

5. Fehérjék vizsgálata a biológiai funkciók alapján

KELLERMAYER MIKLÓS

Minden fejezetben, mint a legalapvetőbb, a leglényesebb kiindulási pontot, a név, a fogalom eredetét, tartalmát célszerű újra meg újra elismételni. A protein, fehérje (görögül πρωτεΐνη – első számú alkotóelem) név, fogalom 1838-ban született. JÖNS JAKOB BERZELIUS írta le először az 1838. július 10-i keltezésű, GERHARDUS JOHANNES MILDERNEK címzett levelében. Arra a kérdésre, hogy mi a fehérje, három meghatározás, három definíció van:

1. Az eredet szerinti meghatározás: A fehérjék az élő sejtek termékei (produktumai).
2. A molekuláris anatómiai meghatározás: A fehérjék módosult aminosavpolimerek.
3. A funkcionális meghatározás: A fehérjék olyan molekulák, amelyeknek sajátos biológiai funkcióik vannak.

Az első meghatározás kifejtése

Az eredet szerinti meghatározás azért olyan fontos, mert magára a lényegre, az anyag élővé szerveződésére mutat rá. Élettelen anyagból, még a sejteket felépítő makromolekulákból sem tudott élőlényt, élő sejtet eddig soha senki létrehozni! Tehát az élet maga a folytonosság! Az első egyetlen élő sejtől, a legősibb őssejtől, DARWIN elnevezésében a „progenitortól” eltelt 3,5–4 milliárd éves folytonosság. Ez egyben a fehérje-újdonképződés, a fehérjeszintézis folytonosságát is jelenti. Így a „mi az élet” kérdésre az egyik lehetséges válasz, hogy *az élet = folytonos fehérje-újdonképződés!* Azt, hogy mennyire lényegi megállapítás ez, bizonyítja a peptidkémia, a szintetikus peptidgyártás mérethatára. Ugyanakkor 20 perc alatt (ennyi a megkettőződési, a generációs ideje) a székletünkben tenyésző, 1-2 µm nagyságú prokarióta *Escherichia coli* bacilus több száz, akár ezer aminosavból álló fehérjékből több mint 1000 félért gyárt. Ez maga a csoda, az élet csodája! Az élő sejtek fehérjegyártásáról nagyon sokat tanítunk, de a hogyanról(?), magáról a mechanizmusról azonban sajnos nagyon keveset, majdnem semmit sem tudunk!

A második meghatározás kifejtése

A második, a molekuláris anatómiai meghatározás szerint a fehérjék *módosult aminosavpolimerek*. Az egyes részletek megismeréséből, az adatokból elméleti kiegészítésekkel valamiféle „egyezség” született a polimerképződésre és a polimerek módosítására is. Ezt az „egyezséget” – a polimer képződésére és módosítására, vagyis magára a fehérjék gyártására megszerkesztett és általánosan elfogadott leírást – sajnos ténynek kezeljük, tudásnak, tudománynak tartjuk. Így került be a tankönyvekbe, így kell megtanulni, így kell tudni a felnövekvő fiataloknak középiskolás és egyetemi szinten egyaránt.

Az emberi szervezetet felépítő 10^{14} élő sejtben 20 aminosav polimerizációjából keletkeznek a fehérjék. A 20-ból 11-et a sejtek szintetizálni tudnak, míg kilelencet – ezeket *esszenciális aminosavaknak* nevezzük – kívülről, a táplálékból kell megkapni. Vagyis a fehérjéink felépítéséhez szükséges építőelemek (aminosavak) majdnem felét csak más élőlények tudják számunkra előállítani. A fehérjéinkben α -aminosavak vannak, amelyek optikailag aktív molekulák. Az első (α helyzetű) szénatomhoz kapcsolódó amino- és karboxilcsoportok elhelyezkedése határozza meg az optikai aktivitást, a polarizációs fény elforgatását, amely lehet jobbra és balra forgatás. A fehérjéinkben csak az egyik, csak a balra forgató, L-aminosavak fordulnak elő. Az aminosavak amfotérek, ikerionos szerkezetűek, azaz disszociáló amino- és karboxilcsoportokat tartalmaznak. Ebből a tulajdonságukból és abból, hogy egyes aminosavak még egy karboxil- és mások még egy aminocsoportot is tartalmazhatnak, a polimerük, a peptidlánc olyan amfotér, ikerionos természetű molekula, amelynek pH 7 vagy a pH 7-től eltérő saját izoelektromos pontja van, azaz olyan pontja, ahol semleges, ahol nincs töltése a molekulának. Az egyes aminosavak *peptidkötéssel* kapcsolódnak egymáshoz és képeznek láncot. A peptidkötés egy karboxil- és egy aminocsoport között egy vízmolekula kilépésével jön létre.

Az aminosavak lánczá, polipeptiddé fűzése az élő sejteken belül speciális „szerelőműhelyekben”, a *riboszómákban* folyik. A hogyan(?), vagyis a mechanizmus itt sem teljesen ismert! A leírás szerint, amelyet viszont a diákoknak meg kell tanulni, a fehérjék létrehozásában számos RNS-molekulacsalád vesz részt. Számos RNS „irányítja” a riboszómákban végbemenő polipeptidlánc-szintézist. Az rRNS-molekulák (a riboszómális RNS) a riboszómák szerkezeti felépítésének fontos alkotói. A tRNS molekulák (a transzfer RNS) az aminosavak „kiválasztását”, „kínálatának” biztosítását végzik. Az aminosavak sorrendjét, az *aminosavszekvenciát*, amelyet a fehérjeláncok *elsődleges szerkezetének* nevezünk, az mRNS-molekulák (a messenger – hírvivő – RNS-ek) határozzák meg a kodonjaik, bázis-„hármassai” által. A *kodonok*, az aminosavak sorrendjét meghatározó bázishármasok a génekből az mRNS-molekulákba való átírásért felelős DNS-ből, DNS-bázishármasokból származnak. A négyféle bázist, az A–T (U) és G–C bázist figyelembe véve elméletileg $4^3 = 64$ kodon (bázis triplet) létezne. Valójában 61 „élő” kodonról tudunk, ami azt jelenti, hogy több kodon van, mint aminosav. Így lehet, hogy van olyan, amelyet csak egy, és van olyan, vannak olyanok, amelyeket több bázis triplet határoz meg. Valóban van olyan aminosav, pl. a metionin, amelynek csak egy meghatározó kodonja van (AUG), és vannak olyanok, pl. a leucin és az arginin, amelyeknek 6-6 meghatározó kodonjuk van. Az mRNS-, az rRNS- és a tRNS-molekulákon kívül az *átírás* (transzkripció) és a *polipeptidlánc-szintézis* (transzláció) véghezviteléhez további RNS-molekulák, mint a kis molekula-tömegű mag-RNS-ek (snRNS és srpRNS), valamint mikro-RNS-ek (miRNS) vesznek részt. Mindazonáltal magát a munkát, a fehérjeláncok szintézisét egy sereg fehérje vezérli és hajtja végre.

Így a molekuláris anatómiai definíció már az aminosavpolimerek keletkezésénél „átfed” a 3. definícióval, vagyis azzal, hogy a fehérjék speciális biológiai funkciókat végző molekulák. Az átfedés a molekuláris definíció második részénél, a módosulások többségénél is tetten érhető. Az újdonszerűsödött polipeptidlánc első módosulásánál, vagyis akkor, amikor a lánc megcsavarodik, amikor LINUS PAULING szerint az α -hélix kialakul, nem szükségeltetik egy másik fehérje vagy fehérjék. Viszont a peptidlánc kinyújtott állapotban tartása, az ún. elongáció is más fehérjéket igényel. Általános elvként fogadható el, hogy az

élő sejten belüli történések közül egyetlenegyre se lehet bizonyossággal kimondani, hogy más fehérjétől független. A fehérjelánc felcsavarodását, az α -hélix kialakulását a folyamat felfedezői, LINUS PAULING és ROBERT COREY is és azóta a tudomány is spontán folyamatnak, az aminosavak peptidkötéssel történő lánczá formálása „kötelező” következményének tartják. Az α -hélix-konfigurációt a CO- és NH-csoportok közt kialakult hidrogénhidak stabilizálják úgy, hogy a hélix tengelyében a szomszédos aminosavak 1,5 Å távolságban vannak egymástól, és egy teljes fordulathoz 3,6 aminosav szükségeltetik. Tehát 3,6 aminosavanként ismétlődnek a fordulatok az α -hélix-ben. Ezt a konfigurációt nevezzük a fehérjék, a polipeptidláncok *másodlagos szerkezetének*. LINUS PAULING és ROBERT COREY az α -hélixen kívül még egy másik standard konfigurációt is felfedezett, amelyet β -redőzött rétegnek neveztek el. Ez a konfiguráció eltér az α -konfigurációtól már csak azért is, mert ebben a két szomszédos aminosav közti távolság nagyobb, az 1,5 Å-mel szemben 3,5 Å. A másik lényeges különbség, hogy a β -redőzött rétegben a hidrogénhidak két egymás melletti peptidláncot kapcsolnak egybe, míg az α -hélixben a hidrogénhidak a láncon belül vannak. Ami még lényeges, hogy mindkettő, az α és a β konfiguráció együtt jelenti a fehérjék másodlagos szerkezetét, és mindkettőt a fehérjelánc saját belső tulajdonsága eredményének lehet felfogni.

A fehérjeláncok *harmadlagos szerkezete*, amely szintén a módosulások része, az egymástól távol eső aminosavak közti kötések, pl. diszulfidkötések által jön létre.

A *negyedleges szerkezet*, amikor több fehérjelánc kapcsolódik egymáshoz. Az egymáshoz kapcsolódó fehérjéket általában a *fehérjekomplex alegységeinek* nevezzük. A módosulások külön csoportját képezik a *szabályozott hasítások*. Különösen az élő sejtekből kikerült peptidhormonok, a peptid növekedési faktorok, közös néven „biológiai válaszmódosítók” (biological response modifiers) keletkeznek így. Még a sejteken belül vagy a sejtek felszínén specifikus proteáz enzimek hatására képződnek a speciális funkciókat végző, kicsi, aktív molekulák. A módosulások harmadik nagy csoportja, amikor bizonyos nem fehérje természetű molekulák reakcióba lépnek a peptidláncokkal, majd hozzájuk kapcsolódnak. Ilyen pl. a glikoproteinek nagy csoportja, amikor is a szénhidrátok csoportjába tartozó molekulák kovalensen a pep-

tidláncokhoz kapcsolódnak. A módosulások újabb külön csoportját képezik azok a kapcsolatok, amikor anorganikus elemek kötődnek a fehérjékhez. Ezek általában metalloproteinek.

A molekuláris anatómiai definíció, vagyis az, hogy a fehérjék módosult aminosavpolimerek, lehetővé tette számunkra, hogy bizonyos fókig megismerjük, megértsük a lehetséges mechanizmusokat, amelyek az élő rendszerekben a *fehérjék felfoghatatlan sokaságát* eredményezik. A kodonok száma és a 20 aminosav együtt a lánc méreteinek változhatóságával már a primer szerkezetük alapján végtelen nagy számú peptidlánc szintézisét adja. A módosulások sokfélesége még tovább biztosítja, hogy a ma élő élőlényekben, különösen az emberi szervezetben végtelenül nagy számú fehérje képződhessen, és valóban képződik is.

A harmadik meghatározás kifejtése

A fehérjék meghatározott, sajátágos biológiai funkciókkal rendelkező molekulák. Mivel ez a meghatározás adja ennek a fejezetnek az alapját, érdemes alaposabban megvizsgálnunk. Már az előző két meghatározás is sejteti, hogy a fehérjéknek bizonyosan vannak olyan funkciói, amelyeket közvetlenül még nem tudunk vagy egyáltalán nem tudhatunk vizsgálni, csak következtetni tudunk rájuk az „eredményből”. Később olyan vizsgálati módszereket is tárgyalunk majd, amelyeket magában az érintetlen élő sejtekben tudunk elvégezni, de „a fehérjék vizsgálata biológiai funkcióik alapján” – ami a fejezet címe – mégis azt jelenti, hogy az élő sejtekből fiziológiásan kikerült vagy az élő sejtek elpusztítása után kivett fehérjéket vizsgálunk. Az, hogy vannak olyan fehérjékhez kapcsolt biológiai, sejtélettani funkciók, amelyek csak az élő sejteken belül zajlanak, és nincs módszerünk, amellyel ezek közvetlenül vizsgálhatók lennének, könnyen elfogadható. Az a feltételezés, hogy egy fehérje az élő sejten belül más funkciót is betölt, mint amit a sejtekből kivéve bizonyíthatunk róla, ma már elfogadott. Elfogadott, mert több bizonyíték is van arra, hogy pl. az mRNS védelmét az élő sejtekben bőségben előforduló RNS-bontó enzimektől (RNáz molekuláktól) bizonyos glikolitikus enzimek is végzik.

