Houlihan, T., Shackelford, R. and Tupas, L. 1999. *Mircoorganisms in the accreted ice of Lake Vostok, Antarctica*. Science 286, 2144-2147.
- Kates, M., Kushner, D.J. and Matheson, A.T. 1993. *The biochemistry of archaea*. New Comprehensive Biochem. vol. 26. Elsevier Science
- Katz, M.E., Pak, D.K., Dickens, G.R. and Miller, K.G. 1999. *The source and fate of massive carbon input during the latest paleocene thermal maximum*. Science 286, 1531-1533.
- Kaufman, R.J. 1999. *Stress signaling from the lumen of the endoplasmic reticulum: coordination of gene transcriptional and translational controls*. Genes Dev. 13, 1211-1233.
- Kaytor, M.D. and Warren, S.T. 1999. *Aberrant protein deposition and neurological disease*. J. Biol. Chem. 274, 37507-37510.
- Kazemi-Esfarjani, P. and Benzer, S. 2000. *Genetic suppression of polyglutamine toxicity in Drosophila*. Science 287, 1837-1840.
- Kendrew, J.C., Bodo, G., Dintzis, H.M., Parrish, R.G., Wyckoff, H.W. and Phillips, D.C. 1958. *A three-dimensional model of the myoglobin molecule obtained by X-ray analysis*. Nature 181, 662-666.
- Kim, K.K., Kim, R. and Kim, S.-H. 1998. *Crystal structure of a small heat shock protein*. Nature 394, 595-599.

- Kim, K.I., Park, S.-C., Kang, S.H., Cheong, G.-W. and Chung, C.H. 1999. *Selective degradation of unfolded proteins by the self-compartmentalizing HtrA protease, a periplasmic heat shock protein in Escherichia coli*. J. Mol. Biol. 294, 1363-1374.
- Kinouchi, H., Sharp, F.R., Hill, M.P., Koistinaho, J., Sagar, S.M. and Chan, P.H. 1993. *Induction of 70-kDa heat shock protein and hsp70 mRNA following transient focal cerebral ischemia in the rat*. J. Cereb. Blood Flow Metab. 13, 105-115.
- Kirschvink, J.L., Gaidos, E.J., Bertrani, L.E., Beukes, N.J., Gutzmer, J., Maepa, L.N. and Steinberger, R.E. 2000. *Paleoproterozoic snowball Earth: extreme climatic and geochemical global change and its biological consequences*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97, 1400-1405.
- Kisselev, A.F., Akopian, T.N. and Goldberg, A.L. 1998. *Range of sizes of peptide products generated during degradation of different proteins by archaeal proteasomes*. J. Biol. Chem. 273, 1982-1989.
- Klibanov, A.M. 1995. *What is remembered and why?* Nature 374, 596.
- Knauf, U., Bielka, H. and Gaestel, M. 1992. *Over-expression of the small heat-shock protein, hsp25, inhibits growth of Ehrlich ascites tumor cells*. FEBS Lett. 309, 297-302.
- Koch, S. 1999. *A sejtbeszéd nyelve*. Studia Physiologica 5, Scientia Kiadó, Budapest.
- Koshland, D.E. Jr. 1976. *The evolution of function in enzymes*. Fed. Proc. 35, 2104-2111.
- Kukla, G.J. 2000. *The last interglacial*. Science 287, 987-988.
- Kuwahara, C., Takeuchi, A.M., Nishimura, T., Haraguchi, K., Kubosaki, A., Matsumoto, Y., Sakei, K., Matsumoto, Y., Yokohama, T., Itohara, S. and Onodera, T. 1999. *Prions prevent neuronal cell-line death*. Nature 400, 225-226.
- Kyte, J. and Doolittle, R.F. 1982. *A simple method for displaying the hydrophobic character of a protein*. J. Mol. Biol. 157, 105-132.
- Lahav, N. 1991. *Prebiotic co-evolution of self-replication and translation or RNA world?* J. Theor. Biol. 151, 531-539.
- Laney, J.D. and Hochstrasser, M. 1999. *Substrate targeting in the ubiquitin system*. Cell 97, 427-430.
- Laróia, G., Cuesta, R., Brewer, G. and Schneider, R.J. 1999. *Control of mRNA decay by heat shock-ubiquitin-proteasome pathway*. Science 284, 499-502.
- Laskey, R.A., Hondam B.M., Mills, A.D. and Finch, J.T. 1978. *Nucleosomes are assembled by an acidic protein which binds histones and transfers them to DNA*. Nature 275, 416-420.
- Latchman, D.S. (ed.) 1999. *Stress proteins*. Springer Verlag, Heidelberg
- Lazcano, A. and Miller, S.L. 1996. *The origin and early evolution of life: prebiotic chemistry, the pre-RNA world, and time*. Cell 85, 793-798.
- László, L., Doherty, F.J., Osborn, N.U. and Mayer, R.J. 1990. *Ubiquitinated protein conjugates are specifically enriched in the lysosomal system of fibroblasts*. FEBS Lett. 261, 365-368.
- Lear, C.H., Elderfield, H. and Wilson, P.A. 2000. *Cenozoic deep-sea temperatures and global ice volumes from Mg/Ca in benthic foraminiferal calcite*. Science 287, 269-272.
- Lee, P.C., Bochner, B.R. and Ames, B.N. 1983. *AppppA, heat-shock stress, and cell oxidation*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80, 7496-7500.
- Lee, D.H., Granja, J.R., Martinez, J.A., Severin, K. and Ghadiri, M.R. 1996. *A self-replicating peptide*. Nature 382, 525-528.

- Lee, G.J., Roseman, A.M., Saibil, H.R. and Vierling, E. 1997. *A small heat shock protein stably binds heat-denatured model substrates and can maintain a substrate in a folding competent state*. EMBO J. 16, 659-671.
- Levinthal, C. 1968. *Are there pathways for protein folding?* J. Chim. Phys. 65, 44-45.
- Lewis, S.A., Tian, G. and Cowan, N.J. 1997. *The α - and β -tubulin folding pathways*. Trends in Cell Biol. 7, 479-484.
- Li, H., Helling, R., Tang, C and Wingreen, N. 1996. *Emergence of preferred structures in a simple model of protein folding*. Science 273, 666-669.
- Liautard, J-P. 1991. *Are prions misfolded molecular chaperones?* FEBS Lett. 294, 155-157.
- Lindquist, S. 1986. *The heat shock response*. Annu. Rev. Biochem. 55, 1151-1191.
- Lindquist, S. 1997. *Mad cows meet Psi-chotic yeast: the expansion of the prion hypothesis*. Cell 89, 495-498.
- Liu, J. and DeFranco, D.B. 1999. *Chromatin recycling of glucocorticoid receptors: Implications for multiple roles of heat shock protein 90*. Mol. Endocrinol. 13, 355-365.
- Liu, Y., Liang, S. and Tartakoff, A.M. 1996. *Heat shock disassembles the nucleolus and inhibits nuclear protein import and poly(A)⁺ RNA export*. EMBO J. 15, 6750-6757.
- Lithgow, G.J. and Kirkwood, T.B.L. 1996. *Mechanisms and evolution of aging*. Science 273, 80.
- Llorca, O., Galan, A., Carrascosa, J.L., Muga, A. and Valpuesta, J.M. 1998. *GroEL under heat shock. Switching from a folding to a storing function*. J. Biol. Chem. 273, 32587-32594.
- Lopez-Garcia, P. and Moreira, D. 1999. *Metabolic symbiosis at the origin of eukaryotes*. Trends in Biochem. Sci. 24, 88-93.
- Lu, P.J., Wulf, G., Zhou, X.Z., Davies, P. and Lu, K.P. 1999. *The prolyl isomerase Pin1 restores the function of Alzheimer-associated phosphorylated tau protein*. Nature, 399, 784-788.
- Luby-Phelps, K., Lanni, F. and Taylor, D.L. 1988. *The submicroscopic properties of cytoplasm as a determinant of cellular function*. Annu. Rev. Biophys. Biophys. Chem. 17, 369-396.
- Lukacs, K.V., Lowrie, D.B., Stokes, R.W. and Colston, M.J. 1993. *Tumor cells transfected with a bacterial heat-shock gene lose tumorigenicity and induce protection against tumors*. J. Exp. Med. 178, 343-348.
- Macario, A.J.L., Lange, M., Ahring, B.K. and Conway de Macario, E. 1999. *Stress genes and proteins in the archaea*. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 63, 923-967.
- Macejak, D.G. and Sarnow, P. 1991. *Internal initiation of translation mediated by the 5' leader of a cellular mRNA*. Nature 353, 90-94.
- Madigan, M.T. and Mairs, B.I. 1997. *Extremophiles*. Sci. Am. 66-71.
- Maines, M.D. 1997. *The heme oxygenase system: A regulator of second messenger gases*. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 37, 517-554
- Maktahadze, G.I., Clore, G.M., Gronenberg, A.M. and Privalov, P.L. 1994. *Thermodynamics of unfolding of the all β -sheet protein interleukin-1 β* . Biochemistry 33, 9327-9332.
- Markesbery, W.R. and Carney, J.M. 1999. *Oxidative alterations in Alzheimer's disease*. Brain Pathol. 9, 133-146.

- Martin, J. and Hartl, F-U. 1997. *The effect of macromolecular crowding on chaperonin-mediated protein folding*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94, 1107-1112.
- Martin, W. and Müller, M. 1998. *The hydrogen hypothesis for the first eukaryote*. Nature 392, 37-41.
- Matlack, K.E.S., Misselwitz, B., Plath, K. and Rapoport, T.A. 1999. *BiP acts as a molecular ratchet during posttranslational transport of prepro- α factor across the ER membrane*. Cell 97, 553-564.
- Matthew Michael, W. 2000. *Nucleocytoplasmic shuttling signals: two for the price of one*. Trends in Cell Biol. 10, 46-50.
- Mayer, R.J., Arnold, J., László, L., Landon, M. and Lowe, J. 1991. *Ubiquitin in health and disease*. Biochim. Biophys. Acta 1089, 141-157.
- McKay, D.S., Gibson, E.K. Jr., Thomas-Keptra, K.L., Vali, H., Romanek, C.S., Clement, S.J., Chillier, X.D.F., Maechling, C.R. and Zare, R.N. 1996. *Search for past life on Mars: possible relic biogenic activity in martian meteorite ALH84001*. Science 273, 924-930.
- McNew, J.A. and Goodman, J.M. 1996. *The targeting and assembly of peroxisomal proteins: some old rules do not apply*. Trends in Biochem. Sci. 21, 54-58.
- Mehlin, H., Daneholt, B. and Skoglund, U. 1995. *Structural interaction between the nuclear pore complex and a specific translocating RNP particle*. J. Cell Biol. 129, 1205-1216.
- Menoret, A., Peng, P. and Srivastava, P.K. 1999. *Association of peptides with heat shock protein gp96 occurs in vivo and not after cell lysis*. Arch. Biochem. Biophys. 262, 813-818.
- Miller, S.L. 1953. *A production of amino acids under possible primitive Earth conditions*. Science 117, 528-529.
- Minet, E., Mottet, D., Michel, G., Roland, I., Raes, M., Remacle, J. and Michiels, C. 1999. *Hypoxia-induced activation of HIF-1: role of HIF-1 α -Hsp90 interaction*. FEBS Lett. 460, 251-256.
- Misteli, T. and Spector, D.L. 1998. *The cellular organization of gene expression*. Curr. Op. Cell Biol. 10, 323-331.
- Mohr, G., Caprara, M.G., Guo, Q. and Lambowitz, A.M. 1994. *A tyrosyl-tRNA synthetase can function similarly to an RNA structure in the Tetrahymena ribozyme*. Nature 370, 147-150.
- Monroy, A.F. and Dhindsa, R.S. 1995. *Low-temperature signal transduction: induction of cold acclimation-specific genes of alfalfa by calcium at 25 °C*. Plant Cell 7, 321-331.
- Montague, J.W., Hughes, F.M. Jr. and Cidlowski, J.A. 1997. *Native recombinant cyclophilins A, B, and C degrade DNA independently of peptidyl-prolyl cis-trans-isomerase activity. Potential roles of cyclophilins in apoptosis*. J. Biol. Chem. 272, 6677-6684.
- Montero, M., Alvarez, J., Scheenen, W.J.J., Rizzuto, R. and Meldolesi, J. 1997. *Ca²⁺ homeostasis in the endoplasmic reticulum: coexistence of high and low [Ca²⁺] subcompartments in intact HeLa cells*. J. Cell Biol. 139, 601-611.
- Morillas, M., Swietnicki, W., Gambetti, P. and Surewicz, W.K. 1999. *Membrane environment alters the conformational structure of the recombinant human prion protein*. J. Biol. Chem. 274, 36859-36865.
- Morimoto, R.I. 1999. *Regulation of the heat shock transcriptional response: cross talk between a family of heat shock factors, molecular chaperones, and negative regulators*. Genes Dev. 12, 3788-3796.