A harmadik állítás, hogy az élő sejten belül a fehérjéknek van egy lényegi funkciójuk, ami nem más, mint maga az *élő állapot* (a „*living state*”) *biztosítása*(!), ma még nincs széles körben elfogadva. Mint ha az élettudomány félne a „vis vitalis” elmélet vizs-

zacsempészésétől. Ugyanakkor sokkal több adat, közvetlen megfigyelés szól amellett, hogy van „*living state*”, hogy van a fehérjéknek „*dinamikus élő állapot*”, mint ellene. Ezért helyes, ha minden fiatal úgy tekint a fehérjékre, mint az élő sejtek azon alkotóelemére, amelynek nem 2, hanem 3 állapota van:

- *Élő állapot* (living state).
- *Natív állapot*, ami az élő sejtekből kikerült vagy általunk kivett fehérjék állapotát jelöli.
- *Denaturált állapot*. Ezt a denaturált állapotot hővel, savval, lúggal laboratóriumban könnyen elő lehet idézni. Ekkor a fehérjék elveszítik a biológiai funkcióikat.

*

Lezárva a „mi a fehérje(?)” kérdésre adható 3 választ, körvonalazódik, hogy ez a „A fehérjék vizsgálata biológiai funkcióik alapján” című fejezet elsődlegesen az élő sejtekből kivett vagy fiziológiásan kikerült fehérjék biológiai funkciói alapján való vizsgálatáról fog szólni, és csak röviden utalunk majd olyan kutatási irányokra, amelyek közvetlenül az élő sejteken belül vizsgálják, regisztrálják a fehérjefunkciókat.

Az emberi test 10^{14} élő sejt „társadalma”. Az általuk termelt 9–12 kg teljes fehérjeállomány funkcióik alapján 10 csoportba lett felosztva, és a következőkben e csoportokat ismertetjük:

- Immunglobulinok, antitestek és a komplement-rendszer.
- Motorfehérjék, kontraktilis fehérjék, intracelluláris vázfehérjék (citoszkeleton).
- Enzimek, biokatalizátorok.
- Hormonok.
- Sejtnövekedést befolyásolók, sejtnövekedési faktorok, „biológiai válasz módosítók” (biological response modifiers).
- Extracelluláris szerkezeti elemek.
- Raktárak.
- Transzportőrök (szállítófehérjék).
- Ligandumok.
- Esszenciális táplálékok.

Az egyes fehérjecsoportok ismertetésének menete: rövid történeti áttekintéssel kezdődik, majd következik a leírás, molekuláris sajátosságai ismertetése, ezután funkcióik bemutatása, végül a funkcióik alapján végezhető vizsgálatuk bemutatása következik.

Immunglobulinok, antitestek és a komplementrendszer

TÖRTÉNETI ÁTTEKINTÉS

Az antitestek, az immunglobulinok és a komplementrendszer felfedezésének, elnevezésének története természetesen bele van ágyazva az egész immunológia történetébe. Lehetne és talán kellene is EDWARD ANTHONY JENNER (1749–1823) munkásságával kezdeni, hiszen méltán nevezik őt az „immunológia atyjának.” Minden kétséget kizáróan ő volt az első, aki tudatosan immunizált, védőoltást (vakcinációt) alkalmazott. Híressé vált a kertészének 8 éves fia, James Phipps, akit 1796. május 14-én beoltott egy fejőlány, Sarah Nelmes kezén lévő tehénhimlőhólyagból vett folyadékkal. A fiú bizonyítottan védetté vált a himlő ellen. Sok más óriást, köztük LOUIS PASTEURT (1822–1895), ROBERT KOCHOT (1843–1910), ILJA ILJICS MECSNYIKOVOT (1845–1916) kellene feltétlenül említeni és felfedezéseiket ismertetni, a kitűzött konkrét cél, az antitestek felfedezésének története szempontjából mégis mindenekelőtt PAUL EHRLICHET (1854–1915), az ő munkásságát kell részletesebben ismertetni. Igazi kutató volt, akinek orvosdoktori diplomája is volt! Először patológus, és a hisztológiai festések érdeklik. Harminckét éves, amikor KOCH ROBERT Berlinbe, a Charite-re hívja. Együtt dolgozott ekkor ADOLF VON BEHRINGGEL, a diphtheriaellenes szérum kifejlesztésén. Ekkor használja először az antitest („antikörper”) fogalmat, és alkotja meg a humorális immunitás tanát, az „oldallánc-teóriát”, miszerint a toxinok, mint „kulcs a zárban” kapcsolódnak a kritikus sejtek felszínéhez. Ez a kötődés indukálja a speciális antitest termelését. MECSNYIKOVVAL közösen kapott 1908-ban orvosi-élettani Nobel-díjat. Ezt követően Dr. HATA SAHACHIRÓVAL, tanítványával kifejlesztették a syphilis elleni hatékony gyógyszert, a Salvarsant. Fontos tudni, hogy jóllehet az *antitest* (*antikörper*) elnevezés EHRLICHTŐL származik, az első rendszeres kutatásokat az antitestekkel, ill. az ún. humorális immunitással kapcsolatban EMIL ADOLF VON BEHRING (1854–1917) és KITASATO SCHIBASABURO (1853–1931) végezte. Kimutatták, hogy passzív immunizálás (védettség) érhető el a kórokozóval fertőzött állati vér szérumának befecskendezésével. EMIL ADOLF VON BEHRING kapta az első orvosi-élettani Nobel-díjat éppen az antitestekkel kapcsolatos kuta-

tásaiért 1901-ben, azaz 8 évvel korábban, mint a névadó PAUL EHRLICH. Tudománytörténeti szempontból érdekes, hogy amíg az antitest (antikörper) fogalmat minden bizonnyal PAUL EHRLICH alkotta, használta először, az *antigén fogalmat, elnevezést* viszont a magyar DETRE (DEUTSCH) LÁSZLÓ (1874–1939) mikrobiológus. Nagyon fontos, hogy egy ilyen kiváló tudósról, mint amilyen DETRE LÁSZLÓ volt, mindenki, aki az orvostudomány és az egészségtudomány terén szerz felsőfokú képzettséget, alapos ismeretekkel rendelkezzék. Nagysurányban (ma Szlovákia) született 1874-ben, 1895-ben avatták orvosdoktorrá Budapesten. A Kórbonctani Intézetben lett asszisztens, majd Bécsben LANDSTEINER mellett, valamint Párizsban, a Pasteur Intézetben, MECSNYIKOV laboratóriumában dolgozott. Itt a Pasteur Intézetben a typhus elleni immunitást tanulmányozva dolgozta ki a specifikus ellenanyagok keletkezésének „antigén-teóriáját”, amely szerint a fertőzéssel szembeni immunitás sajátos antigéningerre jön létre. Az „antigén-teóriát” a tudomány általánosan elfogadta, nevét azonban nem emlegetik méltóan. Az első magyar szérumintézetet, a Jenner–Pasteur Intézetet is ő alapította és vezette. Az első magyar nyelvű immunológiai összefoglaló munkát, „A gyakorlati immunizálás tana” címmel 1906-ban szintén ő írta. 1939-ben Washingtonban (USA) halt meg.

Az 1900-as évek elején sok tudós volt már meggyőződve arról, hogy az állatok és így az ember vérében is szabad antitestek sokasága kering. ALMROTH WRIGHT (1861–1947) feltételezte és bizonyította, hogy a specifikus antitestek kötődnek a kiváltó baktériumok felszínéhez, amely a fagocitózisukat és ezáltal az elpusztításukat eredményezi. Ezt a folyamatot ő nevezte el opszonizációnak. MICHAEL HEIDELBERGER (1888–1991) és OSWALD AVERY (1877–1955) figyelte meg először, hogy az antigén kicsapható antitesttel, és azt is, hogy az antitest fehérje. ASTRID FAGREUS 1948-ban fedezi fel, hogy a B-sejtekből képződő plazmasejtek termelik az antitesteket, az immunglobulinokat. Az antitestek (immunglobulinok) könnyűláncát GERALD EDELMAN és JOSEPH GALLY fedezte fel a hatvanas évek elején. GERALD EDELMAN és RODNEY ROBERT PORTER megosztva kapta az orvosi-élettani Nobel-díjat 1972-ben az antitestek, elsődlegesen az IgG- és IgM-molekulák szerkezetének kutatásáért. Az IgA felfedezése THOMAS TOMASI, az IgD-é DAVID ROWE és JOHN FAHEY, az IgE-é KIKISHIGE ISHIZAKA és TERUKI ISHIZAKA nevéhez kapcsolható. Az

immunglobulinok termelésének celluláris hátterének kutatásáért, az immuntolerancia felismeréséért, pontosabban a klónelméletért az orvosi-élettani Nobel-díjat 1960-ban FRANK MACFARLANE BURNET (1915–1985) és PETER BRIAN MEDAWAR (1915–1987) kapta. Az immunglobulin-termelés genetikai hátterének kutatásáért, a variabilitás hátterében lévő génátrendeződés felfedezéséért SUSUMU TONEGAWA kapott orvosi-élettani Nobel-díjat 1987-ben. Arra a kérdésre, hogy melyik a legmeghatározóbb felfedezés és ki a legjelentősebb felfedező az immunológia terén, lehetetlen válaszolni! Ma azt kell mondanunk, hogy az antitestek kutatási, diagnosztikai és terápiás hasznosítása szempontjából van első, van legkiemelkedőbb technikai vívmány! Ez – minden kétséget kizáróan – a monoklonális immunglobulin (antitest) termelés technikájának kimunkálása, amelyért NIELS K. JERNE, GEORGES J.F. KÖHLER ÉS CÉSAR MILSTEIN kapta meg az orvosi-élettani Nobel-díjat 1984-ben.

Ami a *komplementrendszer felfedezésének* rövid történeti áttekintését illeti, HANS ERNST AUGUST BUCHNER (1850–1902) német orvos, bakteriológus volt az első, aki felfedezett egy anyagot a vérsérumban, amely képes volt baktériumokat elpusztítani. Ezt az anyagot alexinnek nevezte el, ennek adta később PAUL EHRLICH a „complement” nevet. JULES BURDET (1870–1961) bizonyította be először, hogy a vérsérumban lévő, a baktériumokat előltni képes anyag kétkomponensű. Van egy hőrezisztens és egy hőérzékeny része. A hőérzékeny frakció az, amit EHRLICH komplementnek nevezett el. JACKIE STANLEY és munkatársai szereztek kiemelkedő érdemeket

a komplementfunkció pontosabb megismerésében, eszerint a komplementrendszer a specifikus antitestekkel együtt funkcionál, közösen fejtik ki hatásukat, de van amikor a komplement egyedül, nem specifikus módon is hat.

AZ IMMUNGLOBULONOK, AZ ANTITESTEK ÉS A KOMPLEMENTEK SZERKEZETE, MOLEKULÁRIS SAJÁTOSSÁGAI

Az **immunglobulinok** szerkezeti sajátosságainak teljes ismertetése messze meghaladja ennek a könyvnek a követelményeit és ennek a fejezetnek a terjedelmét. Itt csak a lényegi sajátosságok ismertetésére kerülhet sor. Az egyik legfőbb közös tulajdonságuk, hogy *glikoproteinek*. Előfordulásuk és fizikai állapotuk alapján két fő csoportba sorolhatók:

- Szabad, oldat fázisban lévő immunglobulinok (antitestek), amelyek legfőképpen a vérplazmában és sokkal kisebb mennyiségben, koncentrációban a különböző testnedvekben, pl. nyálban, hörgőváladékban stb. vannak jelen.
- Kötött formában bizonyos B-lymphocyta-sejtek perifériás zónájában, amelyeket ezért felszíni (sIg) vagy membrán-immunglobulinnak (mIg) neveznek.

Az *alapszerkezet* két nehézláncból és két könnyűláncból diszulfidhidakkal összekapcsolt Y alakú molekula. Ez a molekula, jöllehet 4 polipeptidláncból összekapcsolt komplex, mégis monomer (Ig-monomer) a

5-1. táblázat. Az emberi immunglobulinok fizikai-kémiai tulajdonságai

Immunglobulin	IgG ₁	IgG ₂	IgG ₃	IgG ₄	IgM	IgA ₁	IgA ₂	sIgA	IgD	IgE
nehézlánc	γ ₁	γ ₂	γ ₃	γ ₄	μ	α ₁	α ₂	α ₁ vagy α ₂	δ	ε
nehézláncdomének száma	4	4	4	4	4	4	4	4	4	5
nehézlánc-molekulatömeg (kilodalton)	51	51	60	51	65	56	52	52–56	69,7	72,5
molekulatömeg (kilodalton)	146	146	170	146	970	160	160	385	184	188
átlagos szérumkoncentráció (g/l)	9	3	1	0,5	1,5	3,0	0,5	0,05	0,03	0,00005
szénhidrát (%)	2-3	2-3	2-3	2-3	12	7–11	7–11	7–11	9–14	12

(Forrás: Petrányi, Benzúr, Falus: Klinikai Immunológia. 38. old. Medicina Könyvkiadó, Budapest, 1988.)

neve. Az emberi szervezetben fellelhető immunglobulinokban ötféle nehézlánc (μ , δ , γ , α , ϵ) és kétféle könnyűlánc (κ , λ) fordul elő. A nehézláncokban az aminosavak száma 450–550 között, míg a könnyűláncokban 210–220 között változik. Mivel az emberi szervezet fehérjét felépítő 20 aminosav átlagos molekulatömege 100 körül van, az aminosavak számából, ha megszorozzuk 100-zal, jó megközelítéssel megkaphatjuk az egyes láncok, sőt az egész immunglobulin-molekula (Ig-monomer) nagyságát, molekulatömegét is (5-1. táblázat).

Az összes immunglobulint (antitestet) *osztályokba* vagy más néven *izotípusokba* soroljuk. Az emberi szervezetben, együtt az összes placentalis emlőssel, a nehézláncok eltéréséből fakadóan 5 izotípus (osztály) van, amelyeket nagybetűkkel, ábécésorrendben a következőképpen jelölünk: IgA, IgD, IgE, IgG, IgM. Az IgD, IgE és IgG csak monomer formában fordul elő, az IgA lehet monomer vagy dimer. Az IgM, amely messze a legnagyobb méretű immunglobulin, pentamer, azaz 5 monomer egymásba kapcsolódása által képződött molekulakomplex. Az IgM lehet kötött formában az effektor B-lymphocytá sejtek felszínén vagy szabadon a vérplazmában. Azok az immunglobulinok, amelyek sejtek felszínéhez kötődtek, mint pl. az IgM és az IgD, tartalmazzak ún. „transzmembrán” régiót. Azokban viszont, amelyek csak szabadon, oldott állapotban vannak jelen a vérplazmában vagy a különböző testnedvekben, nincs „transzmembrán” régió. Az 5 immunglobulin-osztályon belül az IgG immunglobulinokat 4 alosztályba (IgG_{1-4}), az IgA immunglobulinokat 2 alosztályba soroljuk. Mivel az IgA monomer és dimer formában is előfordul (főként a testnedvekben), háromféle IgA van. Így a teljes immunglobulin (osztály–alosztály) szám 10(!) (lásd 5-1. táblázat).

Az immunglobulinok *alapegysége*, a két nehéz- és két könnyűláncból felépült *immunglobulin-monomer* (Ig-monomer) két fő részből áll, az F_{ab} (fragment antigen binding) és az F_c (fragment crystallizable) régióból. Az F_{ab} - és F_c -régió közti szakasz (kapocs- vagy csukló- (hinge-) régió) bizonyos proteázokkal (pl. papain) széthasítható, és így külön-külön részletebben tanulmányozhatók.

Az Ig-monomerek felépítését úgy is vizsgálhatjuk, hogy külön a nehézláncokat és külön a könnyűláncokat osztjuk régiókra szerkezetük és funkciójuk alap-

ján. Így a nehézláncokban is és a könnyűláncokban is megkülönböztethetünk konstans (állandó) és variábilis (változó) régiókat. A nehézláncokban a konstans régió azonos az összes idiotípusú (osztályú) antitestben. Ami a könnyűláncokat illeti, a két lánc típus (κ és λ) úgy fordul elő, hogy egy antitestben vagy az egyik, vagy a másik van jelen, azaz egy monomerben mind a kettő mindig azonos.

A **komplementrendszer** (complement system) molekuláris sajátosságai általánosságban úgy jellemezhetők mint proteázkaskád, amely az immunreakció, az antigén-antitest kapcsolódás hatására aktiválódik. Különös jelentősége van fertőző ágensek (baktériumok, vírusok) elpusztításában. A komplementrendszer tagjai különböző nagyságú, molekulatömegű fehérjék. Elsődlegesen a máj termeli ezeket, de más sejtekben is, pl. macrophagokban, monocytákban, a gyomor-bél és az urogenitalis traktus epithelialis sejtjeiben is termelődnek. Stimulus nélkül nyugalmi (proprotein) állapotban keringenek a vérben. Mai ismereteink szerint több mint 25 fehérje alkotja a teljes rendszert. Az aktiválásnak 3 útját különböztetjük meg:

- Klasszikus út.
- Alternatív út.
- Mannózkötő lektinindukált út.

Mivel a komplementrendszer valójában proteolitikus rendszer, az enzimek között lenne/lehetne a helye. Azért került mégis ide, az immunglobulinokhoz, mert a szervezetet külső hatásoktól, elsődlegesen fertőzésektől védő mechanizmushoz tartozik.

AZ IMMUNGLOBULINOK, AZ ANTITESTEK ÉS A KOMPLEMENTRENDSZER FUNKCIÓI

Az antigénstimulusra aktivált B-sejtek, a B-lymphocyták *antitesttermelő plazmasejt*té vagy memóriasejté differenciálódnak. Az utóbbiak „emlékeznek” az antigénre, így a következő találkozáskor gyorsabb és intenzívebb védekezésre lesz képes az egész szervezet. A termelőkből, a plazmasejtekből, a szintézis helyéről kikerült antitestek szabadon úsznak a véráramban, az oldott antitestek a „humorális immunitás” (védekezés) legmeghatározóbb szereplői.

5-2. táblázat. Az emberi immunglobulinok funkcionális tulajdonságai

Immunglobulin	IgG ₁	IgG ₂	IgG ₃	IgG ₄	IgM	IgA	IgD	IgE
komplementaktiválás (klasszikus út)	++	+	+++	-	+++	-	-	-
átjut a placentán	+		+	+	-	-	-	-
monocytához kötődik	+	-	+	-	-	-	-	+
granulocytához kötődik	+	-	+	+	-	+	-	-
hízósejthez kötődik	-	-	-		-	-	-	+++
lymphocytához kötődik	+	+	+	+	+	+	-	+
thrombocytához kötődik	+	+	+	+	-	-	-	?

(Forrás: Petrányi, Benzúr, Falus: Klinikai Immunológia. 46. old. Medicina Könyvkiadó, Budapest, 1988.)

Az antitestek 3 módon vesznek részt a szervezet védekezésében:

1.) Kötődnek a fertőző ágensekhez megakadályozva belépésüket és elszaporodásukat a szervezetben. 2.) Stimulálják a macrophag, a fagocita és más sejteket a patogénnek eltávolítására 3.) Beindítják a patogén destrukcióját, lebontását elvégző rendszereket, pl. a komplementrendszert. Az egyes immunglobulinokra lebontva az antitestek funkciói az 5-2. táblázatban vannak összefoglalva.

A komplementrendszer konkrét funkciója többre tehető. Először is meg kell említeni az „opszonizációt”, ami elősegíti az antigén, a patogén kórokozó fagocitózist. A kemotaxis az a mechanizmus, amely a macrophagok és a neutrophil leukocyták mozgását stimulálja. A lízis maga a kórokozók feloldását, szétroncsolását jelenti. A komplement vírusok molekuláris struktúráját képes megváltoztatni, és így az antigenitás megváltoztatásával a védekezést hatékonyabbá teheti.

AZ IMMUNGLOBULINOK ÉS AZ ANTITESTEK VIZSGÁLATA

Az immunglobulinok és az antitestek funkcióira irányuló vizsgálatok (A típusú). Az egész terület részletes leírása több kézikönyv terjedelmű lenne. Az antitestek funkcióira irányuló vizsgálatok ma egy külön tudományterületet, magát az immunológiát jelentik. Az immunológia ma már teljes önálló tudományterület, amelynek kutatási, diagnosztikai és terápiás olda-

la egyaránt van. Azok a vizsgálatok, ahol antitesteket különböző molekulák azonosítására, vérben, szövetnedvekben, sejtekben, sejtek felszínén az antigén kimutatására, mennyiségi meghatározására használunk, több kutatási területet, több orvosi diszciplínát érint. Ezek: laboratóriumi medicina, patológia, mikrobiológia. Ma, a monoklonális antitesttechnika bevezetése óta, mindhárom diszciplína kutatási és diagnosztikai tevékenységében az antigénmolekulák felismerése, meghatározása – az immunotechnológia elvének alkalmazása által – egyike a legfontosabb módszereknek. Mindebből következik, hogy itt, ebben a fejezetben csak röviden, az elvek rövid ismertetésével lehet az antitestekre funkcióik alapján irányuló vizsgálatokról (A típusú vizsgálatok) szólni, illetve azokról a vizsgálatokról, ahol célzatosan termelt monoklonális antitesteket használnak az antigénmolekulák azonosítására, mérésére (B típusú vizsgálatok).

- Az antitestek vizsgálatánál elsőként az egyes osztályokba tartozó *immunglobulinok mennyiségi meghatározását* említhetjük (A1-es vizsgálat). Ezekhez a mérésekhez az osztályokba tartozást meghatározó nehézlánc konstans régiója ellen termelt ellenanyagot használunk. Maga a meghatározás valamelyik immunkémiai módszer. A mérési eredmény a humorális immunstatus állapotáról adhat általános, nem specifikus információt. Bizonyos betegségekben, pl. egyes májbetegségekben diagnosztikai értékű is lehet, ill. a betegség súlyosságáról is informálhat az IgA, IgM, IgG immunglobulin-osztály mennyiségi meghatározása.

- *Immunszerológia* vagy egyszerűen csak *szerológia* (serology; A2-es vizsgálat). A szerológia az immunológia tudományágának egyik részterülete. Összefoglaló neve azoknak a vizsgálatoknak, ahol diagnosztikai céllal (lehet kutatási céllal is) az antigén-antitest kapcsolódást, az antitesteket, az antigén-antitest komplexumokat határozzák meg. Konkrétan a szerológia keretében azt vizsgáljuk, hogy van-e speciális ellenanyag, antitest és immunkomplex jelen a vérplazmában vagy bármely testfolyadékban egy speciális antigén ellen. Az antigén lehet bármely kórokozó, vírus, baktérium, gomba, parazita stb., de lehet csupán idegen fehérje- vagy nem fehérje molekula is. Bizonyos patológiás állapotokban, pl. az autoimmun betegségeken saját molekulák, fehérjék és nem fehérje molekulák is lehetnek antigének, amelyek ellen ellenanyagok (antitestek, immunglobulinok) termelődnek.

Az *immunreakció*, vagyis az *antigén-antitest kapcsolódás felismerése*, kimutathatósága, bizonyíthatósága módszertani értelemben elsődlegesen attól függ, hogy az antigén alakos (korpuszkuláris) elem van-e, vagyis szuszpenzió formában van-e jelen a kérdéses mintában, vagy oldottan, valódi oldat fázisban. Az alakos elem természetesen lehet sejt vagy más, mint pl. latexszemcse, amelyre az antigén rá van kötve. Az antitest az antigént magán viselő (prezentáló) alakos elemeket képes egymáshoz kapcsolni, azaz a szuszpendált (lebegő) állapotból csapadékká formálni. Ezt az átalakulást *agglutinációnak* nevezzük. Amikor valódi oldat fázisban lévő antigént kapcsolnak az antitest molekulák csapadékká, precipitációról beszélünk! *Direkt agglutinációról*, *precipitációról* vagy egyáltalán *immunreakcióról* beszélünk, amikor egyetlen antitest vesz részt a reakcióban, ez általában az IgM antitestek esetében van így. *Indirekt* a reakció, amikor második antitest hatására következik be az agglutináció, precipitáció vagy csak az immunreakció detektálása. Az *agglutináció aktív*, ha az antigén eleve rajta vagy benne van a sejt perifériás zónájában, a membránjában vagy más alakos elem felszíni rétegében. *Passzív agglutinációról* akkor beszélünk, ha valamilyen alakos elemhez (pl. latexszemcse) mi magunk kötjük az antigént. Az agglutinációt és a precipitációt

különböző tényezők befolyásolják. Így a hőmérséklet, a pH, az inkubációs idő, az antigén-antitest arány, az ionerősség, a különböző felületaktív (detergens természetű) molekulák jelenléte stb. Az antigén-antitest arányban van „kritikus arány”. Ez az arány, amikor az agglutináció, ill. a precipitáció bekövetkezik. A „kritikus arány” bizonyára a víz miatt van, hiszen a víznek, a fehérjék vízburkának meghatározó szerepe van az antigén-antitest kapcsolódásban. Sajnos azonban a részletek itt sem pontosan ismertek.

Az *agglutináción alapuló tesztek, vizsgálatok* – teljesség nélkül – a következők:

- Vércsoport-szerológia.
- Bakteriális antigén-antitest vizsgálatok.
- Autoantitestek kimutatása.
- Különböző hemagglutinációs tesztek.
- Coombs-teszt.
- Latexszemcsékhez kötött antigének és antitestek alkalmazása stb.

A *precipitáción alapuló szerológiai tesztek* is sokfélék. Részletes leírásuk a módszertani részben található meg. Itt csak rövid felsorolásukra kerülhet sor:

- Mancini-technika.
- Ouchterlony-módszer.
- Immunelektroforézis.
- Immunfixáció.
- Rakéta-immunelfo stb.

A *szuszpendált (lebegő) állapotban maradó immunkomplexek direkt vizsgálata* általánosságban a *nefelometria* (fényszórás) elvének alkalmazásával lehetséges. Külön érdemes megemlíteni a „*lézernefelometriát*” és a *turbidimetriát*. A *fluoreszcens polarizáció* elvén alapuló technikák is a lebegő immunkomplexek közvetlen vizsgálatát jelentik. Fontos megjegyezni, hogy ezek a módszerek, ezek a technikák, ahol a lebegő, szuszpenzióban maradó antigén-antitest komplexek direkt vizsgálatára kerül sor, nem kizárólagos szerológia (A2) módszerek, hanem széles körben alkalmazhatók és alkalmazzák őket a speciálisan termelt monoklonális immunglobulinokat felhasználó (B típusú) vizsgálatokhoz is.

A szerológiai vizsgálatokhoz (A2) kell sorolni azokat az immunfluoreszcens mikroszkópos vizsgálatokat is, ahol direkt vagy indirekt módszerrel mik-

roszkópos preparátumokon vizsgáljuk az antitestek specifikus kötődését bizonyos sejtorganellumokban lévő antigénekhez.