Morimoto, R.I., Sarge, K.D. and Abravaya, K. 1992. *Transcriptional regulation of heat shock genes. A paradigm for inducible genomic responses*. J. Biol. Chem. 267, 21987-21990.

Morita, M.T., Tanaka, Y., Kodama, T.S., Kyogoku, Y., Yanagi, H. and Yura, T. 1999. *Translational induction of heat shock transcription factor σ^{32} factor: evidence for a built-in RNA thermometer*. Genes Dev. 13, 655-665.

Mozhaev, V.V., Heremans, K., Frank, J., Masson, P. and Balny, C. 1996. *High pressure effects on protein structure and function*. Proteins 24, 81-91.

Multhoff, G. and Hightower, L.E. 1996. *Cell surface expression of heat shock proteins and the immune response*. Cell Stress Chaperones 1, 167-176.

Munoz, V. and Serrano, L. 1994. *Elucidating the folding problem of helical peptides using empirical parameters*. J. Mol. Biol. 245, 275-308. (<http://www.embl-heidelberg.de/Services/serrano/agadir/agadir-start.html>)

Nakagawa, T., Zhu, H., Morishima, N., Li, E., Xu, J., Yankner, B.A. and Yuan, J. 2000. *Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid- β* . Nature 403, 98-103.

Nakielnny, S. and Dreyfuss, G. 1999. *Transport of proteins and RNAs in and out of the nucleus*. Cell 99, 677-690.

Narhi, L., Wood, S.J., Steavenson, S., Jiang, Y.J., Wu, G.M., Anafi, D., Kaufman, S.A., Martin, F., Sitney, K., Denis, P., Louis, J.C., Wypych, J., Biere, A.R. and Citron, M. 1999. *Both familial Parkinson's disease mutations accelerate alpha-synuclein aggregation*. J. Biol. Chem. 274, 9843-9846.

Neira, J.L., Sevilla, P., Menendez, M., Bruix, M. and Rico, M. 1999. *Hydrogen exchange in ribonuclease A and ribonuclease S: evidence for residual structure in the unfolded state under native conditions*. J. Mol. Biol. 285, 627-643.

Netzer, W. J. and Hartl, F.-U. 1997. *Recombination of protein domains facilitated by co-translational folding in eukaryotes*. Nature 388, 343-349.

Neupert, W. 1997. *Protein import into mitochondria*. Annu. Rev. Biochem. 66, 863-917.

Niwa, M., Sidrauski, C. and Walter, P. 1999. *A role for presenilin-1 in nuclear accumulation of Ire1 fragments and induction of the mammalian unfolded protein response*. Cell 99, 691-702.

Ng, D.T.W. and Walter, P. 1996. *ER membrane protein complex required for nuclear fusion*. J. Cell Biol. 132, 499-509.

Oesterreich, S., Weng, C.N., Qiu, M., Hilsenbeck, S.G., Osborne, C.K. and Fuqua, S.A.W. 1993. *The small heat shock protein hsp27 is correlated with growth and drug resistance in human breast cancer cell lines*. Cancer Res. 53, 4443-4448.

Orengo, C.A., Jones, D.T. and Thornton, J.M. 1994. *Protein superfamilies and domain superfolds*. Nature 372, 631-634.

Ouali, M. and King, R.D. 2000. *Cascaded multiple classifiers for secondary structure prediction*. (<http://www.bmm.icnet.uk/~prof/>)

Pahl, H.L. and Baeuerle, P.A. 1995. *A novel signal transduction pathway from the endoplasmic reticulum to the nucleus is mediated by transcription factor NF- κ B*. EMBO J. 14, 2580-2588.

Paik, S.R., Shin, H.J., Lee, J.H., Chang, C.S. and Kim, J. 1999. *Copper(II)-induced self-oligomerization of alpha-synuclein*. Biochem. J. 340, 821-828.

Pande, V.S., Grosberg, A.Y. and Tanaka, T. 1994. *Thermodynamic procedure to synthesize heteropolymers that can renature to recognize a given target molecule*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91, 12976-12979.

Patthy, L. 1999. *Evolution of proteins*. Blackwell Science, Oxford.

- Pauling, L., Corey, R.B. and Branson, H.R. (1951) *The structure of proteins: two hydrogen-bonded helical conformations of the polypeptide chain*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 37, 205-211.
- Peitsch, M.C. (1995) *Protein modeling by e-mail*. Bio/Technology 13, 658-660. (<http://expasy.hchuge.ch/swissmod/SWISS-MODELEL.htm>)
- Pelham, H.R. 1984. *Hsp70 accelerates the recovery of nucleolar morphology after heat shock*. EMBO J. 3, 3095-3100.
- Perdrizet, G.A., Kaneko, H., Buckely, T.M., Fishman, M.S., Pleau, M., Bow, L. and Schweizer, R.T. 1993. *Heat shock recovery protects renal allografts from warm ischemic injury and enhances HSP72 production*. Transpl. Proc. 25, 1670-1673.
- Perez-Terciz, C., Jaconi, M. and Clapham, D.E. 1997. *Nuclear calcium and the regulation of the nuclear pore complex*. BioEssays 19, 787-792.
- Peters, J.-M. 1998. *SCF and APC: the Yin and Yang of cell cycle regulated proteolysis*. Curr. Op. Cell Biol. 10, 759-768.
- Petersen, R. and Lindquist, S. 1988. *The Drosophila hsp70 message is rapidly degraded at normal temperatures and stabilized by heat shock*. Gene 72, 161-168.
- Pfanner, N., Craig, E.A. and Meijer, M. 1994. *The protein import machinery of the mitochondrial inner membrane*. Trends in Biochem. Sci. 19, 368-372.
- Plempner, R.K. and Wolf, D.H. 1999. *Retrograde protein translocation: ERADication of secretory proteins in health and disease*. Trends in Biochem. Sci. 24, 266-270.
- Pratt, W.B. 1997. *The role of the Hsp90-based chaperone system in signal transduction by nuclear receptors and receptors signaling via MAP kinase*. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 37, 297-326.
- Pratt, W.B., Silverstein, A.M. and Galigniana, M.D. 1999. *A model for the cytoplasmic trafficking of signalling proteins involving the Hsp90-binding immunophilins and p50^{cdc37}*. Cell. Signal. 11, 839-851.
- Price, P.B. 2000. *A habitat for psychrophiles in deep Antarctic ice*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97, 1247-1251.
- Priscu, J.C., Fritsen, C.H., Adams, E.E., Giovannoni, S.J., Paerl, H.W., McKay, C.P., Doran, P.T., Gordon, D.A., Lanoil, B.D. and Pinckney, J.L. 1998. *Perennial antarctic lake ice: an oasis for life in a polar desert*. Science 280, 2095-2098.
- Prodromou, C., Roe, S. M., O'Brien, R., Ladbury, J. E., Piper, P. W. and Pearl, L. H. 1997. *Identification and structural characterization of the ATP/ADP-binding site in the hsp90 molecular chaperone*. Cell 90, 65-75.
- Prusiner, S.B. 1996. *Molecular biology and pathogenesis of prion diseases*. Trends in Biochem. Sci. 21, 482-487.
- Punyiczki, M. and Fésüs, L. 1998. *Heat shock and apoptosis: the two defense systems of the organisms may have overlapping molecular elements*. In: Stress of Life from Molecules to Man, Csermely, P. (ed.) Ann. N. Y. Acad. Sci., 851, 67-74.
- Pyle, A.M. 1993. *Ribozymes: a distinct class of metalloenzymes*. Science 261, 709-714.
- Raina, S. and Missiakas, D. 1997. *Making and breaking disulfide bonds*. Annu. Rev. Microbiol. 51, 179-202.
- Ramachandran, G.N. and Sasisekharan, V. 1968. *Conformation of polypeptides and proteins*. Adv. Protein Chem. 23, 283-437.
- Rao, P.N. and Engelberg, J. 1965. *HeLa cells: effects of temperature on the life cycle*. Science 148, 1092-1094.

- Richard, S.B., Madern, D., Garcin, E. and Zaccai, G. 2000. *Halophilic adaptation: novel solvent protein interactions observed in the 2.9 and 2.6 Å resolution structures of the wild type and a mutant of malate dehydrogenase from Haloarcula marismortui*. *Biochemistry* 39, 992-1000.
- Richards, F.M. 1977. *Areas, volumes, packing and protein structure*. *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.* 6, 151-176.
- Rikhvanov, E.G., Varakina, N.N., Sozinov, D.Y. and Voinikov, V.K. 1999. *Association of bacteria and yeasts in hot springs*. *Appl. Env. Microbiol.* 65, 4292-4293.
- Roemmich, D. 1992. *Ocean warming and sea level rise along the southwest U.S. coast*. *Science* 257, 373-375.
- Romero, P., Obradovic, Z. and Dunker, A.K. 1999. *Folding minimal sequences: the lower bound for sequence complexity of globular proteins*. *FEBS Lett.* 462, 363-367.
- Rost, B. and Sander, C. 1993. *Improved prediction of protein secondary structure by use of sequence profiles and neural networks*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 7558-7562. (<http://dodo.cpmc.columbia.edu/predictprotein/>)
- Russell, S.J., Reed, S.H., Huang, W., Friedberg, E.C. and Johnston, S.A. 1999. *The 19S regulatory complex of the proteasome functions independently of proteolysis in nucleotide excision repair*. *Mol. Cell* 3, 687-695.
- Rutherford, S.L. and Lindquist, S. 1998. *Hsp90 as a capacitor for morphological evolution*. *Nature* 396, 336-342.
- Samali, A. and Orrenius, S. 1998. *Heat shock proteins: regulators of stress response and apoptosis*. *Cell Stress and Chaperones* 3, 228-236.
- Samali, A., Cai, J., Zhivotovsky, B., Jones, D.P. and Orrenius, S. 1999. *Presence of a pre-apoptotic complex of pro-caspase-3, Hsp60, and Hsp10 in the mitochondrial fraction of Jurkat cells*. *EMBO J.* 18, 2040-2048.
- Santagana, S., Bhattacharyya, D., Wang, F-H., Singha, N., Hodtsev, A. and Spanopoulou, E. 1999. *Molecular cloning and characterization of a mouse homolog of bacterial ClpX, a novel mammalian class II member of the Hsp100/Clp chaperone family*. *J. Biol. Chem.* 274, 16311-16319.
- Schatz, G. and Dobberstein, B. 1996. *Common principles of protein translocation across membranes*. *Science* 271, 1519-1526.
- Schidlowski, M. 1988. *A 3,800-million-year isotopic record of life from carbon in sedimentary rocks*. *Nature* 333, 313-318.
- Schindelin, H., Marahiel, M.A. and Heinemann, U. 1993. *Universal nucleic acid-binding domain revealed by crystal structure of the B. subtilis major cold-shock protein*. *Nature* 364, 164-168.
- Schirmer, E.C., Glover, J.R., Singer, M.A. and Lindquist, S. 1996. *HSP100/Clp proteins: a common mechanism explains diverse functions*. *Trends Biochem. Sci.* 21, 289-296.
- Schliwa, M., van Blerkom, J. and Porter, K.R. 1981. *Stabilization of the cytoplasmic ground substance in detergent-opened cells and a structural and biochemical analysis of its composition*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78, 4329-4333.
- Schnaider, T. 2000. *A 90 kDa dajkafehérjék működésének biokémiai alapjai*. Doktori (Ph.D.) értekezés, Semmelweis Egyetem, Budapest
- Schulz, G.E. and Schirmer, R.H. 1979. *Principles of protein structure*. Springer, New York.
- Sclavi, B., Sullivan, M., Chance, M.R., Brenowitz, M. and Woodson, S.A. 1998. *RNA folding at millisecond intervals by synchrotron hydroxyl radical footprinting*. *Science* 279, 1940-1943.