Az antitestek molekulafelismerő funkcióit felhasználó vizsgálatok (B típusú). Mint előbb már említettük, részben ide tartoznak a szuszpendált állapotban maradó immunkomplexeket vizsgáló nefelometria, turbidimetria, és a fluoreszcens polarizáción alapuló eljárások alkalmazhatók a speciálisan termelt monoklonális immunglobulinokat felhasználó (B típusú) vizsgálatokhoz is.

A különböző *ELISA* (enzyme-linked-immuno-sorbent-assay) technikák, a *RIA* (radioimmunoassay) módszerek, a magas érzékenységű „*immunochemiluminescence*” technikák döntően nem a szerológiai módszertani arzenálhoz tartoznak, vagyis már szorosan nem az immunológia területének, hanem sokkal nagyobb arányban az általános laboratóriumi diagnosztikának, a klinikai biokémiának a módszerei. Hiszen céljuk nem a vérben fellelhető speciális antitestek kimutatása, meghatározása, hanem az antigének, a kis koncentrációban jelen lévő peptidok, hormonok, szerves molekulák pontos mérése a feladat. Így e technikai eljárásokat az immunmódszerek B típusánál alkalmazzák, vagyis ott, ahol a vizsgálatot végző termel magas specificitású monoklonális ellenanyagot, antitesteket pontosan azzal a céllal, hogy nagy érzékenységgel és specificitással tudja az antigént meghatározni, akár diagnosztikai, akár kutatási célra.

Külön csoportba tartoznak az ún. blott, immuno-blott technikák. Közülük ki kell emelni a kétdimenziós poliakrilamid-gélelektroforetikus elválasztást követő immunoblottot. A lényeg, hogy a nagyfelbontású kétdimenziós poliakrilamid-gélelektroforézis gyakorlatilag individuális fehérjék elválasztását teszi lehetővé. Ha az elválasztott egyedi fehérjéket harmadik dimenziós elektroforézissel nitrocellulózmembrán felszínére viszik, a speciális monoklonális ellenanyaggal az egyes fehérjék közvetlen detektálása végezhető el.

*

A *komplementrendszer funkcionális vizsgálata* valójában a szerológia tárgykörébe, s így az immunológia területére tartozik. Részletesebb ismertetésére a könyv más fejezetében kerül sor.

Motorfehérjék, kontraktilis fehérjék, intracelluláris vázfehérjék (citoszkeleton)

TÖRTÉNETI ÁTTEKINTÉS

Az ember ősidőktől észlelte, tudta, hogy önmaga és minden más élőlény is, különösen az állatok – szemben az élettelen anyagi világ szereplőivel – mozognak. Olyannyira, hogy a mozgás maga az élet meghatározója lett(!) Él, ami önmagában, önmagától mozog! A legelső mikroszkópos megfigyelések, amelyeket ANTONI VAN LEEUWENHOEK (1632–1723) végzett, azt bizonyították, hogy körülöttünk a vizekben és bennünk parányi, szabad szemmel nem látható, önmaguktól, önmagukban mozgó létezők, élőlények (protozoonok, spermiumok, baktériumok stb.) vannak. Azt is korán felismerték az emberek, hogy a nagyobb (soksejtű) élőlényeknek, az állatoknak és természetesen önmagának, az embernek mozgásához külön szerve van. Ez az izomzat, ami egyben mint hús a legfőbb tápláléka is az embernek.

Arra a kérdésre azonban a válasz, hogy pontosan milyen anyag/anyagok és milyen mechanizmus felelős az izomzat működéséért, az izomzat vezérelte mozgásokért, a negyvenes évekig gyakorlatilag teljesen ismeretlen volt. Nagy büszkeséggel kell minden magyar embernek, minden magyar diáknak fogadnia azt aényt, hogy az izomműködésért felelős anyag, molekulák és a mechanizmus átfogó kutatását először magyar kutatócsoport kezdte el és ért el kiemelkedő eredményeket. 1940–1945 között Szegeden. SZENT-GYÖRGYI ALBERT – miután a C-vitaminnal kapcsolatos kutatásaiért 1937-ben megkapta az élet-tani-orvosi Nobel-díjat –, munkatársaival együtt új területre, az izomkutatásra tért át. Bízást lehet állítani, hogy 1938-1945 között Szeged, pontosabban SZENT-GYÖRGYI ALBERT intézete a Szegedi Tudományegyetemen volt a világ izombiokémiai kutatásának legjelentősebb központja [1]. Igaz, a miozin felfedezése sokkal korábbra, 1864-re tehető, és WILHELM KÜHNE nevéhez köthető [2], és az is igaz, hogy a bizonyítékot arra, hogy a miozin ATP-áz funkcióval rendelkezik, nem ők, hanem ENGELHARDT és LYUBIMOVA fedezte fel [3], SZENT-GYÖRGYI ALBERTNEK és munkatársainak munkája, eredményei örökérvényű mérföldkövek az izom, az izom biokémiája, a kontraktilis fehérjék kutatása, megismerése szempontjára.

ból. Az aktomiozin izolálása, majd a miozin mellett a kontrakcióért felelős másik fehérje, az aktin felfedezése, sőt a névadás maga SZENT – GYÖRGYI ALBERTNEK és munkacsoportjának, az aktinkutatás tekintetében kiemelten STRAUB F. BRÚNÓNAK tulajdonítható. Ők fedezték fel azt is, hogy az aktin monomer, a G-aktin, a közeg ionerősségétől függően polimerré, F-aktinná alakul.

Az izomkutatás a II. világháború után Szegeden ugyan megszakadt, de a világ számos kutatóintézetében, laboratóriumában tovább folytatódott és ma is nagy intenzitással folyik. A kutatások egyszerre terjednek ki a szervek, a szövetek (harántcsíkolt, sima- és szívizom), a molekulák és a mechanizmusok megismerésére. A miozin–aktin–ATP rendszer megismerése mellett az ionizált kalciumot reguláló troponinok, a tropomiozin megismerése, a 200-at meghaladó aktinkötő fehérje (aktin-binding proteins) leírása, a mioglobín és az elaszticitás biztosításáért felelős óriási fehérjemolekula, a titin felfedezése a legjelentősebb. Külön ki kell emelni azt a lényegi felismerést is, hogy aktin nem csak az izomsejtekben, hanem minden élő sejtben jelen van! Az izom-összehúzódás, az izomkontrakció mechanizmusára, bár más elméletek is léteznek, bizonyos módosításokkal a HUXLEY, NIDERGERKE és HANSON által kidolgozott csúszó filamentum modell a legelfogadottabb [4].

Az élő sejtek belső vázfehérjerendszerének kutatása, sőt diagnosztikai célú vizsgálata az elmúlt 50 évben a fehérjebiokémia, a fehérjeanalitika egyik jelentős területévé lett. Az élő sejtek belső fehérjevázát, a citoszkeletont három fehérjecsoport építi fel:

- Mikrotubuláris rendszer.
- Intermediér filamentumrendszer (közti; 100 Å-ös).
- Aktinfilamentumok, a mikrofilamentumok rendszere.

Nem-ionos detergensekkel kezelve egyrétegű (monolayer) sejt kultúrák sejtjein a vázfehérjerendszer egyes alkotóelemei ellen termelt ellenanyagokat használva, indirekt immunfluoreszcencia technikával a háromdimenziós vázrendszer jól detektálható. Mivel detergenskezelés, vagyis a monomerek eltávolítása után lehet a filamentumokat jól látni, a sejt vázát *detergens-rezisztens citoszkeletonnak* szokás nevezni. Az igazság érdekében meg kell említeni, hogy a sejt magokat a környezethez kipányvázó detergens-rezisztens cito-

szkeletont mi láttuk és írtuk le elsőként a világon Pécssett [5]. A kontraktilis fehérjék kutatásának legújabb és leggyorsabban bővülő területe a „molekuláris motorok”, a „motorproteins” kutatása, vizsgálata.

A KONTRAKTILIS FEHÉRJÉK, A MOTORFEHÉRJÉK ÉS A CITOSZKELETONFEHÉRJÉK SZERKEZETE, MOLEKULÁRIS SAJÁTOSSÁGAI

A kontraktilis és a motorfehérjéket ma egységes rendszerben lehet és érdemes vizsgálat alá venni: a molekuláris motoroknak több típusát különítik el:

- Aktin alapú motorok.
- Mikrotubuláris filamentum alapú motorok.
- DNS alapú motorok.
- Rotációs motorok, baktériumokban.
- Mechanoenzimek.

Aktin alapú motorok

Az aktin alapú motorok a miozinmolekulákkal képesnek működő molekuláris motorokat. Az aktin, ahogyan vizsgálni tudjuk, 42 000 dalton (42 kDa) molekulatömegű globuláris fehérje (G-aktin). Fiziológias ionerősség mellett in vitro is polimerré, F-aktinná alakítható.

Ma az aktint tekintjük az egyik legősibb, leggyakrabban előforduló és legtömegesebb fehérjének az egész élővilágban. Gyakorlatilag minden élő sejtben előfordul, és a sejt össz-fehérjetartalmának 15%-át vagy még nagyobb hányadát teszi ki. Jelenlegi tudásunk szerint minden sejtben monomer (G-aktin) és polimer (F-aktin) formában is jelen van. Az F-aktin a nem izomsejtekben mikrofilamentum formában, az izomrostokban vékony, 9 nm (90 Å) filamentum formában van jelen. Az aktinkötő fehérjék (actin-binding proteins, ABP) száma rohamosan növekszik. A Wikipedia (free encyclopedia) 2010. november 8-i közlésében az ábécé betűi alatt több mint 280 speciális aktinkötő fehérje van felsorolva. Az izom funkciója, a kontrakció, az aktin alapú motorfehérje munkája szempontjából a *miozin* a legjelentősebb az aktinkötő fehérjék közül. Ezért itt részletesen csak a miozin molekuláris sajátosságait ismertetjük. Csak felsorolásszinten azért érdemes néhány egyéb, ismertebb aktinkötő fehérjét megemlíteni: aldoláz, angiogenin, annexin, brevin (gelzolin), kalpain, kaldezmon, disztrofin, endosszin, fondrin, fimbrin, glikogenin, gluko-

kináz, hexokináz, hsp 70, integrin, inzertin, kaptin, miopodin, myelin basic protein, nebulin, neurokalcin, plasztin, p53, protein-kináz C, porin, rapszin, szinaptopodin, szpektrin, titin, tau, utrofin, vinkulin, villin, WASp, cipper protein stb.

Ahogy a kontraktilis fehérjék történeti leírásánál korábban említettük, a *miozin* (myosin) volt az első fehérje, amelyet az izom kontraktilis apparátusából izoláltak, megismertek [6]. A harántcsíkolt izomból izolálható miozin, amely az izom alegységében, a miofibrillumban vastag (15 nm, 150 Å) filamentum formában van jelen, 520 kDa nagyságú fehérjekomplexum. Ma a miozinról azt kell tudni, hogy nem egységes összetett fehérje, hanem nagyon sokféle miozin van. Az alegységek felépítettsége, aminosavszekvenciája alapján több mint 100féle miozint különböztetünk meg. E nagyszámú miozint nehézláncaik aminosav-összetétele alapján családokba osztjuk. Jelenleg 18 miozincsaládot különböztetünk meg, és azokat, római számmal jelöljük. Azt, amelyet elsőként harántcsíkolt vázizomból izoláltak (a 520 kDa nagyságú miozin), a II. családba sorolták be, és a miozin II., ill. konvencionális miozin nevet kapta. Ennek a besorolásnak az a „logikája”, magyarázata, hogy a harántcsíkolt izomból izolált miozinnak két „fejrésze” van, miközben a nem izomsejtekből izoláltak egy. Ebből következett, hogy a nem izomsejtekből izolált „egyfejtű” miozin került az I. osztályba miozin I., „nem konvencionális” miozin néven. A miozinokat alapvetően 3 részre osztjuk: fej, nyak, fark. A fejrész tartalmazza az ATP-kötő helyet, az ATP-áz centrumot és az aktinkötő helyet. A nyaki rész a flexibilitást adja. Különböző könnyűláncok kapcsolódnak ide, ill. itt van a kalmodulin (Ca^{2+} -regulátor) fehérje kapcsolódási helye is. A farki rész molekuláris összetételének eltérései miatt térnek el az egyes miozin-molekulacsaládok. A miozin II., a konvencionális miozin, amely időben és mélységében a legismertebb, két (220 kDa) nehézláncot (egyenként 2000 aminosavat) és négy könnyű- (20 kDa) láncot tartalmaz, így 520 000 dalton (520 kDa) nagyságú. Az aktin alapú motorok, mint általában a molekuláris motorok, közvetlenül in vitro kísérleti körülmények között vizsgálhatók. Történetileg először aktinfilamentumokon miozinnal fedett gyöngyök mozgását követték. Manapság inkább miozinnal fedett tárgylemezen aktinfilamentumok (F-aktin) mozgását tanulmányozzák.

Mikrotubuláris alapú motorok

A mikrotubuláris rendszer a citoskeleton fontos összetevője. Rajta mint „sínpályán” kétféle motorfehérje mozgását írták le az élő sejteken belül és in vitro kísérleti feltételek között. Ezek a dineinek és a kinezinek.

Magáról a „sínpályáról”, a tubuláris rendszerről, annak molekuláris sajátosságairól azt kell tudni, hogy két közel azonos, 50 kDa nagyságú alegységből, α - és β -tubulinból felépült, 25–30 nm átmérőjű csavardott csőrendszer.

A dineinmotorok felelősek a ciliumok és a flagellumok mozgásáért. A *dinein* (dynein) fehérjecsalád összetételében és szerkezetében eltér a miozinoctól. 1000–2000 kDa nagyságú óriás molekulakomplex, ATP-áz funkcióval rendelkezik, azaz az ATP-vel közölt energiát használja a mikrotubuláris kábelén, „sínpályáján” való mozgáshoz, ami a ciliumok és a flagellumok mozgását biztosítja.

Az elmúlt évtizedekben vált ismertté, hogy a mikrotubuláris rendszernek fontos szerepe van minden eukarióta sejtben a vezikulumok és a különböző organellek mozgásában, és ezeket a mozgásokat a kinezinmotorok vezérlik. Különösen jelentős a vezikulumok transzportja a neuronokban, ahol akár egy méter távolságot is meg kell tenni a transzport során. Az in vitro technikák alkalmazásával sikerült a vezikulumok és a sejtorganellek mozgásáért felelős *kinezin* motorfehérje-családot mélyebben megismerni. A kinezinmolekula két 110 kDa nagyságú nagyobb és két 70 kDa nagyságú kisebb fehérjéből áll. Alakját tekintve hosszúkás, hossza 110 nm. Van mikrotubuláris kötő- és organellek-, ill. vezikulum kötőhelye, és mint a motorfehérjék általában, ATP-áz aktivitással rendelkezik.

DNS alapú motorok

A DNS alapú mechanoenzimek mint motorfehérjék kutatása, motorként való elfogadása teljesen új. Maguk a polimerázok, az izomerázok, a girázok mechanikai munkát végeznek. A pusztán tényt ismerte a tudomány korábban is, de hogy maga a mechanika, a működő erő közvetlenül analizálható, valóban teljesen új. Az új technikák tették, teszik ezt lehetővé.

Rotációs motorok

A rotációs motorok a prokariótákban, a baktériumokban működő motorok. A baktériumok ostoraik-

kal (flagellum) mozognak. A flagellumokban a filamentumok 53 kDa nagyságú flagellin alegységekből épülnek fel. A baktériumok ostoraiban működő motor teljesen eltér az eukarióták flagellumaiban vagy ciliumaiban működő motoroktól (lásd a spermiumok vagy a bronchialis csillók mozgását). Először is az energiát nem ATP, nem ATP-áz enzim aktivitás adja. Nem belső része a sejteknek, hanem „extracelluláris” képződmény. A motor hatékonyságára jellemző, hogy a baktériumsejt energiájának csupán 1%-át használja ostorának mozgatására. A baktérium haladási sebessége viszont meglehetősen nagy, 25 $\mu\text{m/s}$. Méretére vetítve és az emberrel összehasonlítva a baktérium mozgásával azonos sebesség azt jelentené, hogy a 100 m-es síkfutást az embernek 5,5 másodperc (s) alatt kellene teljesítenie. A baktériumok ostoraiban „protonvezérelt” motor végzi a munkát. A protongradiens, a protonáram rotációs mozgássá változik. A hogyanra(?) biztos ismeretünk nincs, de több elméletet is kialakítottak.

Mechanoenzimek családja

Az ötödik motorfehérje-féleség. Elsődlegesen a szintézisnél, a riboszómákban írták le az ilyen motorfehérje-működést. Teljesen új, de kétségbevonhatatlanul igaz, és még sok újabb és újabb ismeretet ígérő gondolkodást kíván a fehérjeszintézist, a transzlációt mechanikai eseménynek is tekinteni. Ugyancsak helyes mechanikai eseményként felismerni, vizsgálni a DNS és az RNS enzimátikus hasítását, pl. a restrikciós endonukleázok hatásmechanizmusánál, de valamennyi proteolitikus hasításánál is. Új világ tehát a molekuláris mechanika, a molekuláris motorok kutatása és új szemléletet is igényel tőlünk is az élő sejtet nem csak kémiai és fizikai rendszernek, hanem dinamikusan működő mechanikai(!) molekuláris gépezetnek is tekinteni.

A KONTRAKTILIS FEHÉRJÉK, A MOTORFEHÉRJÉK ÉS A CITOSZKELETONFEHÉRJÉK FUNKCIÓI

A történeti részben és a molekuláris sajátosságok leírásánál is azt kellett, azt lehetett észrevenni, hogy a fehérjekutatás teljesen új területéről van itt szó. Új szemlélet, új kutatási módszerek. Éppen ezért se a történeti leírást, se a molekuláris sajátosságokat nem lehetett a funkció leírása, a funkcióra utalás nélkül

tárgyalni. A motorfunkció, a mechanika mikéntjére sok elképzelés van. Ezeknek ismertetésére azért sem kerül itt sor, mert ma még nyilvánvalóan bizonytalan és terjedelmes is. Maga az energia, az ATP-áz, a makroerg foszfát emlegetése is ismeretnek hangzik, holott a pusztá szavak évtizedek óta nem visznek közelebb a mechanizmus mélyebb megismeréséhez. Tehát úgy helyes elfogadni, hogy a funkció leírására az előző két alfejezetben már sor került, hiszen tényszerűen jelenleg többet állítani nem lehet.

A KONTRAKTILIS FEHÉRJÉK, A MOTORFEHÉRJÉK ÉS A CITOSZKELETONFEHÉRJÉK FUNKCIÓIRA IRÁNYULÓ VIZSGÁLATOK

A soksejtű élőlények, elsődlegesen az állatok és természetesen az emberek mozgásának szerv szintű vizsgálata több tudományterületet érint. Ezek a vizsgálatok kiterjednek a vázizom funkciójának, teljesítőképességének vizsgálatára. A szív működés, a szívizom-kontrakció vizsgálata a kardiológia tárgykörébe tartozik. Azoknak a szerveknek a vizsgálata, amelyekben a mozgást simaizomsejtek összehangolt működése adja, a fiziológia és az orvoslás különböző ágazataihoz tartozik.

Az egyes sejtek mechanikájának vizsgálata nyilvánvalóan olyan speciális mikroszkópos technikához kötött, ahol az élő sejtek közvetlenül és folytonosan tanulmányozhatók. Ilyen a fáziskontraszt-mikroszkópia, az interferenciamikroszkópia, a fluoreszcens mikroszkópia és a konfokális mikroszkópia is.

Az izolált fehérjék mechanikájának közvetlen vizsgálata teljesen új világ. Kimondottan a kutatás világa! Lézer alapú és fluoreszcens technikai eljárások szellemes, sokszor egyéni ötvözte adja itt a módszertani arzenált.

Enzimek, biokatalizátorok

Az enzimekkel foglalkozó tudományterületet enzimológiának nevezzük. Az enzim másik, szinonim, alternatív neve „biokatalizátor”. Molekuláris természetüket tekintve az enzimek fehérjék. Ezen állítás igazságtartalmán semmit sem változtat az, hogy bizonyos kísérletekben az RNS-ek enzim sajátosságát ismerték fel. Ennek alapján az enzimaktivitást mu-

tató RNS-eket *ribozimnak* nevezték el. A „biokatalizátor” elnevezés jól kifejezi, hogy az enzimek kémiai reakciókat befolyásolnak, serkentenek, gátolnak vagy maguk hajtanak végre. Amikor igaz állításnak fogadjuk el, hogy minden enzim fehérje, érdemes megvizsgálni az állítás fordítottját is. Azt, hogy igaz lehet-e, hogy minden fehérje enzim? Látva a sokféle fehérje sokféle funkcióját, elsőre a válasz egyértelműen nem! Nem minden fehérje enzim – állítanánk, azonban jól kell tudnunk, hogy egy fehérje a léte során többféle funkciót is betölthet, különösen, amikor darabolódik. Más a funkciója egészben, mint darabolódás után. Ismert, hogy szintéziskor minden kialakuló peptidlánchoz ATP kapcsolódik. Ez jól bizonyított az ún. elongációs fázisban. Az új peptidlánchoz kapcsolódó ATP „sorsa” háromféle lehet:

- Hasítatlanul lekerül a láncról.
- Elhasítódik és a foszfát a láncon kötve marad.
- Elhasítódik és az ADP marad a fehérjéhez kötve.

Bármelyik történik is, maga a fehérjelánc részt vesz a reakcióban, vagyis valamilyen módon katalizálja azt. Ebből a tényből fakad, hogy a léte során legalább egyszer, a kezdetnél minden fehérje enzimmént is viselkedik. Tehát helyes úgy tekintenünk minden fehérjére, hogy általános tulajdonságuk, ATP-kötő képességük miatt, mindegyik képes enzimmént is viselkedni.

TÖRTÉNETI ÁTTEKINTÉS

Minden kétséget kizáróan LOUIS PASTEUR (1822–1895) francia mikrobiológus és kémikus volt az első, aki a cukor alkohollá erjesztését tanulmányozva bebizonyította, hogy az élesztőgombákból származó anyag, amit *fermentnek* nevezett, felelős a fermentációért. WILHELM KÜHNE (1837–1900) német élettanász volt az első, aki az enzim elnevezést („élesztőből” – görögül *ἐνζυμο*) használta. EDUARD BUCHNER (1860–1917) bizonyította és közölte elsőként (1897), hogy az élesztősejtek jelenlétére nincs szükség, hogy a sejtekből származó anyag, amelyet „sucrose zymase”-nak nevezett, végrehajtsa a cukor → alkohol átalakítást. E felfedezéséért, nevezetesen azért, hogy elsőként írta le a sejtmentes fermentációt, kémiai Nobel-díjat kapott 1907-ben. Ezt követően a XX. századot a biokémia, az élővilág kemizmusát feltá-

ró tudomány századának szokták tekinteni, ami viszont elsődlegesen az enzimeknek, a biokatalizátor fehérjéknek a kutatását, megismerését, felfedezését jelentette. Az elnevezés, az enzimek nómenklatúrája egyszerűen a szubsztrátmolekula neve, amelynek valamilyen átalakulását segíti elő, serkenti, az „áz” képzővel kiegészítve.

AZ ENZIMEK, BIOKATALIZÁTOROK MOLEKULÁRIS SAJÁTOSSÁGAI

Az a meghatározás, hogy az enzimek fehérjék, egyértelműen meghatározza molekuláris sajátosságait. Egyszerűen az enzimek sokfélék (heterogének). Valóban a legegyszerűbb fehérjétől, 50–100 aminosavból felépült peptidtől (lásd bizonyos proteázok és a restrikciós endonukleázok) a sok-sok alegységből felépült és nem fehérje alkotókat (pl. nyomelemeket) is tartalmazó, többszázszázreszes molekulatömegű óriás molekulakomplexekig, mind, mind előfordulnak az élővilágban. Viszont érdemes az enzimeket, mint ahogy az összes fehérjét, termelődésük logikai rendjében megvizsgálni. Különösen érdemes ezt a logikai rendet követni a diagnosztikus célú enzimológiában. Mint minden fehérjét, az enzimeket is, élő sejtek termelik. Tehát az enzimek az élő sejt produktumai. A második fontos logikai állítás, tény, hogy az élő sejt az enzimeket is, mint minden fehérjét, két célból termeli. Saját használatra, saját alkotóelemének vagy „exportra”, azaz sejten kívüli felhasználás céljából termeli. Mivel a diagnosztikai célú vizsgálatokhoz a minta általában a vérszérum vagy a vérplazma, fontos tudni, hogy a vizsgálni kívánt enzim vagy bármely fehérje a két lehetőség közül hova tartozik. Azért termelődött-e, hogy magának a sejtnak alkotórésze legyen, vagy azért, hogy a sejten kívül végezzen katalitikus vagy bármilyen más funkciót? A sejtalkotók ugyanis csak a sejtek elhalása vagy haldoklása, áteresztővé válása idején jutnak az extracelluláris teret jelentő vérplazmába, a külső hasznosulásra termelt fehérjék viszont fiziológiai úton választódnak ki (szecernálódnak) a termelő sejtekből. A vérplazmában vagy a vérszérumban mért aktivitásuk vagy koncentrációjuk jól értékelhető információt ad a termelő sejtek állapotáról. Azok az enzimek és más fehérjék, amelyek amúgy sejtalkotók, magasabb aktivitással, magasabb koncentrációban lesznek jelen a plazmában, amikor a

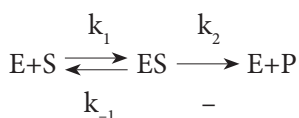
termelő sejteknek fokozott a károsodottsága, fokozott az elhalási rátája, míg a külső használatra termeltéké ilyenkor alacsonyabb.

AZ ENZIMEK FUNKCIÓI

A pontosabb eligazodás érdekében a funkciók alapján a beláthatatlanul sok enzimet 6 osztályba soroljuk. Az osztályokon belül vannak csoportok, majd maguk az egyes enzimek.

Az egyes enzimosztályokat az 5-3. táblázat tartalmazza.