- Selye, H. 1936. *A syndrome produced by diverse noxious agents*. Nature 138, 32.
- Selye, H. 1956. *The Stress of Life*. McGraw-Hill, New York.
- Shinde, U.P. and Inouye, M. 1993. *Intramolecular chaperones and protein folding*. Trends. in Biochem. Sci. 18, 442-446.
- Shinde, U.P., Liu, J.J. and Inouye, M. 1997. *Protein memory through altered folding mediated by intramolecular chaperones*. Nature 389, 520-522.
- Smith, D.F., Whitesell, L. and Katsanis, E. 1998. *Molecular chaperones: biology and prospects for pharmacological intervention*. Pharmacol. Rev. 50, 493-513.
- Smith, K.L. Jr. and Kaufmann, R.S. 1999. *Long-term discrepancy between food supply and demand in the deep Eastern North Pacific*. Science 284, 1174-1177.
- Sohal, R.S. and Weindruch, R. 1996. *Oxidative stress, caloric restriction, and aging*. Science 273, 59-63.
- Sóti, Cs. and Csermely, P. 1998. *Molecular chaperones in the etiology and therapy of cancer*. Pathology Oncology Res. 4, 316-321.
- Sóti, Cs. and Csermely, P. 2000. *Molecular chaperones and the aging process*. Biogerontology 1, nyomtatás alatt
- Spieß, C., Beil, A. and Ehrmann, M. 1999. *A temperature-dependent switch from chaperone to protease in a widely conserved heat shock protein*. Cell 97, 339-347.
- Srinivas, V., Zhu, X., Salceda, S., Nakamura, R. and Caro, J. 1998. *Hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α) is a non-heme iron protein. Implications for oxygen sensing*. J. Biol. Chem. 273, 18019-18022.
- Srinivasan, R. and Rose, G.D. 1999. *A physical basis for protein secondary structure*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96, 14258-14263.
- Srivastava, P.K., Udono, H., Blachere, N.E. and Li, Z. 1994. *Heat shock proteins transfer peptides during antigen processing and CTL priming*. Immunogenetics 39, 93-98.
- Srivastava, P.K., Menoret, A., Basu, S., Binder, R.J. and McQuade, K.L. 1998. *Heat shock proteins come of age: primitive functions acquire new roles in an adaptive world*. Immunity 8, 657-665.
- St. John, R.J., Carpenter, J.F. and Randolph, T.W. 1999. *High pressure fosters protein refolding from aggregates at high concentrations*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96, 13029-13033.
- Stetter, K.O., Huber, R., Blöchl, E., Kurr, M., Eden, R.D., Fielder, M., Cash, H. and Vance, I. 1993. *Hyperthermophilic archaea are thriving deep North Sea and Alaskan oil reservoirs*. Nature 365, 743-745.
- Stevenson, M.A., Calderwood, S.K. and Hahn, G.M. 1981. *Rapid increases in inositol trisphosphate and intracellular Ca⁺⁺ after heat shock*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 137, 826-833.
- Storm, F.K., Mahvi, D.M. and Gilchrist, K.W. 1996. *Heat shock protein 27 overexpression in breast cancer lymph node metastasis*. Ann. Surg. Oncol. 3, 570-573.
- Storz, G. 1999. *An RNA thermometer*. Genes. Dev. 13, 633-636.
- Strahl, B.D. and Allis, C.D. 2000. *The language of covalent histone modifications*. Nature 403, 41-45.
- Strous, G.J. and Govers, R. 1999. *The ubiquitin-proteasome system and endocytosis*. J. Cell Sci. 112, 1417-1423.
- Struhl, K. 1996. *Chromatin structure and RNA polymerase II connection: implications for transcription*. Cell 84, 179-182.

- Subramaniam, V., Bergenheim, N.C.H., Gafni, A. and Steel, D.G. 1995. *Phosphorescence reveals a continued slow annealing of the protein core following reactivation of Escherichia coli alkaline phosphatase*. *Biochemistry* 34, 1133-1136.
- Sun, H-Q., Kwiatkowska, K. and Yin, H.L. 1995 *Actin monomer binding proteins*. *Curr. Op. Cell Biol.* 7, 102-110.
- Supattapone, S., Nguyen, H-O.B., Cohen, F.E., Prusiner, S.B. and Scott, M.R. 1999. *Elimination of prions by branched polyamines and implications for therapeutics*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 14529-14534.
- Suzuki, C.K., Rep, M., van Dijl, J.M., Suda, K., Grivell, L.A. and Schatz, G. 1997. *ATP-dependent proteases that also chaperone protein biogenesis*. *Trends in Biochem. Sci.* 22, 118-123.
- Szathmáry, E. 1999. *The origin of the genetic code. Amino acids as cofactors in an RNA world*. *Trends in Genetics* 15, 223-229.
- Szathmáry, E. és Maynard Smith, J. 2000. *Az élővilág eredete*. Vince kiadó, Budapest.
- Tamura, Y., Peng, P., Liu, K., Daou, M. and Srivastava, P.K. 1997. *Immunotherapy of tumors with autologous tumor-derived heat shock protein preparations*. *Science* 278, 117-120.
- Tamura, N., Lottspeich, F., Baumeister, W. and Tamura, T. 1998. *The role of tricorin protease and its aminopeptidase-interacting factors in cellular protein degradation*. *Cell* 95, 637-648.
- Tanford, C. 1980. *The hydrophobic effect*. Wiley, New York
- Tatar, M., Khazaeli, A.A. and Curtsinger, J.W. 1997. *Chaperoning extended life*. *Nature* 390, 30.
- Thirumalai, D. and Guo, Z. 1994. *Nucleation mechanism for protein folding and theoretical predictions for hydrogen-exchange labeling experiments*. *Biopolymers* 35, 137-140.
- Thrower, J.S., Hoffman, L., Rechsteiner, M. and Pickart, C.M. 2000. *Recognition of the polyubiquitin proteolytic signal*. *EMBO J.* 19, 94-102.
- Thulasiraman, V., Yang, C.F. and Frydman, J. 1999. *In vivo newly translated polypeptides are sequestered in a protected folding environment*. *EMBO J.* 18, 85-95.
- Török, Z., Vigh, L. and Goloubinoff, P. 1996. *Fluorescence detection of symmetric GroEL₁₄(GroES₇)₂ heterooligomers involved in protein release during the chaperonin cycle*. *J. Biol. Chem.* 271, 16180-16186.
- Török, Z., Horváth, I., Goloubinoff, P., Kovács, E., Glatz, A., Balogh, G. and Vigh, L. 1997. *Evidence for a lipochaperonin: association of active protein-folding GroESL oligomers with lipids can stabilize membranes under heat shock conditions*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 2192-2197.
- Trent, J.D., Kagawa, H.K., Yaoi, T., Olle, E. and Zaluzec, N.J. 1997. *Chaperonin filaments: The archaeal cytoskeleton?* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 5383-5388.
- Trieb, K., Gerth, R., Holzer, G., Grohs, J.G., Berger, P. and Kotz, R. 2000. *Antibodies to heat shock protein 90 in osteosarcoma patients correlate with response to neoadjuvant chemotherapy*. *Br. J. Cancer* 82, 85-87.
- Tsukiyama, T., Becker, P.B. and Wu, C. 1994. *ATP-dependent nucleosome disruption at a heat-shock promoter mediated by binding of GAGA transcription factor*. *Nature* 367, 525-532.
- Ullrich, O., Reinheckel, T., Sitte, N., Hass, R., Grune, T. and Davies, K.J.A. 1999. *Poly-ADP ribose polymerase activates nuclear proteasome to degrade oxidatively damaged histones*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 6223-6228.

- Urano, F., Wang, X-Z., Bertolotti, A., Zhang, Y., Chung, P., Harding, H.P. and Ron, D. 2000. *Coupling of stress in the ER to activation of JNK protein kinases by transmembrane protein kinase IRE1*. Science 287, 664-666.
- Vainberg, I.E., Lewis, S.A., Rommelaere, H., Ampe, C., Vandekerckhove, J., Klein, H.L. and Cowan, N.J. 1998. *Prefoldin, a chaperone that delivers unfolded proteins to cytosolic chaperonin*. Cell 93, 863-873.
- Vajda, T. 1999. *Cryo-bioorganic chemistry: molecular interactions at low temperature*. Cell. Mol. Life Sci. 56, 398-414.
- van den Berg, J.J., Op den Kamp, J.A., Lubin, B.H. and Kuypers, F.A. 1993. *Conformational changes in oxidized phospholipids and their preferential hydrolysis by phospholipase A₂: a monolayer study*. Biochemistry 32, 4962-4967.
- van den Berg, B., Ellis, R.J. and Dobson, C.M. 1999. *Effects of macromolecular crowding on protein folding and aggregation*. EMBO J. 18, 6927-6933.
- van den Ijssel, P., Norman, D.G. and Quinlan, R.A. 1999. *Molecular chaperones: small heat shock proteins in the limelight*. Curr. Biol. 9, R103-R105.
- van Eden, W., van der Zee, R., Paul, A.G.A., Prakken, B.J., Wendling, U., Anderton, S.M. and Wauben, M.H.M. 1998. *Do heat shock proteins control the balance of T-cell regulation in inflammatory diseases?* Immunol. Today 19, 303-307.
- van Hoof, A. and Parker, R. 1999. *The exosome: a proteasome for RNA?* Cell 99, 347-350.
- Vayssier, M. and Polla, B.S. 1998. *Heat shock proteins chaperoning life and death*. Cell Stress and Chaperones 3, 221-227.
- Vellai, T. and Vida, G. 1999. *The origin of eukaryotes: the difference between prokaryotic and eukaryotic cells*. Proc. R. Soc. Lond. B 266, 1571-1577.
- Venetianer, P. and Straub, F.B. 1963. *The enzymic reactivation of reduced ribonuclease*. Biochim. Biophys. Acta 67, 166-167.
- Verheij, M., Bose, R., Lin, X.H., Yao, B., Jarvis, W.D., Grant, S., Birrer, M.J., Szabo, E., Zon, L.I., Kyriakis, J.M., Halmovitz-Friedman, A., Fuks, Z. and Kolesnick, R.N. 1996. *Requirement for ceramide-initiated SAPK/JNK signalling in stress-induced apoptosis*. Nature 380, 75-79.
- Vigh, L., Los, D.A., Horváth, I. and Murata, N. 1993. *The primary signal in the biological perception of temperature: Pd-catalyzed hydrogenation of membrane lipids stimulated the expression of the desA gene in Synechocystis PCC6803*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90, 9090-9094.
- Vigh, L., Literáti, P.N., Horváth, I., Török, Z., Balogh, G., Glatz, A., Kovács, E., Boros, I., Ferdinándy, P., Farkas, B., Jaszlits, L., Jednákovits, A., Korányi, L. and Maresca, B. 1997. *Bimoclomol: A nontoxic, hydroxylamine derivative with stress protein-inducing activity and cytoprotective effects*. Nature Med. 3, 1150-1154.
- Vigh, L., Maresca, B. and Harwood, J.L. 1998. *Does the membrane's physical state control the expression of heat shock and other genes?* Trends in Biochem. Sci. 23, 369-374.
- Vogel, J.L., Parsell, D.A. and Lindquist, S. 1995. *Heat-shock proteins Hsp104 and Hsp70 reactivate mRNA splicing after heat inactivation*. Curr. Biol. 5, 306-317.
- Voges, D., Zwickl, P. and Baumeister, W. 1999. *The 26S proteasome: A molecular machine designed for controlled proteolysis*. Annu. Rev. Biochem. 68, 1015-1068.

- Vogt, G., Woell, S. and Argos, P. 1997. *Protein thermal stability, hydrogen bonds and ion pairs*. J. Mol. Biol. 269, 631-641.
- Voisine, C., Craig, E.A., Zufall, N., von Ahsen, O., Pfanner, N. and Voos, W. 1999. *The protein import motor of mitochondria: unfolding and trapping of preproteins are distinct and separable functions of matrix Hsp70*. Cell 97, 565-574.
- Wang, R.-F., O'Hara, E.B., Aldela, M., Bargmann, C.I., Gromley, H. and Kushner, S.R. 1998. *Escherichia coli mrsC is an allele of hflB, encoding a membrane-associated ATPase and protease that is required for mRNA decay*. J. Bacteriol. 180, 1929-1938.
- Wang, S.M., Khandekar, J.D., Kaul, K.L., Winchester, D.J. and Morimoto, R.I. 1999. *A method for the quantitative analysis of human heat shock gene expression using a multiplex RT-PCR assay*. Cell Stress Chaperones 4, 153-161.
- Warrick, J.M., Chan, H.Y.E., GrayBoard, G.L., Chai, Y.H., Paulson, H.L. and Bonini, N.M. 1999. *Suppression of polyglutamate-mediated neurodegeneration in Drosophila by the molecular chaperone Hsp70*. Nature Genetics 23, 425-428.
- Wächtershäuser, G. 1992. *Groundworks for an evolutionary biochemistry. The iron-sulphur world*. Prog. Biophys. Molec. Biol. 58, 85-201.
- Weitzel, G., Pilatus, U. and Rensing, L. 1987. *The cytoplasmic pH, ATP content and total protein synthesis rate during heat-shock protein inducing treatments in yeast*. Exp. Cell Res. 170, 64-79.
- Welch, W.J. 1992. *Mammalian stress response: cell physiology, structure/function of stress proteins, and implications for medicine and disease*. Physiol. Rev. 72, 1063-1081.
- Welch, W.J. and Brown, C.R. 1996. *Influence of molecular and chemical chaperones on protein folding*. Cell Stress Chaperones 1, 109-115.
- Welch, W.J. and Suhan, J.P. 1985. *Morphological study of the mammalian stress response: characterization of changes in cytoplasmic organelles, cytoskeleton, and nucleoli, and appearance on intranuclear actin filaments in rat fibroblasts after heat-shock treatment*. J. Cell Biol. 101, 1198-1211.
- White, O., Esien, J.A., Heidelberg, J.F., Hickey, E.K., Peterson, J.D., Dodson, R.J., Haft, D.H., Gwinn, M.L., Nelson, W.C., Richardson, D.L., Moffat, K.S., Qin, H., Jiang, L., Pamphile, W., Crosby, M., Shen, M., Vamathevan, J.J., Lam, P., McDonald, L., Utterback, T., Zalewski, C., Makarova, K.S., Aravind, L., Daly, M.J., Minton, K.W., Fleischmann, R.D., Ketchum, K.A., Nelson, K.E., Salzberg, S., Smith, H.O., Venter, J.C. and Fraser, C.M. 1999. *Genome sequence of the radioresistant bacterium Deinococcus radiodurans R1*. Science 286, 1571-1577.
- Wick, G., Schett, G., Amberger, A., Kleindienst, R. and Xu, Q. 1995. *Is atherosclerosis an immunologically mediated disease?* Immunol. Today 16, 27-33.
- Wickner, R.B., Edskes, H.K., Maddelein, M.L., Taylor, K.L. and Moriyama, H. 1999. *Prions of yeast and fungi: proteins as genetic material*. J. Biol. Chem. 274, 555-558.
- Wigley, W.C., Fabunmi, R.P., Lee, M.G., Marino, C.R., Muallem, S., DeMartino, G.N. and Thomas, P.J. 1999. *Dynamic association of proteasomal machinery with the centrosome*. J. Cell Biol. 145, 481-490.
- Williams, R.S. and Benjamin, I.J. 1992. *Stress proteins and cardiovascular disease*. Mol. Biol. Med. 8, 197-206.

- Williamson, M.P. 1994. *The structure and function of proline-rich regions in proteins*. Biochem. J. 297, 249-260.
- Woese, C.R. 1998. *The universal ancestor*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 6854-6859.
- Woese, C.R. and Fox, G.E. 1977. *Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74, 5088-5090.
- Wolf, S.G., Frenkiel, D., Arad, T., Finkel, S.E., Kolter, R. and Minsky, A. 1999. *DNA protection by stress-induced biocrystallization*. Nature 400, 83-85.
- Worrall, D., Elias, L., Ashford, D., Smallwood, M., Sidebottom, C., Lillford, P., Telford, J., Holt, C. and Bowles, D. 1998. *A carrot leucine-rich-repeat protein that inhibits ice recrystallization*. Science 282, 115-117.
- Wright, P.E. and Dyson, H.J. 1999. *Intrinsically unstructured proteins: re-assessing the protein structure-function paradigm*. J. Mol. Biol. 293, 321-331.
- Xanthoudakis, S., Roy, S., Rasper, D., Hennessey, T., Aubin, Y., Cassady, R., Tawa, P., Ruel, R., Rosen, A. and Nicholson, D.W. 1999. *Hsp60 accelerates the maturation of pro-caspase-3 by upstream activator proteases during apoptosis*. EMBO J. 18, 2049-2056.
- Xu, Q.B., Willeit, J., Marosi, M., Kleindienst, R., Oberhollenzer, F., Kiechl, S., Luef, G. and Wick, G. 1993. *Association of serum antibodies to heat-shock protein-65 with carotid atherosclerosis*. Lancet 341, 8840
- Xu, D.Z., Lu, Q., Swank, G.M. and Deitsch, A. 1996. *Effect of heat shock and endotoxin stress on enterocyte viability apoptosis and function varies based on whether the cells are exposed to heat shock or enterotoxin first*. Arch. Surg. 131, 1222-1228.
- Yaffe, M.B., Schutkowski, M., Shen, M., Zhou, X.Z., Stukenberg, P.T., Rahfeld, J.-U., Xu, J., Kuang, J., Kirschner, M.W., Fischer, G., Cantley, L.C. and Lu, K.P. 1997. *Sequence-specific and phosphorylation-dependent proline isomerization: a potential mitotic regulatory mechanism*. Science 278, 1957-1960.
- Yalovsky, S., Paulsen, H., Michaeli, D., Chitnis, P.R. and Nechushtai, R. 1992. *Involvement of a chloroplast Hsp70 heat shock protein in the integration of a protein (light harvesting complex protein precursor) into the thylakoid membrane*. Proc. Natl. Acad. Sci USA 89, 5616-5619.
- Yang, X-D and Feige, U. 1992. *Heat shock proteins in autoimmune disease. From causative antigen to specific therapy?* Experientia 48, 650-656.
- Yenari, M.A., Fink, S.L., Sun, G.H., Chang, L.K., Patel, M.K., Kunis, D.M., Onley, D., Ho, D.Y., Sapolsky, R.M., Steinberg, G.K. 1998. *Gene therapy with Hsp72 is neuroprotective in rat models of stroke and epilepsy*. Ann. Neurol. 44, 584-591.
- Yost, H.J. and Lindquist, S. 1986. *RNA splicing is interrupted by heat shock and is rescued by heat shock protein synthesis*. Cell 45, 185-193.
- Zaug, A.J. and Czech, T.R. 1986. *The intervening sequence RNA of Tetrahymena is an enzyme*. Science 231, 470-475.
- Zimmerman, S. B. and Minton, A. P. 1993. *Macromolecular crowding: biochemical, biophysical and physiological consequences*. Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 22, 27-65.

Biológiai szakkifejezések, fogalmak magyarázata

ADP (adenozin-difoszfát): Az ADP viszonylag kicsi molekula, amelyben a két foszfátcsoport magas energiatartalmú kötéssel kapcsolódik egymáshoz. Ha az ADP-nél magasabb energiatartalmú adenozin-trifoszfát (ATP) elbomlik, a reakció során ADP és foszfátion keletkezik, miközben energia szabadul fel. Az ATP bontása (ATP-áz aktivitás, ATP-hidrolízis) az eukarióta szervezetek egyik legfontosabb energiefel szabadító folyamata.

aggregáció: Az aggregáció az a folyamat, amelyben fehérjék vagy más, nagy molekulatömegű anyagok egymással ellenőrizetlen módon összetapadnak, és aggregátumokat képeznek. A fehérjeaggregátumok többsége nehezen bontható meg, és további fehérjék tapadásának kiindulópontjaként szolgál, emiatt nagy veszélyforrást jelent.

akutfázis-reakció: Az akutfázis-reakció a szervezet fertőzésekre adott általános védekezési mechanizmusa. Számos elemében hasonlít szervezet egészére kiterjedő gyulladáshoz. Ha az akutfázis-reakció túlpörög, halálhoz vezet, sokkos állapot alakulhat ki.

aminosav: Az aminosavak bázikus amino- ($-NH_2$) és savas karboxilcsoportot ($-COOH$) tartalmazó szerves vegyületek. Amennyiben a két csoport ugyanazon a szénatomon található, úgynevezett α -aminosavról beszélünk. A természetes fehérjék ilyen aminosavakat tartalmaznak.

antigén: Minden olyan anyagot, amely ellen a szervezet immunválaszt fejleszt ki, antigénnek nevezünk.

antitest: Az antitest a szervezet immunválasza során az antigének (*lásd ott*) ellen termelődő immunoglobulinok összefoglaló neve.

apoptózis (aktív vagy programozott sejthalál): Az apoptózis az a többsejtű élőlények sejteire jellemző folyamat, amelyben a sejt (bizonyos jelátvivő molekulák, vagy kezelhetetlenül magas stressz hatására) elpusztítja önmagát. A sejthalál során a sejt anyagának nagy részét becsomagolja, így a sejtpusztulás ezen formája a nekrozissal (*lásd ott*) ellentétben nem okoz gyulladáshoz vezető választ.

ATP (adenozin-trifoszfát): Az ATP az a viszonylag kicsi nukleotid (*lásd ott*), amelyben a három foszfátcsoport magas energiatartalmú kötéssel kapcsolódik egymáshoz. Az ATP az eukarióta szervezetek egyik legfontosabb energiatároló molekulája. Bomlásakor ADP (adenozin-difoszfát) és foszfátion keletkezik, miközben energia szabadul fel. Az ATP bontása (ATP-áz aktivitás, ATP hidrolízis) az eukarióta szervezetek kiemelt fontosságú energia-fel szabadító folyamata.

átszabás (splicing): Az átszabás az eukarióta (*lásd ott*) élőlények RNS-ére jellemző folyamat. Az átszabás során a DNS-ről lemásolt kiindulási, teljes RNS-ből bizonyos szakaszok (intronok, *lásd ott*) kivágódnak. A kivágás után

az RNS fehérjét kódoló szakaszai (exonok, *lásd ott*) összekötődnek, és az így kialakult hírvivő RNS segítségével kerül sor a fehérje szintézisére.

axonális transzport: Az axonális transzport olyan transzportfolyamat, amelyre az idegsejtek hosszú nyúlványaiban kerül sor.

C-terminális: A C-terminális a peptidek és fehérjék azon részlete, amely tartalmazza a szabad karboxilcsoporttal (-COOH) rendelkező aminosavat. Ezt a szélső aminosavat C-terminális aminosavnak is hívjuk.

centroszóma: A centroszóma az a sejtmaghoz (*lásd ott*) közel található sejtalkotó, amely kiindulási pontjaként szolgál a sejtben található mikrotubulusoknak (*lásd ott*). Ez a sejt szervecske irányítja a sejtosztódást és a sejt mozgását. A centroszómának a sejtalkak meghatározásában is döntő szerepe van.

chaperonok (dajkafehérjék): A chaperon a stresszfehérjéknek a funkciójukra utaló, angolszász elnevezése (magyarul: dajkafehérje). A chaperonok segítenek a frissen született fehérjék betekeredésében, illetve segítik az elromlott fehérjék visszatekeredését. A fehérjék mellett más, kis molekulatömegű anyagok is képesek kifejtetni chaperonhatást (*lásd kémiai chaperonok*).

cisz-transz izoméria: A szabad elfordulásra képtelen kötéseket tartalmazó vegyületekben a kötéseket körülvevő atomok két, egymástól jól megkülönböztethető térállásban létezhetnek. Az a térállás, amikor a nagyobb térigényű csoportok egymáshoz közel helyezkednek el, a „cisz”-állapot, az pedig, amikor a nagyobb térigényű csoportok távol vannak egymástól, a „transz”-állapot. Általában a „cisz”-állapot energiája a nagyobb. A két állapot csak akkor tud átalakulni egymásba, ha a rendszerrel átmenetileg energiát közlünk.

citokin: A citokin olyan, általában peptidtermészetű molekula, amellyel az immunfolyamatokban résztvevő sejtek a többi sejt működését befolyásolják. A citokinek közé tartoznak például az interferonok és az interleukinek.

citoszkeleton: A citoszkeleton az állati sejtekre jellemző belső vázrendszer. Legfontosabb összetevői a mikrofilamentumok (*lásd ott*), a mikrotubulusok (*lásd ott*) és a köztes filamentumok (*lásd ott*).