Már a XX. század kezdetén kimutatták, hogy az enzimreakciók nem egyszerű másodrendű reakciók. Több megfigyelésből azt a következtetést vonták le, hogy az enzim komplexet kell hogy képezzen a szubsztrátjával mielőtt átalakítja. A legegyszerűbb, két egymást követő lépésből álló enzimfolyamat feltelezett mechanizmusát és kinetikáját MICHAELIS és MENTEN írta le 1913-ban. Az igazsághoz hozzátartozik, hogy VICTOR HENRI (1849–1933) volt az első, aki 1902-ben kidolgozott egy kvantitatív enzimkinetikai elméletet, a teljes bizonyosságot azonban a német kémikus, LEONOR MICHAELIS (1875–1949) és az ő fiatal kanadai munkatársa, MAUD LEONORA MENTEN (1879–1960) adták. Éppen ezért helyesebb Henri–Michaelis–Menten enzimkinetikának, mint csak Michaelis–Menten kinetikának nevezni. Ezen elmélet szerint a legegyszerűbb enzimreakció a következő egyenlettel írható le:



E az enzimet, S a szubsztrátot, P az enzimreakció termékét (a produktumot) jelenti. A nyilakhoz írt sebességi állandók indexébe írt szám a reakciólépés számát, előjele a reakció irányát jelöli. Általánosságban az enzimek, a biokatalizátorok funkciójáról nem csupán azt a tényt kell tudni, hogy kémiai reakciókat katalizálnak, gyorsítanak fel, hanem a gyorsítás mértékét is. Ez elképesztően, megdöbbentően nagy, a spontán átalakulás sebességének 10^9 – 10^{12} -szerese is lehet. (Illusztrálásképpen csak egy példa egy közleményből: az orotidin-5'-monofoszfát nem katalizált, spontán dekarboxilációjának féleletideje 78 millió év lenne, ha viszont az orotidin-5'-foszfát-dekarboxiláz jelen van, a reakció 25 ms alatt végbemegy [7]).

AZ ENZIMEK, BIOKATALIZÁTOROK FUNKCIÓIRA IRÁNYULÓ VIZSGÁLATOK

Az enzimek funkcióinak, az enzimreakcióknak az elsődleges vizsgáló-, mérőeszköze a *spektrofotométer*. Pontosabban a fényelnyelésváltozást (Δ extinkciót) mérni képes speciális spektrofotométer. A XX. század a biokémia óriási fejlődésének századaként fogadható el. Ez egyben azt is jelenti, hogy a XX. század az enzimológia fejlődésének százada is, ami egyben a spektrofotometria fejlődését, széles körű alkalmazását is magában foglalja. Az enzimaktivitás, vagyis a szubsztrátátalakítás sebességének mérhetőségénél már a kezdetektől azzal az alapvető problémával találkozott, hogy a szubsztrátátalakulás a spektrofotometria módszerével – az esetek döntő többségében – közvetlenül nem analizálható, nem monitorozható, nem

5-3. táblázat. Enzimosztályok

Sorszám	Elnevezés	Funkció
I.	oxidoreduktázok	elektron, ill. H^+ átvitele
II.	transzferázok	csoportátvitel egy szubsztrátról egy másikra
III.	hidrolázok	vízbevitellel kovalens kötések hasítása
IV.	liázok	a szubsztrátmolekulát úgy hasítják ketté, hogy az egyik termékben kettős kötés alakul ki, vagy visszafelé: kettős kötésre való addíció játszódik le
V.	izomerázok	különböző típusú izomerizációt katalizálnak
VI.	ligázok	energiaigényes szintéziseket katalizálnak

mérhető. Viszont fokozatosan ismertté vált, hogy az enzimreakciók igen nagy részében kapcsolódó faktorkok (kofaktorok) átalakulására kerül sor, ill. kapcsolódó enzimreakciók (koenzimreakciók) zajlanak. A kapcsolódó enzimreakciók viszont sok esetben olyan végterméket eredményeznek, amely kiválóan mérhető spektrofotometriásan. Technikailag az enzimdiagnosztika, amely a laboratóriumi diagnosztika jelentős területe, a kapcsolt vagy indikátor enzimreakciók termékeinek spektrofotometriás analizisére épült, épül. A követelmény tehát az, hogy a kapcsolt indikátorreakció végterméke vízben oldható, stabil, jól fotometrázható (határozott elnyelési maximuma legyen, lehetőség szerint a látható fénytartományban) és a keletkezett végtermék mennyisége szigorúan arányos legyen a szubsztrátátalakulással. A diagnosztikus enzimológiában a méréseknél azt is figyelembe kell venni, hogy vannak enzimaktivitást befolyásoló tényezők. Ezek: a hidrogénion-koncentráció (pH), az ionerősség, az ionösszetétel, a hőmérséklet és a különböző specifikus és kevésbé specifikus aktivátorok és gátlók arzenálja. Az enzimdiagnosztika standardizálására nemzetközi egyezségek léteznek. Manapság a megválasztott hőmérséklet, a módszer és más kondíciók tekintetében egységes előírások vannak.

Külön kell említést tenni az *enzimhisztokémia* alapelvéről. Itt is kapcsolt indikátorreakciót alkalmazunk, de itt az az alapkövetelmény, hogy a látható fénytartományban elnyelő (színes) végtermék vízben oldhatatlan legyen. Maradjon ott, ahol az enzim van. Ezt az elvet alkalmazzuk az *elektroforézissel* elválasztott (membránban vagy gélben) izoenzimek detektálásához.

Végül az enzimek analitikai vizsgálata után „szubsztrátfelismerő” képességük méréstechnikai alkalmazásáról kell szólni. Ennek kiemelkedő jelentősége van a laboratóriumi diagnosztikában. Bizonyos kisebb méretű szerves molekulák specifikus és érzékeny meghatározása csak az enzimfehérje szubsztrátfelismerő sajátosságával lehetséges. A vércukor-meghatározást pl. az enzim-szubsztrátfelismerés alkalmazása nélkül, csak kémiai reakcióval sokkal kisebb érzékenységgel és pontossággal lehet kivitelezni. Ilyen enzim szubsztrátfelismerésére épített reakciót alkalmazunk a laboratóriumi diagnosztikában a glükózon kívül számos molekula, pl. koleszterin, triglicerid, karbamid, kreatinin, húgysav stb. mérésekor.

Hormonok

A hormonok definíciója nem könnyű. Egy bizonyos, hogy külön óriási tudományterület, ma is gyorsan fejlődő tudományterület, az *endokrinológia* tárgykörébe tartozik. Itt, a biológiai funkcióik alapján való fehérjevizsgálatok általános fejezetében, annyit le kell szögezni, hogy nem minden hormon peptid vagy fehérje. Ebből az következik, hogy a hormonfogalom nem analitikai, hanem fiziológiai fogalom. Közös neve azoknak a molekuláknak, amelyek a szervezetben képződnek és más sejtek, sejtcsoportok, szövetek, szervek működését befolyásolják. A termelésük speciálisan differenciálódott sejtekben, általában mirigyekben, a belső elválasztású (endokrin) mirigyekben megy végbe.

TÖRTÉNETI ÁTTEKINTÉS

A hormon fogalmat WILLIAM MADDOCK BAYLIS (1860–1924) angol fiziológus és ERNEST HENRY STARLING (1866–1927), szintén angol fiziológus alkotta és használta először 1904-ben. Ők fedezték fel együtt a szekretin hormont és szerepét a bélperisztaltikában. A hormon név görög szó és „sarkantyúz” a jelentése. Mára általános neve lett azoknak a molekuláknak, amelyekkel az endokrinológia foglalkozik. Így a részletes történeti ismeretek azok számára, akik mélyebb ismeretekre vágnak az endokrinológiai kézikönyvekben lelhetők fel.

A HORMONOK MOLEKULÁRIS SAJÁTOSÁGAI

A hormonok a szervezeten belül a véráram útján közvetített molekulák, amelyek a „célsejtekhez”, a „célszervekhez” eljutva ott fejtik ki hatásukat. A hormonok tárgyalásánál találkozunk azzal a molekuláris szerveződéssel, úgy is fogalmazhatunk, hogy fehérjemolekulák szerveződésével, amely biztosítja a sejt felszínén, hogy a hormont a számára elérhető helyen „fogadják”. Idegen szóval ezt a fogadó fehérjét vagy fehérjekomplexet *receptornak*(!) nevezzük. Amíg a hormon maga nem mindig fehérje, sőt az esetek jelentős többségében nem az (lásd szteránvázas molekulák, kortizol, ösztrogén, tesztoszteron stb.), a receptor mindig fehérje. Ebből következik, hogy a hormonok vizsgálatán kívül a receptorok vizsgálata is tárgya az

endokrin kutatásnak és az endokrin diagnosztikának is. A hormonok molekuláris sajátosságukat illetően három csoportba sorolhatók:

- Módosult aminosavak (pl. tiroxin, adrenalin).
- Peptidek, polipeptidek, fehérjék (pl. tireotrop releasing hormon: TRH, kortikotropin: ACTH, prolaktin).
- Szteroid hormonok.

A HORMONOK FUNKCIÓI

Az összes számba vehető, ismert hormon funkcióját itt felsorolni lehetetlen, és azért sem illenek ide, mert jelentős hányaduk nem fehérje. A peptid- és fehérjehormonok funkcióit kiemelten ismertetni szintén nem célszerű, mert egy sajátos tudományterület, az endokrinológia tárgykörébe tartoznak és funkcióikat megérteni, megismerni csak az összefüggések ismeretében lehet.

A HORMONOK VIZSGÁLATA FUNKCIÓIK ALAPJÁN

Kezdetben a hormonokat valóban funkcióik alapján vizsgálták. Sok esetben maga a hormon még ismeretlen volt, mégis vizsgálatokat végeztek túléltetett szervekkel vagy állatokon, pl. békákon. Manapság azonban hormonok közvetlen meghatározását végzik kutatási célú vizsgálatoknál, de az egész endokrin diagnosztika terén is. Ma általában még a nem peptid, nem fehérje hormonok meghatározására is elsődlegesen monoklonális ellenanyagokat felhasználó immunológiai módszereket használnak. Természetesen a különböző kromatográfiás eljárások, közülük első helyen a folyadékkromatográfia (HPLC) is a hormonanalitika módszertani arzenáljához tartozik. Lehetséges azonban, hogy a jövőben a tömegspektrometria lesz a hormondiagnosztika elsőszámú módszere.

A sejtnövekedést befolyásoló fehérjék, peptidek, a sejtnövekedési faktorok, a biológiai válaszmódosítók („biological response modifiers”)

Mára ez a csoport óriásira duzzadt fehérje-, peptidcsoportot jelent. Kétségtelenül ez a fehérjecsoport átfedésbe került a hormonokkal, pl. az inzulint felisme-

rése, izolálása, szekvenálása és terápiás felhasználása óta több évtizeden át a hormonok közé sorolták, manapság viszont egyre több alkalommal sejtnövekedési faktorként említik.

TÖRTÉNETI ÁTTEKINTÉS

A *biológiai válaszmódosító anyagok* (biological response modifiers) összefoglaló elnevezés bevezetése a hetvenes évek közepére tehető, ez fejezi ki leginkább az ide sorolt kis molekulatömegű fehérjék, peptidek szerepét. A *sejtnövekedési faktor* elnevezés ettől eltérő anyagokra vonatkozik, kutatásuk a sejtbiológia újabb, gyorsan bővülő területét adja. Így ma az összefoglaló elnevezés helyett az egyes molekulák külön vizsgálata és csoportosítása a gyakorlat, mint pl. citokinek, limfokinek, interleukinek, interferonok, transzformáló faktorok stb. Stimulálónak hatott a sejtnövekedési faktor kutatásra, hogy 1986-ban az élettani-orvosi Nobel-díjat STANLEY COHEN és RITA LEVI-MONTALCINI kapta sejtnövekedési faktor kutatásért. Mivel jelenleg az inzulint, az 51 aminosavból álló kettős láncú peptidet is a sejtnövekedési faktorok közé sorolják, itt említendő, hogy ez volt az első fehérje, peptid, amit szekvenáltak, és aki ezt tette nem más, mint a kétszeres Nobel-díjas FREDERICK SANGER (1918–). Az inzulin szekvenálásáért 1958-ban, a DNS-szekvenálás módszeréért 1980-ban kapott Nobel-díjat.

A SEJTNÖVEKEDÉSI FAKTOROK, A „BIOLÓGIAI VÁLASZMÓDOSÍTÓK” MOLEKULÁRIS SAJÁTOSÁGAI

A közös tulajdonságuk, hogy peptidek, kis molekulatömegű fehérjék. Sejteket ismernek fel, vagyis szerepet játszanak a sejtek differenciálódásában. Itt is lehet beszélni speciális kötőhelyekről, kötőfehérjéről, fehérjekomplexekről, vagyis receptorokról. Annak demonstrálására, hogy milyen szerteágazó molekulacsaládról van szó és mennyire az érdeklődés középpontjában vannak diagnosztikai, sőt terápiás felhasználási lehetőségeik miatt, az emberi szervezetben fellelhető biológiai válaszmódosító peptidek, sejtnövekedési faktorok nem teljes, angol nyelvű felsorolását illesztjük ide be:

- Epidermal growth factor (EGF)
- Erythropoietin (EPO)

- Fibroblast growth factor (FGF)
- Granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF)
- Granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF)
- Growth differentiation factor-9 (GDF9)
- Hepatocyte growth factor (HGF)
- Hepatoma-derived growth factor (HDGF)
- Insulin-like growth factor (IGF)
- migration-stimulating factor
- Myostatin (GDF-8)
- Nerve growth factor (NGF) and other neurotrophins
- Platelet-derived growth factor (PDGF)
- Thrombopoietin (TPO)
- Transforming growth factor alpha (TGF- α)
- Transforming growth factor beta (TGF- β)
- Tumour necrosis factor alpha (TNF- α)
- Vascular endothelial growth factor (VEGF)
- Wnt Signaling Pathway
- placental growth factor (PIGF)
- Foetal Bovine Somatotrophin (FBS)
- IL-1- Cofactor for IL-3 and IL-6. Activates T cells
- IL-2- T-cell growth factor. Stimulates IL-1 synthesis. Activates B-cells and NK cells
- IL-3- Stimulates production of all non-lymphoid cells
- IL-4- Growth factor for activated B cells, resting T cells and mast cells
- IL-5- Induces differentiation of activated B cells and eosinophils
- IL-6- Stimulates Ig synthesis. Growth factor for plasma cells
- IL-7- Growth factor for pre-B cells
- Adrenomedullin (AM)
- Autocrine motility factor
- Bone morphogenetic proteins (BMPs)

A SEJTNÖVEKEDÉSI FAKTOROK, A „BIOLÓGIAI VÁLASZMÓDOSÍTÓK” FUNKCIÓI

Általában a funkció a névből kikövetkeztethető. Részletezésükre itt nem kerülhet sor, de nem is lenne célszerű.