Coulomb-erők: A Coulomb-erők két azonos, vagy ellentétes töltés között ébredő elektrosztatikai taszító-, illetve vonzóerők.

dajkafehérjék (chaperonok): A dajkafehérje a stresszfehérjéknek a funkciójukra utaló, magyar megnevezése (az angolszász irodalomban használatos névvel: chaperon). Dajkafehérjék segítenek a frissen született fehérjék betekeredésében, illetve segítik az elromlott fehérjék visszatekeredését.

denaturálás: A denaturálás az a folyamat, amelyben a fehérje, RNS, vagy DNS a sejtben felvett, általában minimális energiájú állapotát elveszti. A

denaturálás során a molekula szerkezete megbomlik, és eredeti tulajdonságai (például enzimaktivitása, kötődése más anyagokhoz) elvesznek.

detergens: A detergens olyan molekula, amelyben egyszerre megtalálható a hidrofil (*lásd ott*) és a hidrofób (*lásd ott*) rész. A detergens a hidrofób részével a vízbe került hidrofób anyagokhoz tapad, és a felszínükön hidrofil réteget képez. Ezáltal a hidrofób anyagok vízoldhatóvá válnak. Detergenshatású anyagok a mosószerek is.

dezoxiribóz: A dezoxiribóz olyan ötszénatomos cukormolekula, amelyben a 2-es pozícióban lévő hidroxilcsoport (-OH) hiányzik. A dezoxiribóz a DNS egyik fő alkotóeleme. A hidroxilcsoport hiánya a DNS-t a ribózt (*lásd ott*) tartalmazó RNS-nél kémiaiailag ellenállóbbá teszi.

dielektromos állandó: A dielektromos állandó az oldószerek polaritására jellemző fiziko-kémiai állandó. A magas dielektromos állandójú oldószerek (például a víz) polárosak, az alacsony dielektromos állandójú oldószerek apolárosak.

dipólus: Ha egy testen (a könyben előforduló példákban: molekulán) belül a pozitív és negatív töltések súlypontja nem esik egybe, dipólusról beszélünk.

DNS-giráz: A DNS-giráz olyan, a topoizomerázok csoportjába tartozó bakteriális enzim, amely a kettősláncú DNS további csavarulatait (szupertekercseit) képes létrehozni.

elektronegativitás: Az elektronegativitás annak a mértékéül szolgáló mennyiség, hogy az egyes atomok mennyire húzzák magukhoz a kovalens kötés (*lásd ott*) elektronpárját egy másik atommal alkotott vegyületükben. A kötő elektronpár az alacsony elektronegativitású atomoktól (például hidrogén) a magas elektronegativitású atomok (például halogének, oxigén, nitrogén, kén, és foszfor) felé tolódik el.

elektronmikroszkóp: Az elektronmikroszkópia olyan képalkotó eljárás, amelyben elektronsugarat használnak a tárgy vizsgálatára. Transzmissziós elektronmikroszkópia esetén az elektronok elnyelődése és eltérése ad a tárgyról információt, pásztázó elektronmikroszkópia esetén pedig a visszavert, illetve szórt elektronokból lehet erre következtetni. Az elektronmikroszkóp segítségével a szokásos fénymikroszkópiái eljárásoknál több nagyságrenddel finomabb felbontásban lehet vizsgálni a sejt egyes alkotóelemeit, illetve a nagyobb méretű molekulákat.

elektroszmog: Az elektroszmog azoknak az elektromágneses hullámoknak az összefoglaló neve, amelyben korunk embere él.

endoplazmatikus retikulum: Az endoplazmatikus retikulum olyan, az eukarióta (*lásd ott*) sejtekben található membránrendszer (*lásd ott*), amely a szekrécióra (*lásd ott*) kerülő, illetve a plazmamembránba jutó fehérjék felkészítését végzi. A durva felszínű endoplazmatikus retikulumhoz riboszómák kötnek. Az endoplazmatikus retikulum folytatása a sejtmag (*lásd ott*) membránja. A retikulum lipidhólyagok cseréjével összeköttetésben áll a

Golgi-rendszerrel (*lásd ott*) és a plazmamembránnal is. Az endoplazmatikus retikulumban szintetizálódik a sejt lipidjeinek (*lásd ott*) döntő része.

entrópia: Az entrópia a rendezetlenség mértéke. Minél rendezetlenebb egy rendszer, annál magasabb az entrópiája. Zárt rendszerben a folyamatok az entrópia növekedése irányában zajlanak. Entrópiacsökkenés (rendeződés) csak energiaközlés árán lehetséges.

enzim: Az enzim olyan makromolekula (általában fehérje, de akár RNS, sőt DNS is), amely valamely kémiai reakció szelektív gyorsítására képes.

eubaktérium: Az eubaktériumok a baktériumoknak a köznapi értelemben vett népes családját jelölik. Az eu- (valódi) előtag a baktériumoknak az ősbaktériumoktól (archaebaktériumoktól, *lásd ott*) való megkülönböztetésére szolgál.

eukarióta: Az eukarióta megnevezés olyan egy- és többsejtű élőlények összefoglaló neve, amelyekben az örökítő információkat hordozó DNS döntő többsége membránnal határolt külön sejtszervecskében (a sejtmagban, *lásd ott*) foglal helyet. Az eukarióta szerveződések DNS-éhez hisztonok (*lásd ott*) kötődnek, és legtöbb képviselőjük sejtjeiben a mikrofilamentális (*lásd ott*) és a mikrotubuláris (*lásd ott*) rendszer mellett mitokondriumok (*lásd ott*) is találhatóak.

exon: Az exonok az eukarióta (*lásd ott*) DNS-ről szintetizálódó RNS azon darabkái, amelyek az adott génhez tartozó fehérjét kódolják. A DNS-ről szintetizálódó RNS-ben az exonok a legtöbb esetben nem egymás mellett találhatóak, hanem fehérjéket nem kódoló részek, intronok (*lásd ott*) választják el őket egymástól.

féléletidő: A féléletidő az az időtartam, amely alatt az adott molekula (fehérje, RNS stb.) eredeti mennyisége a felére csökken. A kis féléletidejű molekulák gyorsan bomlanak, míg a nagy féléletidő viszonylag magas stabilitást jelöl.

foldoszóma: A foldoszóma az eukarióta (*lásd ott*) citoszol stresszfehérje komplexe, amely számos fehérje kináz, illetve nukleáris (sejtmagbéli) receptor betekeredésének segítéséért, és aktiválódásra képes állapotban tartásáért felelős. A foldoszóma a Hsp90 stresszfehérje körül szerveződik.

foszfatáz: A foszfatáz azon enzimek összefoglaló neve, amelyek hidrolitikus aktivitásuk révén eltávolítják a fehérjék szerin, treonin és tirozin aminosavainak hidroxilcsoportjára (-OH) kötődött foszfátcsoportokat. A foszfatázok a fehérje kinázok (*lásd ott*) által katalizált reakció megfordítását végzik.

foszforiláció: A foszforiláció annak a folyamatnak a neve, amelyben a fehérje kinázok (*lásd ott*) az adozin-trifoszfát (*lásd ott*) energiájának felhasználásával a fehérjék szerin, treonin és tirozin aminosavainak hidroxilcsoportjára (-OH) foszfátcsoportokat kötnek. A foszfátcsoportok a fehérjét többlet negatív töltéssel látják el, amitől a fehérje alakja és tulajdonságai módosulnak. A foszforiláció az eukarióta sejtekben a fehérjeműködés legfontosabb és leggyakoribb szabályozási módja.

galaktóz: A galaktóz olyan hat szénatomos cukormolekula, amelyben az egyik hidroxilcsoport a glukózhoz (*lásd ott*) képest ellentétes térállású. A galaktóz a tejcukor egyik alkotórésze.

gliasejtek: A gliasejtek az idegsejteket körülvevő sejtek, amelyek támasztják, és izolálják az idegsejteket egymástól, valamint számos más módon segítik működésüket.

glikolízis: A glikolízis a glukóz (*lásd ott*) és más szénhidrátok, cukrok lebontását eredményező, általános energiatermelő folyamat.

glukokortikoid: A glukokortikoidok olyan szteroidhormonok, amelyek a glukóz (*lásd ott*) szintéziséhez és raktározásához vezető folyamatokat felgyorsítják. A glukokortikoidok gyulladáscsökkentő és az immunrendszer működését gátló hatással is rendelkeznek.

glukózregulált fehérje: A glukózregulált fehérjék a stresszfehérjék azon csoportjai, amelyeknek a táptalaj glukózkoncentrációjának csökkentése után fokozott szintézise figyelhető meg. A legtöbb glukózregulált fehérje az endoplazmatikus retikulumon belül segíti más fehérjék tekeredését, de bizonyos képviselőik előfordulnak másutt (például a mitokondriumban, *lásd ott*) is.

glukózamin: A glukózamin olyan hatszénatomos cukormolekula, ahol a glukóz (*lásd ott*) egyik hidroxilcsoportjához (-OH) egy aminocsoport (-NH₂) kapcsolódik.

Golgi-rendszer: A Golgi-rendszer az eukarióta (*lásd ott*) sejtek leg többjében megtalálható olyan membránrendszer, amely a szekrécióra szánt (*lásd ott*) vagy a plazmamembránba kerülő fehérjék felkészítésének végső szakaszában vesz részt. A Golgi-rendszer az endoplazmatikus retikulum (*lásd ott*), a plazmamembrán és a lizoszómák (*lásd ott*) közötti fehérjeforgalmat irányítja.

hidrátburok: A hidrátburok a vízmolekuláknak a vízben oldott anyagok körül kialakuló, rendezett rétege.

hidrofil, hidrofób: A hidrofil (vízkedvelő), illetve a hidrofób (víztaszító) anyagok egymástól a polaritásukban különböznek. A hidrofil anyagok polárosak, azaz bennük az elektromos töltések megoszlása nem egyenletes. A hidrofób anyagok apolárosak, azaz egyenletes töltéseloszlásúak. A hidrofil anyagok vízoldhatók, a hidrofób anyagokat apoláros oldószerekben lehet csak feloldani.

hidrogénhíd: A hidrogénhíd kötés olyan másodlagos kötés (*lásd ott*), amelyben két, elektrópárral rendelkező, magas elektronegativitású (*lásd ott*) atom, mint hidrógenatom között egy proton (hidrogénatom) található. A hidrogénhíd kötés átlagos energiája a kovalens kötés (*lásd ott*) energiájának mintegy egytizede.

hipoxia: A hipoxia oxigénhiányos állapotot jelöl.

hiszton: A hisztonok olyan pozitív töltésű fehérjék, amelyek eukarióta (*lásd ott*) szervezetekben a DNS-hez kötnek és annak szerkezetét stabilizálják.

hősokkfehérje: A hősokkfehérjék a stresszfehérjék azon csoportjai, amelyeknek a sejt felmelegítése (hősokk) után fokozott szintézise figyelhető meg.

Hsp: A Hsp a hősokkfehérjéknek (*lásd ott*) az angolszász elnevezésük után (heat shock protein) használatos rövidített neve. A Hsp megjelölés után következő szám az adott fehérje kiloDalton-ban (*lásd ott*) megadott molekulatömegére utal.

in vitro: Az *in vitro* megjelölés azoknak a mesterségesen beállított és fenntartott kísérleti körülményeknek az összefoglaló neve, amelyek legfeljebb utánozni próbálják az élő szervezetben uralkodó viszonyokat.

in vivo: Az *in vivo* megjelölés az olyan körülmények között elvégzett kísérleteknek az összefoglaló neve, ahol a vizsgált objektumot az élő szervezetben folytatott, eredeti működése közben próbáljuk megfigyelni.

intron: Az intronok az eukarióta (*lásd ott*) DNS-ről szintetizálódó RNS azon darabkái, amelyek nem kódolnak fehérjét. A DNS-ről szintetizálódó RNS-ben az intronok a fehérjét kódoló részeket, az exonokat (*lásd ott*) választják el egymástól.

iszkémia: Az iszkémia olyan keringési zavar, amely oxigénhiányhoz (hipoxiához, *lásd ott*) vezet.

kDa (kiloDalton): A kiloDalton a nagyobb méretű molekulák molekulatömegének mértékegysége. Például 100 kDa molekulatömegű fehérjének egy mólja (*lásd ott*) 100 000 g, azaz 10 kg tömegű.

katalízis: A katalízis az a folyamat, amikor egy anyag (a katalizátor) úgy gyorsítja meg a kémiai reakció sebességét, hogy csak átmenetileg vesz részt a reakcióban, és a reakció végén változatlan formában megmarad. A katalízis során a reakció egyensúlyi viszonyai nem változnak. A katalizált reakcióelegy ugyanazt az egyensúlyi állapotot hamarabb éri el.

kémiai chaperon: A kémiai chaperon olyan kis molekulatömegű anyag (peptid, cukor, detergens stb.), amely viszonylag nagyobb koncentrációban alkalmazva segíti a fehérjék betekeredését.

kináz (fehérje kináz): A fehérje kináz azon enzimek összefoglaló neve, amelyek ATP (*lásd ott*) hidrolízise révén a fehérjék szerin, treonin és tirozin aminosavainak hidroxilcsoportjára (-OH) foszfátcsoportokat kötnek rá. A foszfátcsoportokat foszfatáz enzimek (*lásd ott*) távolítják el a fehérje kinázok által foszforilált (*lásd ott*) fehérjékről.

koenzim: A koenzim olyan kisebb molekulatömegű anyag (igen gyakran nukleotid vagy nukleotid-származék, *lásd ott*), amely fehérjékhez, enzimekhez kötődve segíti az általuk meggyorsított enzimreakciót.

kollagén: A kollagén a sejten kívüli állomány egyik legfontosabb fibrózus fehérjéje, amely a sejtekből felépülő szövetek kialakításában vesz részt.

konformáció: A konformáció kisebb vagy nagyobb molekulák (például fehérjék) térszerkezete. A konformáció általában olyan egyedi, térbeli elrendeződést jelöl, amely az esetek többségében csak átmeneti, és a tőle csak kevésé eltérő, „szomszédos” konformációkba átalakul.

kovalens kötés: A kovalens kötés két atom között egy, vagy több elektronpár által létrehozott, stabil kötési forma.

köztes filamentum: A köztes filamentum az eukarióta (*lásd ott*) sejtek egy részében megtalálható, körülbelül 10 nm átmérőjű, fonalszerű fehérjekomplex. A köztes (intermedier) filamentum sokféle fehérjéből felépülhet, például dezminből, vimentinből, citokeratinokból, de a köztes filamentumok közé tartozik a sejtmag (*lásd ott*) szerkezetét biztosító laminhálózat is.

kromatin: Az éppen nem osztódó eukarióta sejtekben a DNS-t és a DNS-hez tapadó fehérjék összességét együttesen kromatinnak nevezzük.

Le Chatelier-elv: A Le Chatelier-elv az egyensúlyban lévő folyamatokra jellemző általános elv, amely kimondja, hogy ha az egyensúlyt valamilyen külső hatás megzavarja, az egyensúly olyan irányban tolódik el, hogy minimalizálja az adott hatás által okozott változást.

limfocita: A limfociták az immunrendszer azon sejtjes alkotóelemei, amelyek vagy immunoglobulinok termelésével (B-limfociták) vagy sejt-sejt kölcsönhatásokkal (T-limfociták) vesznek részt az idegen anyag semlegesítésében.

lipid: A lipid elnevezés olyan hidrofób és hidrofil alkotóelemeket egyaránt tartalmazó szerves molekulákból álló népes családot jelöl, amely zsírsavakat, zsírokat, olajokat, membránalkotó lipideket és más hidrofób oldószerben oldódó anyagokat (például szteroidok, lipidoldékony vitaminok stb.) egyaránt tartalmaz.

lipoprotein: A lipoprotein azoknak a vérben keringő fehérjéknek az összefoglaló neve, amelyeknek fő feladata a lipidek (*lásd ott*) szállítása a szervezetben belül.

lizoszóma: A lizoszóma az eukarióta sejtek azon savas beltartalmú sejt szervecskéje, amely a különböző molekulák lebontására szakosodott.

lumen: A lumen az eukarióta sejt sejt szervecskéinek membránokkal határolt belső tere.

mágnemes rezonancia spektroszkópia (NMR): Az NMR olyan vizsgálati eljárás, ahol a mágnemes dipólusmomentummal rendelkező atommagot (például ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{31}P) mágnemes térbe helyezik. Itt a dipólus a mágnemes térrel párhuzamosan áll be. Ha ilyenkor a magi dipólust rádiófrekvenciás hullámokkal gerjesztik, átfordul. A gerjesztéshez szükséges frekvencia pontos értéke az adott mágnemes tér nagyságától is függ. E mágnemes teret a mágnemes dipólusmomentummal rendelkező atommag körüli elektronok árnyékolják. Más-más elektroneloszlás más-más lokális mágnemes teret, és ebből következően más-más gerjesztési frekvenciát okoz. Az egyes atomok egymástól való távolsága így becsülhető, amiből nagyobb molekulák (például fehérjék) pontos, oldatbeli térszerkezete is megállapítható.

makrofág: A makrofág olyan sejt, amely a szervezetbe került idegen anyagokat bekebelezi, fagocitálja. A makrofágok az immunrendszer részei, fontos szerepük van abban a folyamatban (az antigén prezentációban), amellyel az immunrendszer az antigéneket (*lásd ott*) felismeri.

mannóz: A mannóz olyan hatszénatomos cukormolekula, amelyben az egyik hidroxilcsoport (-OH) a glukózhoz (*lásd ott*) képest ellentétes térállású. A mannóz a legfontosabb alkotóeleme a glikoproteidekre legelőször rákerülő cukorcsomagnak.

másodlagos kötés: A másodlagos kötés mindazon kötéstípusok összefoglaló neve, amelyek gyengébb kölcsönhatásokat létesítenek két atom között, mint az elsődleges (másnéven kovalens, *lásd ott*) kötések. A másodlagos kötések közé tartoznak a hidrogénhid kötések (*lásd ott*), a Coulomb-erők (*lásd ott*) és a van der Waals-kötések (*lásd ott*).

membrán: A membrán lipidmolekulákból álló olyan kettősréteg, amelyben a lipidek hidrofób részei a membrán belseje, hidrofil részei pedig a membrán felszíne irányában helyezkednek el. A természetes membránok mindig tartalmaznak hidrofób membránfehérjéket is. Magasabb hőmérsékleten számos lipid nem membránformáló kettősrétegben, hanem hatszögű csövekben stabilizálódik.

mikrofilamentumok: A mikrofilamentumok 5-7 nm átmérőjű, aktinból felépülő szálak az eukarióta sejteken belül. A mikrofilamentumok a mikrotubulusokkal (*lásd ott*) együtt a sejt váz kialakításában és a sejt mozgásában vesznek részt.

mikrotubulusok: A mikrotubulusok 25 nm külső átmérőjű, tubulinból felépülő szálak az eukarióta sejteken belül. A mikrotubulusok a mikrofilamentumokkal (*lásd ott*) együtt a sejt váz kialakításában és a sejt mozgásában vesznek részt.

mitokondrium: A mitokondrium az eukarióta sejtek energiatermelésre szakosodott sejt szervecskéje. A mitokondriumokban folyik a Szent-Györgyi—Krebs-ciklus (*lásd ott*), a terminális oxidáció, az ATP-szintézis és a sejt számos más anyagcsere folyamata. A mitokondriális oxidáció melléktermékeként káros oxigén szabadgyökök (*lásd ott*) keletkeznek.

mól: A mól az anyagmennyiségre jellemző kémiai fogalom. Egy mól anyagban 6×10^{23} darab molekula van. A molekulatömeg egy mól anyag tömege

grammokban kifejezve, amelyet Daltonnal, illetve nagyobb molekulatömegű anyagok, például fehérjék esetén a Dalton ezerszeresével, kiloDaltonnal (kDa, *lásd ott*) jelölünk.

N-terminális: Az N-terminális a peptidek és a fehérjék azon részlete, amely a szabad aminocsoporttal (-NH₂) rendelkező aminosavat tartalmazza. Ezt a szélső aminosavat N-terminális aminosavnak is hívjuk.

natív állapot: A natív állapot a fehérjéknek, illetve más, nagy molekulatömegű anyagoknak az állapota, amelyben szerkezetük az élő sejtben megtalálható szerkezettel azonos. Natív állapotban a molekula a legtöbb esetben olyan konformációban van (*lásd ott*), amely a legmélyebb energiával rendelkezik. A natív állapotú molekula enzimaktivitása és/vagy specifikus kötődési tulajdonságai maximálisak.

nekrózis: A nekrosis a sejtek elhalásának az a formája, amelyben a sejt integritása megszűnik, a sejt kipukkad, és belső tartalmának jelentős részét a környezetében szétszórja. A nekrosis általában akkor következik be, ha a sejtben tartós adenozin-trifoszfát (ATP, *lásd ott*) hiány alakul ki. A nekrotizált sejt (az apoptózisos sejttel ellentétben, *lásd ott*) a környezetében gyulladásozó folyamatokat indít el.

nukleáris (sejtmagbéli) hormonreceptorok: A nukleáris (sejtmagbéli) receptorok olyan, a sejt belsejében elhelyezkedő fehérjék, amelyek nukleáris hormonokat kötnek. A sokszájfajta nukleáris receptor által megkötött anyagok olyan hidrofób (*lásd ott*) molekulák, például szteroidok, amelyek hatására a receptor a sejtmagban meghatározott DNS-szakaszokhoz köt, és az adott DNS-szakasz által szabályozott gén termelődését megindítja vagy gátolja.

nukleáz: A nukleázok olyan enzimek, amelyek RNS-t vagy DNS-t hasítanak, és ezáltal kisebb-nagyobb darabokra bontanak.

nukleotid: A nukleotidok bázisokból, szénhidrátból (ribóz vagy dezoxiribóz, *lásd ott*) és foszforsavból felépülő szerves molekulák. A ribonukleotidok az RNS, a dezoxi-ribonukleotidok a DNS alkotóelemei.

ozmotikusokk: Ozmotikusokk akkor lép fel, ha a sejtet körülvevő térben az oldott anyagok koncentrációja jelentősen megváltozik. Ilyenkor a sejt membránjának pórusain keresztül vízáramlás indul meg. Ha a sejt hígabb környezetbe kerül, duzzadni fog, ha töményebb környezetbe jut, a sejt belsejéből vízmolekulák áramlanak az oldat felé.

ősbaktérium: Az ősbaktériumok (archaebaktériumok) a baktériumok teljesen különálló csoportja, amelyek felépítésükben és az őket alkotó molekulák jellemzőiben különböznek a többi baktériumtól. Ezeket a baktériumokat egy igen ősi baktériumfajta egyenes leszármazottainak gondolták. Néhány évtizeddel ezelőtt derült ki, hogy az ősbaktériumok sok hasonlóságot mutatnak az emberi szervezetet is felépítő eukarióta (*lásd ott*) sejtekkel.

peptidkötés: A peptidkötés egy aminosav (*lásd ott*) aminocsoportjának (-NH₂) és egy másik aminosav karboxilcsoportjának (-COOH) vízkilépés közben történő egymáshozkapcsolódásával kialakuló kovalens (*lásd ott*) kötés. A

peptidkötés atomjai egy síkban helyezkednek el, a peptidkötés síkjában az elfordulás csak aktiválási energia befektetésével lehetséges.

peroxiszóma: A peroxiszóma az eukarióta (*lásd ott*) sejtek sejt szervecskéje, amelyben különböző oxidatív folyamatok (például zsírsavoxidáció) játszódnak le.

plankton: A plankton a tengerekben lebegő apró élőlények (rákok, moszatok stb.) összefoglaló neve.

poszttranszlációs módosulások: A poszttranszlációs módosulások a sejt fehérjéinek olyan kémiai változásait jelölik, amelyekre a fehérje szintézise után kerül sor. Poszttranszlációs módosulásként a fehérje foszforilálódhat (*lásd ott*), glikozilálódhat (*lásd ott*), metilálódhat, lipid-, poliADP-ribóz- vagy szulfátrészletek kerülhetnek rá.

prokarióta: Prokariótáknak hívjuk mindazon élőlényeket, amelyekben a öröklődő információt tartalmazó DNS nem egy külön membránnal határolt sejt-magban helyezkedik el.

promoter: A promoter olyan DNS szakasz, amely a fehérjéket kódoló gének előtt helyezkedik el. A promoter régió számos olyan kötőhelyet tartalmaz, ahol különböző fehérjék kötődhetnek az adott DNS darabhoz, és aktiválhatják vagy gátolhatják a promoter után következő génszakaszról történő RNS-szintézist.