A SEJTNÖVEKEDÉSI FAKTOROK, A „BIOLÓGIAI VÁLASZMÓDOSÍTÓK” VIZSGÁLATA FUNKCIÓIK ALAPJÁN

Vérplazmabeli, ill. szövetváladékbeli koncentrációjuk meghatározását szinte kizárólag monoklonális ellenanyagok felhasználásával végzik.

Extracelluláris szerkezeti elemek

Az emberi szervezetben fellelhető összes fehérjét funkcióik alapján 10 csoportba soroltuk. Minden csoportnál el lehetett volna mondani, hogy nagyon sokféle fehérje tartozik oda, és éppen a funkcióik lényegének ismerete, a mechanizmus, ahogy hatásukat az élő szervezeten belül kifejtik, mélységében kevésbé vagy egyáltalán nem ismert. Mégis a sokszínűsége miatt és a hatásmechanizmus lényegi ismerete tekintetében is ez a fehérjecsoport, amely főként szerkezeti elemként a sejtek felszínén a termelő sejtektől különböző távolságban, az extracelluláris térben funkcionáló fehérjéket fogja össze, a legösszetettebb, funkciójuk mechanizmusát illetően a legkevésbé ismert. A soksejtű élőlényekben, így természetesen az emberi szervezetben is az extracelluláris térben főként szerkezeti elemként funkcionáló fehérjéket a *kötőszövet fehérje-állományaként* kellene, lehetne tárgyalni. Döntően ezt is fogjuk követni, de itt kell, itt lehet arra utalni, hogy a sejtek „társadalom”-formálódása, a sejt differenciálódás szempontjából a fő meghatározó a sejtekből kinyúló fehérjék szövedéke, az ún. *extracelluláris fehérje mátrix*. A *sejtek differenciálódását meghatározó „hely”* (HANS SPEMANN definíciója, amiért 1935-ben az orvosi-élettani Nobel-díjat kapta), újabb nevén „*niche*” ugyanis csak a sejtekből kinyúló fehérjék összessége, az ún. „extracelluláris mátrix” lehet. Ma, amikor az őssejt (stem cell) terápia ennyire az érdeklődés előterébe került, a „hely” ismerete, amelyet az adott helyen élő sejtek felszínén lévő, a sejtekből kinyúló extracelluláris fehérjék „differenciációs szignálja” jelent, szintén sok-sok további, mélyebb kutatómunkát követel. A kötőszövetrost fehérjeinek és alapállományának rövid ismertetésén kívül a fibrinogén-fibrin átalakulás is ide kerül, már csak azért is, mert a szövettudomány (hisztológia) világában a vért is a kötőszövethez sorol-

ják, mint „folyékony kötőszövet”-et. Végül a mucin, a nyákfehérjék csoportja is itt kerül említésre, mint az extracelluláris térben, bizonyos hámsejtek felszínén elhelyezkedő, általuk termelt, többrétű funkciót betöltő tömeges fehérje.

TÖRTÉNETI ÁTTEKINTÉS

Egy ilyen szerteágazó fehérjecsoporthoz tartozó tudásunk, ismereteink teljes történeti áttekintése lehetetlen, csak külön-külön lehetne ezeket ismertetni. Csak példaként vegyük a kollagénrostokhoz tartozó ismereteink történetét. A neve görög eredetű, kolla = ragasztó. Már az egyiptomiak 4000 évvel ezelőtt is állítottak elő maguknak „zselatint”, ragasztót állatok bőrének megfőzésével! Ezt tették az amerikai indiánok is, úgy 1500 évvel ezelőtt. A kollagénrostok szerkezetkutatása azonban csak a harmincas-negyvenes években kezdődött. Először a polarizációs mikroszkóp, majd az elektronmikroszkóp és manapság az atomerőmikroszkóp mint a legmodernebb szerkezetkutatási eszköz használatos a különböző rostok finomszerkezetének mélyebb megismerésére. A rostok és az alapállomány kémiai összetételére irányuló kutatások az egész XX. századon át mind a mai napig egyre fokozódó intenzitással folytak, folynak.

AZ EXTRACELLULÁRIS, FŐKÉNT SZERKEZETI ELEMKÉNT FUNKCIONÁLÓ FEHÉRJÉK MOLEKULÁRIS SAJÁTOSSÁGAI

Fehérjerostok

Általánosságban a kötőszövetben, az extracelluláris térben háromféle fehérjerostot különítünk el:

- Kollagénrostok.
- Elasztikus rostok.
- Rácsrostok.

Kollagénrostok

Mára az emberi szervezetben 29 fajta kollagénrostot különítünk el. A testünket felépítő 9–12 kg teljes fehérjetartalom 25–35%-a kollagén. A 29 rostfélésegből, az I. típusú kollagén teszi ki az összkollagén 90%-át, tehát messze ebből van a legtöbb. Ezért a kollagénrostok élő szervezeten belüli „gyártásának” menetét képződésének rövid áttekintésével célszerű bemutatni. A kollagén „gyártásának” két fázisa van:

sejten belüli (a különböző fibroblastokban) és sejten kívüli fázis.

- Sejten (fibroblaston) belüli folyamat:
 1. A transláció során a riboszómákon két peptidlánc, az α_1 és α_2 lánc szintetizálódik. Ezeket a peptidláncokat nevezzük preprokollagénnek.
 2. Az ún. szignálpeptid lehasítása után kialakulnak az ún. pro- α -láncok.
 3. A lizin és prolin aminosav a láncon belül hidroxilálódik. Ez a lépés C-vitamin-függő.
 4. A következő lépés a hidroxilizin glikozilációja.
 5. Két α_1 -láncból és egy α_2 -láncból egy hármas, helikális szerkezetű egység alakul ki.
 6. A hármas helikális prokollagén a Golgi-apparátusban további láncokkal „csomagga” alakul, amely exocitózis mechanizmus révén kijut a sejtből.
- Sejten kívüli átalakulások:
 1. A prokollagén-peptidáz enzim hatására az ún. regisztrációs peptidek lehasítása után tropokollagén jön létre.
 2. Több tropokollagénmolekula a lizil-oxidáz enzim hatására, amely a hidroxilizin- és lizinmolekulákat kapcsolja össze, kialakítja a kollagénfibrillumokat, majd ezek kollagénrostokká állnak össze.
 3. A kollagénrostok a sejtekhez, a sejtek felszínéhez számos fehérjével vannak összekapcsolva. Ilyen pl. a fibronectin és az integrin.

A különböző kötőszöveteken belül a háromféle rostot, (a kollagén-, az elasztikus és a rácsrostokat) sajátos alapállomány, a „ground substance” veszi körül. Ez az alapállomány a legfőbb összetevője alapján *proteoglikán állománynak*, más szóval mukoproteinállománynak nevezhető. Benne módosult poliszacharidok, glükózaminoglikán-molekulák kovalens kötésekkel kapcsolódnak a vázfehérjékhez, gyakorlatilag a rostokhoz. Az alapállomány felépítésében főbb szerepet játszó módosult poliszacharidok, glükózaminoglikánok a következők: hialuronsav, dermatán-szulfát, kondroitin-szulfát, heparin, heparán-szulfát és keratan-szulfát.

Elasztikus rostok

Ezek fehérjealegysége az *elasztin*, az *elaunin* és az *oxitalan* fehérje. A fibroblastokban és bizonyos mértékben a simaizomsejtekben termelődnek. Mint

ahogy a kollagénrostok képződésének, ugyanúgy az elasztikus rostokénak is van sejten belüli és sejten kívüli fázisa. A képződés első fázisa a sejten belül zajlik az elasztin mikrofibrillinumok kialakításáig, amelyben több fehérje is részt vesz, mint pl. a fibrillin, a fibulin és az elasztinreceptor fehérje. Az amorf elasztinból a sejteken kívül keresztkötések sokaságának kialakulása után jön létre az elasztinváz, az elasztikus rostok struktúrája. Az elasztikus rostok szinte minden szervben, minden kötőszöveti állományban előfordulnak. Ezek a rugalmasság biztosítékai.

Rácsrostok

A rácsrostok kollagénrostok. Úgy is lehet mondani, hogy a sejtek közelében, felszínén fellelhető finom kollagénrostok hálózata.

Fibrinogén–fibrin

A fibrinogén–fibrin fehérjerendszer külön sajátos helyet foglal el az extracelluláris szerkezeti elemként funkcionáló fehérjék csoportjában. A fibrinogén nagy molekulatömegű (340 kDa) glikoprotein, amely három pár fehérjeláncból (α , β , γ) épül fel, és a májsejtekben (hepatocyták), ill. a megakaryocytákban termelődik. Normál tartománya a vérplazmában meglehetősen széles, 1,5–4,0 g/l, amely függ a választott módszertől (leggyakrabban a Clauss-módszer). A szervezetet érő különböző hatásokra, pl. fertőzésekben a fibrinogén plazmakoncentrációja nagymértékben emelkedni tud. Ezért az *akut fázis fehérjék* csoportjába lett besorolva. A protrombinból keletkező aktív szérumpoteáz, a trombin hatására peptidek hasadnak le a fibrinogénról, majd a maradék többlépcsős polimerizáció és keresztkötések után fibrinhálóvá alakul. A fibrin a megsebzett erek mechanikai „eltömeszelésének” hatékony váza. A fibrinháló fizikai állapotváltozásában, kontrakciójában a hálóba bekerült, felnyílt vérlemezkéknek (thrombocytáknak) fontos szerepük van.

Mucin

A mucinok az extracelluláris térben szerkezeti elemként funkcionáló fehérjék csoportjában sajátos helyet töltenek be. Az epithelialis sejtek termelik. Óriás méretűek és nagyon sok szénhidrát-molekulát tartalmaznak. A mucinok különböző konzisztenciájú gélt képeznek az őket termelő epithelialis sejtek felszínén. A mucin alapszerkezetét adó peptidláncok

mindkét végüknél, azaz a C- és az N-terminálisnál is glikoziláltak. Gazdagok cisztein aminosavban, ami lehetővé teszi, hogy a mucin monomerek diszulfidhidakkal egymáshoz kapcsolódjanak. A mucin monomerek középső része gazdag szerin és treonin aminosavban. Ide bőségesen O-kötött és N-kötött oligoszacharidok halmozódnak fel. Tehát a mucin monomerek génjei az epithelialis sejtek szintetikus apparátusával olyan peptideket termelnek, amelyek a poszttranszlációs módosulások során extrém módon glikozilálódnak, extrém módon kötnek meg szénhidrát monomereket, oligomereket és polimereket. A nagymennyiségű szénhidrát rendkívüli méretűre emeli ezeknek a mucin molekulakomplexeknek a vízkötő képességét. A szénhidrátok egyben megvédik a peptidláncokat a proteolitikus degradációtól. Az epithelialis sejtekből óriás mucinaggregátumok kerülnek ki a sejtek felszínére, amelyek molekulatömege 1–10 millió Da.

AZ EXTRACELLULÁRIS SZERKEZETI FEHÉRJÉK FUNKCIÓI

A kötőszövet – mint a szervezetünket felépítő negyedik szövetféleség – nagyon sokrétű elhelyezkedésében és funkciójában egyaránt. Általános funkciója a szervek elkülönítése, funkciójuk összehangolása. A kötőszövet sejtjei sajátos fehérjéket termelnek és juttatnak ki az extracelluláris térbe, amelyek ott egyrészt rosttá, másrészt sajátos alapállománnyá formálódnak. Az egyes szövetekben a rostok és a speciális alapállomány sokrétű funkcióinak puszt felsorolása is meghaladja ennek a fejezetnek a keretét, és helyesebb is róluk a szervek funkcióit tárgyaló élettan tantárgy keretében tanulni.

AZ EXTRACELLULÁRIS SZERKEZETI FEHÉRJÉK VIZSGÁLATA

Az extracelluláris fehérjerostok és az alapállomány vizsgálata a *hisztológia*, ill. *hisztopatológia* körébe tartozik, vagyis különböző mikroszkópos technikákkal végzik. Kétségtelen, hogy a polarizációs mikroszkópos technika jelentős szerepet játszott a rostfehérjék szerkezeti kutatásában. Feltétlenül meg kell említeni, hogy a festésekkel kombinált polarizációs mikroszkó-

pos módszerek kidolgozásában és általuk a rostszerkezet-kutatásban Pécssett ROMHÁNYI GYÖRGYNEK és munkatársainak kiemelkedő szerepe volt. A mucinok vizsgálata is a hisztológia, ill. hisztopatológia körébe tartozik, csupán a fibrinogén plazmakoncentrációjának meghatározása és a fibrinogén-fibrin átalakulás folyamatos követése, a *trombelasztográfia* tartozik a klinikai biokémia, a laboratóriumi medicina tárgykörébe.