prostaglandin: A prosztoglandinok olyan oxidációval keletkező lipidek (*lásd ott*), amelyek fontos jelátviteli szerepet töltenek be például a gyulladási folyamatok keletkezésében.

proteolízis, proteáz: Proteolízisnek nevezzük azokat a kémiai folyamatokat, amelyekben egy fehérje a peptidkötéseinek (*lásd ott*) hidrolízise révén kisebb-nagyobb darabokra esik szét. A proteolitikus folyamatokat az élő szervezetben specifikus enzimek, proteázok katalizálják.

protongradiens: A protongradiens a hidrogénionok (protonok, H^+) koncentrációjában a membránok két oldala között fellépő különbség. A protongradiens számos transzportfolyamat hajtóereje. A mitokondriumok (*lásd ott*) az adenosin-trifoszfát (ATP, *lásd ott*) szintézise során is a protongradiens megszüntetésével nyerhető energiát használják fel.

receptor: A kisebb-nagyobb molekulák szelektív és nagy affinitású megkötésére képes anyagokat receptoroknak nevezzük. Ezek legtöbbször fehérjék, de például RNS-ek is igen nagy hatékonysággal és szelektivitással képesek a különböző molekulák megkötésére.

redoxgradiens: Abban az esetben, ha redukcióra (elektronfelvétel), illetve oxidációra (elektronleadás) különböző mértékben alkalmas térrészek viszonylag közel kerülnek egymáshoz, redoxgradiens alakul ki.

ribóz: A ribóz olyan ötszénatomos cukormolekula, amelyben négy hidroxilcsoport (-OH) található. A ribóz az RNS, az ATP (*lásd ott*) és az ADP (*lásd ott*) egyik fő alkotóeleme.

röntgensugárzás szóródása (röntgendiffrakció): A röntgendiffrakció olyan mérési eljárás, amelyben a kristályos anyagra röntgensugarakat bocsátanak, és a sugarak eltérüléséből következtetnek a kristályos anyag szerkezetére. Kellően nagy méretű, hibátlan kristály esetén röntgendiffrakcióval akár nagyobb fehérjekomplexek pontos, háromdimenziós szerkezete is meghatározható. A röntgendiffrakcióval kapott fehérjeszerkezetben a még kristályos állapotban is mocorgó fehérjérszek (például felszíni hurkok) nem látszanak.

sejtciklus: A sejtek életének azon szakaszait, amelyekben energiát és anyagot gyűjtenek a DNS-megkettőzéshez (G₁-fázis), az örökítőanyagot, a DNS-t megkettőzik (S-fázis), felkészülnek az osztódásra (G₂-fázis), majd osztódni kezdenek (M-fázis) összefoglaló néven sejtciklusnak nevezzük.

sejtmag: A sejtmag az eukarióta (*lásd ott*) sejteknek az a membránnal határolt része, amelyben a sejt DNS-állományának döntő többsége található. Az eukarióta sejtek mitokondriuma (*lásd ott*), illetve zöld színtestje (*lásd ott*) is rendelkezik DNS-sel, azonban az ebben kódolt információ a sejtmagban található csak a töredéke.

stresszfehérje: A stressz hatására szintetizálódó fehérjéket összefoglaló néven stresszfehérjéknek nevezzük. Döntő többségük más fehérjék alakjának megőrzésében, illetve betekeredésének segítésében vesz részt.

Svedberg (S): A Svedberg az analitikai ultracentrifugálással meghatározható ülepedési állandó mértékegysége. Az ülepedési állandó nő az ülepedő részecske molekulatömegével, de a részecske tömege mellett a részecskealaktól és még más tényezőktől (például viszkozitás) is függ.

szabadgyök: Szabadgyököknek nevezzük azokat az anyagokat, amelyek párosítatlan elektront tartalmaznak. A párosítatlan elektronok igen reakcióképesek, emiatt a szabadgyökök kontrollálatlanul lépnek reakcióba szinte bármilyen anyaggal, amely a közelükbe kerül. A szabadgyökök a sejt életének nagy veszélyforrásai.

szekréció: A sejteknek a különböző anyagok (például fehérjék) kiválasztására irányuló folyamatait szekréciónak hívjuk. A fehérjeszekréció legfontosabb állomásai az endoplazmatikus retikulum (*lásd ott*) és a Golgi-rendszer (*lásd ott*).

Szent-Györgyi—Krebs-ciklus: A Szent-Györgyi—Krebs-ciklus vagy másnéven citrát-kör az eukarióta szervezetek mitokondriumokban végbemenő, nagyhatékonyságú energiatermelő-folyamata. A ciklus és a terminális oxidáció segítségével a mitokondrium a két szénatomos ecetsavat égeti el széndioxidá és vízzé. Az égetés közben protongradiens (*lásd ott*) keletkezik, amelynek az energiáját a mitokondrium adenoszin-trifoszfát (ATP, *lásd ott*) szintézisére használja fel.

szignálpeptid: A szignálpeptidek az eukarióta sejtek (*lásd ott*) fehérjéinek azon rövid szakaszai, amelyek meghatározzák, hogy az adott fehérje melyik sejszervecskébe kerüljön a sejten belül.

szteroid: A négy gyűrűből álló szteránvázis, zsíroldékony hormonokat szteroidoknak nevezünk. A szteroidok a sejtben nukleáris (sejtmagbeli) receptorokhoz (*lásd ott.*) kötődnek. Szteroidok a glukokortikoidok (*lásd ott*), de a hím és női nemi hormonok is.

termodinamika: A természetben lejátszódó folyamatok energetikai viszonyait a termodinamika tárgyalja. A termodinamikai törvények választ adnak arra, hogy egy folyamat lejátszódik-e, és ha igen, milyen lesz az egyensúlyi állapota.

termotolerancia: A termotolerancia az a jelenség, amikor egy hősokkot (*lásd ott*) átélte sejt (zömében stresszfehérjék szintézisével) megedződik, és egy soron következő hősokkot sokkal könnyebben átél, mint edzetlen társai.

transzkripciós faktor: A transzkripciós faktorok olyan fehérjemolekulák, amelyek a DNS által kódolt gének promoter régiójához (*lásd ott*) kötődve serkentik vagy gátolják az adott génről történő RNS szintézist.

van der Waals-kötés: A van der Waals-kötés olyan másodlagos kötőerő (*lásd ott*), amely résztöltések (azaz dipólusok, *lásd ott*) elektrosztatikus kölcsönhatásain alapul. A dipólusok általában ellentétes polaritással állnak be, illetve indukálódnak, így közöttük gyenge vonzóerők keletkeznek.

zöld színtest (kloroplasztisz): A zöld színtest a fotoszintézist folytató eukarióta szerveződések azon, körülbelül 5 mikron nagyságú sejszervecskéje, amelyben a fotoszintézis végbemegy. A színtest színét a látható fényt elnyelő klorofill adja.

Tárgymutató

α -hélix
 α -szinuklein
 α_1 -antitripszin
acetiláció
adjuváns
aggregáció, aggregátum
aggresszóma
agyvérzés
aktin
aktív hely
aktív sejthalál (*lásd apoptózis*)
akut fázis reakció
alarmon
Alexander-kór
alkohol
Alzheimer-kór
amiloid plakk
anaerob
Anfinsen

- ketrec
- kísérlet

anoxia
antichaperon
apoptózis
ösbaktérium
arzén
aszpirin
ATP-ciklus
autogén elmélet
autoimmun betegségek
álmatlanság

β -amiloid
 β -kanyar
 β -redős lemez
baktérium

- barofil
- halofil
- hipertermofil
- mezofil
- pszichofil
- sugártűrő
- szárazságtűrő

besugárzás
bélgyulladás
bénulás
bilirubin
biliverdin
Bimoclomol
bioinformatika
biológiai óra
bőrfarkas
Brhm

C. elegans
Cdc37
CD4-kináz
cellulóz
centroszóma
channeling (lásd csatornázás)
chaperon

- anti
- ciklus
- intramolekuláris
- kémiai
- RNS

CHOP-transzkripció faktor
ciklinek
ciklofilek
CIRCE-elem
cisz-transz izoméria
cisztás fibrózis
citokin
citoplazma, citoszol

- rendje

citozin
ClpP-proteáz
COPII
Coulomb-erők
Creutzfeldt-Jakob-kór
cukorbetegség
cukorlebontás

csatornázás
csőféreg
CspB-hidegsokk fehérje

deep sea hydrothermal vent (lásd mélytengeri hőforrás)

DegP-proteáz
degron
Deinococcus radiodurans
delokalizáció
denaturálószer
deszaturáz enzimek
detergens
dielektromos állandó
DNS

- károsodás
- megkettőződés
- törés

domén
dipólus
diszulfidhíd

ecetmuslica
eEF-2 α -kináz
eIF-2 α -faktor
eIF-4F-faktor
eIF-2 α -kináz
elektroszmog
embrionális fejlődés
endoplazmatikus retikulum
endoszimbiózis
endoszóma
endotoxin
entalpia
entrópia
enzim
eubaktérium
eukarióta
Európa
evolúció

- enzim
- kényszer
- moduláris
- prebiotikus
- ugrás

exoszóma

élesztő
érelmeszesedés

fagyhalál

fagykár
fagylalt
farmer
fatális familiáris álmatlanság
fág
fehérje

- aggregáció (*lásd ott*)
- domén (*lásd ott*)
- emlékezet
- lebontás
- lélegzés
- mocorgás
- stabilitás
- szintézis
- tekerhetetlen

fenotípus
fertőzés
festék
fibrilláris fehérje
FKBP
fokális adhéziós kináz
foldoszóma
foszfatázok
foszfatidil-inozitol-glikán
foszfolipáz-A₂
fototerápia
FtsH-proteáz

γ -kanyar
GADD153-transzkripció faktor
GAGA-fehérje
Gerstmann-Sträussler-Scheinker
szindróma
génsűrűség
giráz
gliasejt
glicin
glikáció
glikolízis
glikoziláció
glukokináz
glukokortikoidok
glukóz

- transzporter

glukózamin

glutaredoxin
glutation
Golgi-rendszer
golyva
Grp78
Grp94
guanin

Hac transzkripció faktor
halofil baktérium
harmadfeledleges szerkezet
harmadlagos olajkitermelés
harmadlagos szerkezet

- jóslása

hem oxigenáz
hemoglobin
herpesz
hézagmentes felépítés
hidegsokk
hidegenmosó mosószer
hidrátburok
hidrofób

- felszín
- kollapszus
- kölcsönhatások

hidrogénhid
Hip
hipertermia
hipertermofil baktérium
hipoxia

- indukált faktor

hisztonok
Hop
hőforrás (*lásd mélytengeri hőforrás*)
hősokkfaktor
Hsp10
Hsp27
Hsp40
Hsp60
Hsp70
Hsp90
Hsp100
HUGO
Huntington-kór
húspuhítás

immunológiai homunkulusz
immunrendszer
intermediér filamentum
intramolekuláris chaperon
intron
ionátsorgás
IRE-fehérje
iszkémia
izopeptid kötés

jelátvitel
jegesedésgátló fehérje
jegesítő fehérje
jég
jég alatti óceán
jégszekrény
Jupiter

kalnexin
kalpain
kalretikulin
kannibalizmus
kaspáz
kaveola
kálcium
• pumpa
keményítő
kemoterápia
kémiai chaperon
kénhidrogén
kényszerevolúció
kinetikai kontroll
kisméretű hősokefehérje
kitin
kloridcsatorna
klónszelekció
koenzim
kollagén
kontaktlencse
környezetvédelem
kőmosott farmer
krisztallinok
kromatin
kromoszóma
kuru

lamin
láz
Le Chatelier-elv
leucin
• cipzár
Levinthal-paradoxon
Lewy-test
lipid
• hipertermofilekben
• szintézis
lipoprotein
Lon-proteáz
lupus erythematosus

magmáneses rezonancia
spektroszkópia
magnézium
makrofág
Mallory-test
mannóz
Mars
máj
• cirrózis
• károsodás
• rák
másodlagos fehérjeszerkezet
másodlagos kötés
• jóslása
megfázás
membrán
memória
• fehérje
• sejt
metasztázis
mezofil baktérium
mélytengeri hóforrás
MHC I
MHC II
mikrofilamentum
mikrotrabekuláris lattice
mikrotubulus
Miller-kísérlet
mitokondrium
moduláris evolúció

molekuláris zsúfoltság
 mosószer
 műhó

nátrium
 nekrozis
 neurális hálózat
 neurodegeneráció
 neurofibrilláris gubanc
 NF-κB-transzkripció faktor
 NF-Y-transzkripció faktor
 nitrogénlebontás
 NMR *(lásd magmágneses rezonancia spektroszkópia)*
 növényi stressz
 nukleáris lokalizációs szignál
 nukleocitoplazmatikus ingázás
 nukleoplazmin
 nukleoszóma

nyomástűrő baktérium

olajkitermelés
 olvadt gombóc (molten globule)
 oxidáció, oxidatív stressz
 oxigén szabadgyök
 ozmotikus-sokk
 ozmózisnyomás

öregedés

- fehérjéké

ősóceán

p23
 p50
 p53
 pajzsmirigy
 Parkinson-kór
 parvulin
 pápua
 PCR *(lásd polimeráz láncreakció)*
 peptidek

- prezentációja

 peptidkötés

periplazma
 PERK receptorfehérje
 peroxiszóma
 PEST-szigetek
 Pin1
 plankton
 poliADP ribóz polimeráz
 poliglutamin
 polimeráz láncreakció
 poszttranszlációs módosulások
 prebiotikus evolúció
 prion
 programozott sejthalál *(lásd apoptózis)*
 prolin
 promoter régió
 prosztaglandin
 prosztata
 protamin
 proteaszóma
 proteáz
 protein diszulfid izomeráz
 protein kináz
 proteinoid
 protongradiens
 pszichofil baktérium

Rad23
 radioaktív

- sugárzás
- szeméttároló

 Raf-kináz
 Ramachandran-diagram
 rák
 redukció
 reperfüzió
 reverzgiráz
 réz
 rheumatoid arthritis
 riboszóma
 ribozim
 RNS

- alakja
- átszabás
- enzim *(lásd ribozim)*
- -fehérje komplex

- hasítás
- helikáz
- Hsp90-kötés
- hőmérő
- katalízis
- lebontás
- mint chaperon
- polimeráz
- stabilizálás
- szintézis
- templát

rotamáz

röntgensugarak szóródása

SecA

SecB

sejt

- ciklus
- fal
- mag
- mag pórus
- osztódás

Semmelweis Ignác

sokkos állapot

sókötés

spermium

spinocerebrális ataxia

splicing (*lásd RNS átszabás*)

Src-kináz

stressz

- chip
- kináz
- növényé
- oxidatív (*lásd oxidáció*)
- szálak
- tolerancia

sugárterápia

sugártűrő baktérium

SWI-SNF

σ^{32} -faktor

szabadentalpia

szabadgyök

szauna

szárazságtűrő baktérium

szemlencse

Szent-Györgyi—Krebs ciklus

szervátültetés

szignálpeptid

szimbiózis

szívinfarktus

szteroid (hormon, receptor)

szuperoxid dizmutáz

szupertekercs

szürkehályog

tekeredés, tekeredési

- mag
 - stresszfehérjéé
- tekerhetetlen fehérje
tengerfenék
termodinamika
termotolerancia
térkitöltés
tioredoxin
tireoglobulin
topoizomeráz
transzkripció (*lásd RNS szintézis*)
transzkripciós faktor
transzláció (*lásd fehérjeszintézis*)
transzport
- membrán
 - mitokondriumba
 - sejtmagba
 - szignál
- trigger-faktor
tubulin
tumor nekrozis faktor
tumor specifikus transzplantációs
antigén
tüdőkárosodás

ubikvitin

ultraibolya fény

üvegházhatás

van der Waals-erők

vákum

vesekárosodás

vérnyomás

Vosztok-tó
vizsgadrukk
vírus
víz
• zárvány

Wilson-kór

Yin-Yang transzkripció faktor

zöld szintest

zsúfoltság, molekuláris

Érdekes történetek jegyzéke



A víz mint kenőanyag
A fehérjék emlékezete
Hosszú távú memória a sejtben?
Így tekeredik az RNS is!
Miért olyan instabilak a fehérjék?
Kivétel az Anfisen-féle alapelv alól
Muszáj mindenkinek tekeredni?
A kilógó peptidkötés mint a stresszfehérjéket mozgósító másik lehetséges jel
Mit tesznek a dologtalan stresszfehérjék az eukarióta szervezetekben?
Kóbor peptidek
Mitől átlátszó a szemlencse? Legidősebb fehérjematuzsálemeink
Amikor a kevés is sok: Hsp90 a sejtmagban
Az endoplazmatikus retikulum aggregátumait kívülről cincálják
Hogyan húzigálhat a Hsp70?
Hogyan lehet dolgozni a sejten belüli zsúfoltságban?
Csatornázás a citoplazmán belül
Tekeredési fokozatok az endoplazmatikus retikulumon belül
Miért nem csorognak ki az ionok a sejtmagból?
Stresszfehérjék, mint „membránkeményítők”
Honnan tudja a sejt, hogy meleg van? A negyedik elmélet
Gyógyszereink hasznáról

Kiegészítő információk jegyzéke



A peptidkötés és a Ramachandran-diagram
Néhány különleges hélix
A hidrogénhid kötés
A Levinthal-paradoxon
A fehérjék tekeredésének termodinamikája
Amikor a fehérje nehezen éri el az energiaminimumot
Amikor a fehérje szinte soha nem éri el az energiaminimumot
Az Anfinsen-kísérlet
Miért van szükség annyiféle stresszfehérjére?
Amikor a hidrofób felszín hasznos
Amikor a fehérje magát tekeri: intramolekuláris chaperonok
Antichaperonok I.
Antichaperonok II.

A prolinok hasznáról
A hiszton-kód
A hidegsokk fehérjék és a hipoxia
Antichaperonok III.
Antichaperonok IV.
A tengerfenék lakói éheznek

Kérdések jegyzéke

?????



Honnan tudja a fehérje, hogy merre kell elindulnia?
Mi alapján válogatódnak ki a hosszú életű fehérjék?
Miért van ilyen kevés fehérjeszerkezet?
Miért van a fehérjéknek csak egy energia-minimuma?
Miért olyan nehéz szétszedni az aggregátumokat?
Miért nem ragadnak a tekerhetetlen fehérjék mindenhova?
Hogyan őrzi meg a stresszfehérje a hidrofób felszínét?
Miért kell ennyiféle hőszokkfehérje?
Miért van több szemét az eukariótákban, mint a baktériumokban?
Mi dönti el, hogy az aggregátumot szét lehet-e cincálni?
Hogyan cincál a Hsp100?
Mikor ítélnék halálra egy fehérjét?
Hogyan lehet az endoplazmatikus retikulum ennyire lyukas?
Hogyan huzigálja a Hsp60 az oldalról tapadó fehérjéket?
Részt vesznek-e az ATP koncentráció változásai a Hsp70-sereg rendezésében?
Hogyan aktiválja az oxidatív stressz a proteázokat?
Hogyan biztosítja a szervezet a chaperon helyes arányát?
Hogyan hajlítgatnak a hajlítgatók?
Miért pont a hajlítgatók szakosodtak az irányításra a sejten belül?
Hogyan ragad a tubulin, ha nem ragad?
Hogyan jut vissza a szteroidreceptor a citoplazmába?
Hogyan irányít a Cdc37?
Mi választja el az endoplazmatikus retikulum részeit egymástól?
Mi szabja meg a munkamegosztást a lizoszóma és a proteaszóma között?
Mi és hogyan irányítja a sejtmagbeli anyagforgalmat?
Hogyan áll össze a sejtmag az osztódás után?
Mi indítja be a hidegsokk fehérjék szintézisét?
Mit keres az aktin a sejtmagban?
Mért olyan fontos a centroszóma a sejt rendbetételében?
Hogyan válogat a sejtmag stressz idején?
Vannak-e eukarióta alarmonok?
Lehet-e oka az antarktisi hal folyékonyabb membránja annak, hogy ilyen halaknak már a tízfokos víz is hőszokkot jelent?
Hogyan védekeznek az ősbaktériumok?
Hogyan jut ki a hőszokkfaktor a sejtmagból?

Hogyan jutnak ki a hősokk RNS-ek a sejtmagból?
 Ki és hogyan rakja rendbe a mitokondriális energiaszolgáltató rendszereket?
 Miért baj, ha túl sok a stresszfehérje?
 Mi szabja meg, hogy melyik fehérje ellenállóbb az öregedéssel szemben?
 Mitől romlik el a stresszfehérjék szintézise az öregedés során?
 Hogyan kezd szaporodni a poliglutamin?
 Miért ilyen fontos a réz az aggregátumok kialakulásában?
 Mi a prion „normális” feladata?
 Van-e „károsodásmentes” példa a prionszerű öröklődésre?
 Hogyan működhetnek a „mesterséges huzigálók”?
 Hogyan jut ki a stresszfehérje a sejt felszínére? Mi tartja ott?
 Mi szabja meg, hogy melyik tumor pakol ki stresszfehérjéket a felszínére és melyik nem?
 Miért mellőzi a természet az izopeptid kötést a fehérjékben, ha az a stabilabb?
 Képes-e a többi stresszfehérje az evolúciós ugrások elősegítésére?
 Mennyire zökkenőmentes az eukarióta sejtet alkotó három baktérium együttélése?
 Milyen szerkezeti elem segíti a csatornázást a hipertermofilekben?
 Mi védi a hidegsokkfehérjék hírvivő RNS-ét a betekeredéstől?
 Mi a hidegsokkfehérjék szintézisének kezdeti jele?
 Mennyire denaturáltak a fehérjék az emberi szervezet nyomásnak kitett (például porc-) sejtjeiben?
 Lassul-e a fehérjék mozgása a vízhiányos halofil szervezetekben?
 Hogyan rendezi újra a *D. radiodurans* a négy-öt DNS szálát az osztódás után?
 Miért kell öt DNS a kiszáradás ellen?

Ábrák jegyzéke

1. ábra. A peptidkötés
2. ábra. A Ramachandran-diagram
3. ábra. A fehérjék másodlagos szerkezetének α -hélix, β -redős lemez, illetve β -kanyar szerkezeti elemei
4. ábra. A fehérjeszerkezet kialakulásának lépései *in vitro*
5. ábra. A prolin melletti cisz-transz peptidkötés
6. ábra. A *Methanoccus jannaschii* Hsp16 kisméretű hősokkfehérje komplexének szerkezete
7. ábra. A Hsp90 szerkezete
8. ábra. A Hsp60 működésének vázlatos mechanizmusa
9. ábra. A Hsp70 működésének vázlatos mechanizmusa
10. ábra. Hősookkfehérjék részvétele a szteroidreceptor aktiválásában
11. ábra. A mitokondriális fehérjetranszport
12. ábra. A bakteriális Clp, Lon proteázok és a proteaszóma vázlatos szerkezete
13. ábra. A prion egészséges (a) és beteg (b) formája
14. ábra. A stresszfehérjék lehetővé teszik az „idegen” peptidok prezentációját a „saját” peptidokat felkínáló MHC I-es komplexen

- 15. ábra. A modern RNS és fehérje enzimek kifejlődése
- 16. ábra. Primitív, merev enzim mindennel reagál
- 17. ábra. A DNS pozitív és negatív szupertekercsei, a reverzgiráz enzim működésének vázlatos mechanizmusa
- 18. ábra. A *Hyperthermus butylicus* baktérium sejtfalának elektronmikroszkópos vizsgálatával kapott elektronenzitás-térkép
- 19. ábra. Az emberi sejtek membránjára jellemző lipidek összehasonlítása a hipertermofil baktériumokban megtalálható lipidekkel
- 20. ábra. A hidegsokkfehérjék mint RNS-tekerő enzimek
- 21. ábra. Jegesedésgátló és jegesítő fehérjék

Táblázatok jegyzéke

- 1. táblázat: A stresszfehérjék elnevezései
- 2. táblázat: A fehérjék szerkezeti szintjei
- 3. táblázat: A stresszfehérjék családjainak legfontosabb funkciói
- 4. táblázat: Az állati sejtek stresszválaszát kiváltó néhány hatás
- 5. táblázat: A fehérjeszerkezetet stabilizáló mechanizmusok a víz forráspontjának közelében
- 6. táblázat: Fehérjék alkalmazkodása a fagyásponthoz közelében