Raktárak

A fehérjék mint raktárak bizonyára sokkal szélesebb és mélyebb szerepet töltenek be az élőlényekben és természetesen az emberi szervezetben is, mint amit eddig megismertünk e szerepükről. Bizonyosan van raktárak a szénhidrátoknak, a zsíroknak, az aminosavaknak és a különböző anorganikus elemeknek. A raktárak pedig nem lehetnek mások, mint fehérjék, fehérjerendszerek. Itt csak egy raktárfehérje, a vasat (Fe^{3+}) az élő sejteken belül raktározó *ferritin* tárgyalására kerül sor. Ez az a raktározó fehérje, amit a jelek szerint eddig legjobban megismertünk. Ugyanakkor csak végiggondolásra utalok a kalcium (Ca) sokrétű, bonyolult raktározására, a csontokra. Az emberi testben jó megközelítéssel átlagosan 1 kg kalcium (Ca) van, amelynek döntő hányada, 99%-a a csontokban van dinamikusan „raktározva”. Ez a „raktár” extracelluláris, mégis a sejtek – osteoblastok, osteoclastok, osteocyták – vezérlik a Ca^{2+} felhalmozását vagy kiszabadulását kis peptidek (parathormon, kalcitonin, oszteokalcin) „parancsára” a mátrixfehérjék „közreműködésével”. A kalciumraktárt részletesen nem ismertetjük itt, már csak azért sem, mert „csontmetabolizmus” címen az élettan és a kórélettan egy-egy fejezetéhez tartozik.

TÖRTÉNETI ÁTTEKINTÉS

Azok számára, akik a ferritinnel kapcsolatos kutatási eredményekről, a felismerések időrendi sorrendjéről és a felfedezőkről alaposabb ismeretekre vágyanak, az itt idézett összefoglaló közleményben találnak részleteket [8].

A RAKTÁRFEHÉRJÉK MOLEKULÁRIS SAJÁTOSSÁGAI

Mivel itt most a raktárfehérjék egyetlen fehérje, a ferritin példáján kerülnek bemutatásra, csak ennek a molekuláris sajátosságait ismertetjük röviden. A ferritin nagy, 450 kDa molekulatömegű összetett globuláris fehérje. A ma létező összes élő szervezetben, a prokarióta egysejtűekben, baktériumokban épp úgy, mint a soksejtű növények és állatok sejteiben szintetizálódik, jelen van. Minden molekula 24 alegységből, 21 kDa nehézláncú vagy/és 19 kDa könnyűláncú peptidből épül fel. A 24 peptidlánc gömbszerű struktúrát képez, amelynek belsejében üregek, csatornák vannak a foszfátionokkal és a hidroxidionokkal kristályt képező Fe^{3+} -ionok számára. Egy ferritinkomplex 4500 (Fe^{3+})-iont képes dinamikusan tárolni. A vas nélküli ferritinmolekulát apoferritinnek nevezzük. Az emberi vérplazmában, ill. vérszérumban is van ferritin, amely kevés vasat (a maximális telítettség 10–12%-át) tartalmaz, és főleg könnyűláncokból épül fel.

A RAKTÁRFEHÉRJÉK FUNKCIÓI

Nyilvánvalóan minden raktárfehérjének az a funkciója, hogy amit raktároz, szükség esetén funkcionális felhasználásra kerüljön. Ebből következik, hogy a „raktárból” a felhasználás helyére juttatáshoz „szállítómechanizmusra” van szükség. Ennek az állításnak különösen igaznak kell lenni olyan elemek, atomok, molekulák esetében, amelyek szabadon toxikusak, mérgezők. A vas ilyen! A szabad vasion Fe^{3+} vagy Fe^{2+} formában toxikus az életfolyamatokra. Nincs is szabad vas az élőlényekben. Az emberi testben, szervezetben sincs, se a sejteken belül, se az extracelluláris térben. Így természetesen a vérplazmában sem. A raktárak és a felhasználás helye közt a transzportot, a szállítást csak fehérjék végezhetik és végzik is. Ebből fakad, hogy a raktározás és a transzport, a szállítás összekapcsolt. A raktár és a szállítófehérjék tehát egymásra utaltak, közös rendszert képeznek. A vasanyagcsere jó bizonyíték erre. Úgy számolunk, hogy a 70 kg-os emberi testben 4 g anorganikus vas van. A szervezetünkben lévő összes vasnak 65–70%-a a vörösvérsejtekben, a hemoglobinban van. Mintegy 25%

a vasraktárakban, vagyis a ferritin molekulakomplexekben, 5–10% a többi hemfehérjében (pl. mioglobin és a citokróom fehérjékben) van. A „hivatalos” vasszállító fehérjéhez, a transzferrinhez kötötten csak a teljes vas 0,1–0,2%-a van. Ami a raktárakat, a ferritin fehérjekomplexet illeti, azt kell világosan tudnunk, hogy a testünket felépítő összes sejtünkben, tehát mind a 10^{14} sejtben, sőt a saját sejtjeinkkel szimbiózisban élő, hasonló számú (10^{14}) prokarióta sejtben, a belünkben, a nyálkahártyáinkon élő baktériumsejtben is szintetizálódik, jelen van a ferritin, a dinamikus vasraktár. A vas sejt felszíni „fogadására” és sejtben belüli transzportjára sajátos fehérjék vannak, mint a vas-reduktáz, a kétértékű fém transzporter, a ferroportin és a kis molekulatömegű hepcidin. Még azt kell tudni, hogy a vékonybél nyálkahártyasejtjeiben lévő ferritin a sejtben belüli „fogadó” és szállítófehérjékkel „védőzsziprendszerként” és „továbbpostázóként” működik. A szükségletnek megfelelően „enged be” a szervezetbe vasat. Ugyan minden sejtünkben van ferritin vasraktár, mégis bizonyos sejtben, mint pl. a májsejt, a lép és a csontvelő bizonyos sejtjeiben messze több ferritin van, mint a többi sejtben. Ezért úgy szoktuk tekinteni, hogy a máj, a lép és a csontvelő a vasraktározás fő szervei. Abban az esetben, amikor a ferritin túlhalmozódik, aggregálódhat, és bizonyos macrophag sejtben felhalmozódhat. Ezt a felhalmozódott fehérje-vas aggregátumot *hemosziderinnek* nevezzük. Az ilyen aggregátumból, tehát a hemosziderinből a vas felszabadulása nehéz, vagyis a hemosziderinné aggregálódott ferritin elveszti dinamikus „vaskínáló” képességét. Egy bizonyos örökletes betegségben, a haemochromatosisban kóros mértékben szaporodik fel a hemosziderin.

A FEHÉRJERAKTÁRAK FUNKCIÓIRA IRÁNYULÓ VIZSGÁLATOK

A ferritin, a 24 peptidláncból (főleg könnyűláncból: L) felépült 450 kDa nagyságú óriás molekulakomplex szabadon jelen van a vérplazmában. Igaz, ebben az „úszó” vasraktárban az „apoferritin” nincs telepakolva. A lehetséges 4500 vas (Fe^{3+}) atom helyett kevesebb mint 10–12% van a plazma ferritinben. Monoklonális ellenanyagot használva a plazma ferritinkoncentrációját nagyon pontosan mérni tudjuk. A koncentrá-

ciótartomány széles, férfiakat és nőket közösen véve: 15–300 $\mu\text{g/l}$. 50 $\mu\text{g/l}$ alatti érték figyelmet érdemel, hiszen jól jelzi a vasraktárak állapotát. Csökkent értékeket mérünk vashiányos anémia esetén, de alultápláltság, hypothyreosis, C-vitamin-hiány esetén és fertőző betegségek után is. Emelkedett értékeket találunk viszont haemochromatosisban és porphyriákban, de mivel a ferritin akut fázis fehérje is, megtevesztően emelkedett értékeket lehet mérni fertőzések, különböző betegségek akut fázisában is.

Transzportőrök (szállítófehérjék)

Rendkívül nagy fehérjecsalád ez is! Érdemes és kell is, hogy két csoportra osszuk:

- Sejtben belüli szállítófehérjék.
- Sejtben kívüli szállítók.

Ugyanakkor aszerint is célszerű két csoportra osztani, hogy fehérjét szállítanak-e vagy mást. A sejtben belüli „fehérjeszállítás” koncepciója és kutatása új keletű, alig néhány évtizedre tehető. Külön neve van a fehérjeszállító fehérjéknek, ezek a „*chaperonok*”. A chaperon francia eredetű, angolba is átvett szó, jelentése „gardedám”, vagyis az a személy, aki a fiatal lányokat régen a bálba elkísérte. Az élő sejtben belül ugyanis nagy kérdés, hogy a szintézis helyéről a peptidláncok hogyan kerülnek az „összeszerelő műhelyekbe”, ill. az egyes organellumokba, a funkció helyére, az egyes kompartmentekbe. A *citoszol* elnevezés azt sugallja, hogy a képződött peptidek szabadon diffundálnak, „keresgélnek” a párjukat vagy a helyüket. Ez nincs így! Nincs rá idő se! Tehát az alapgondolat bizonyosságot eredményezett, nagy családja van a sejtben belül az olyan fehérjéknek, amelyek „karonfogva elkísérik”, vagy „elcipelik” nagy gyorsasággal a peptideket, a fehérjéket ahová kell. Ezek tehát a chaperonok. Közéjük tartoznak pl. a különböző „hősokkfehérjék”. A sejtben belüli transzportfehérjék koncepcionálisan olyanok is lehetnek, amelyek valamit transzportálnak, de nem mozdulnak el a helyükről. Ilyenek az elektront (e^-) transzportáló *citokrómok*. Az előző részben utaltunk arra, hogy a raktárfehérjék és a szállítófehérjék funkcionálisan általában össze vannak kapcsolva. Ugyanez elmondható a szállítófehérjék és a következő csoportba sorolt ligandumfehérjék összekapcsoltságáról

is. A globin pl. ligandumfehérje, a „hem” a liganduma. Viszont szállító, az egyik legfontosabb szállító a szervezetünkben, hiszen a minden sejtünk számára nélkülözhetetlen oxigént szállítja.

TÖRTÉNETI ÁTTEKINTÉS

A szállítófehérjéről, a kutatásukról, a hozzájuk tartozó felfedezésekről időrendi sorrendben számot adni teljességgel lehetetlen. Ha egyet, pl. az extracelluláris tér, a vérplazma fontos szállítórendszerét, a lipoproteineket kiválasztjuk, annyit leszögezhetünk, hogy felfedezésük, leírásuk az ultracentrifuga kifejlesztéséhez, alkalmazásához kapcsolt. Így THEODOR SVEDBERG (1884–1971) munkásságának meghatározó szerepe volt benne, aki kémiai Nobel-díjat is kapott 1926-ban a makromolekulák, molekulakomplexek kutatásáért, az ultracentrifuga kifejlesztéséért. Azt is lehetetlen lenne kinyomozni, hogy az albuminról ki bizonyította be először, hogy a vérünk univerzális „szállítómunkása”. Szállítja a toxikus, még nem konjugált bilirubint, a zsírsavakat, a rengeteg gyógyszert, idegen molekulát, de, hogy ki, mikor bizonyította be ezeket, nemigen tudjuk és nehéz is lenne, de felesleges is kinyomozni.

A TRANSPORTÓRÖK, A SZÁLLÍTÓFEHÉRJÉK MOLEKULÁRIS SAJÁTOSSÁGAI

A transzportfehérjék általánosan globuláris fehérjék, fehérjekomplexek, amelyek külső felszínén „vízszeretők”, hidrofílek, míg a belsejükben hidrofób „üregek” lehetnek.

Molekuláris felépítettségét, sajátosságát tekintve egyértelműen különös molekula a *hemoglobin* és az izmokban az oxigén „helyre” szállítását biztosító *mioglobin*. A mioglobinban egy globin (151 aminosavból álló fehérje) és egy hem van. A hemoglobinban 4 globin és négy hem, 4 oxigénmolekula (O_2) szállítására. A hemoglobin molekulatömege tehát 64 500 dalton.

A már említett *lipoproteinek* felépítése is rendkívül bonyolult, rendkívül összetett. A lipoproteineket felépítő fehérjéket közös néven apolipoproteineknek nevezzük. Számuk ma már meghaladja a százat. Az egyes apolipoproteineket lehet az ellenük termelt monoklonális ellenanyagokkal vizsgálni.

Az anorganikus elemek, pl. a Ca^{2+} és a Mg^{2+} nem specifikus szállítója az *albumin*, melynek „szállítókedve” érzékenyen függ a plazma-pH-tól. Ha emelkedik a pH, vagyis alkalózis felé tolódik el, növekszik az albumin Ca^{2+} -kötő képessége, ami izomgörcsöt, tetaniát is eredményezhet. A kisebb koncentrációban jelen lévő szerves elemeknek, a ritkafémeknek speciális szállítójuk van. Ilyen speciális szállító pl. a 70 kDa nagyságú transzferrin a vas vagy a cöruloplazmin a réz szállítására stb.

A TRANSPORTEREK, A SZÁLLÍTÓFEHÉRJÉK FUNKCIÓI

Nyilvánvaló, hogy a funkciójuk a szállítás. Külön részletezésre itt semmi indok nincs. Egy biztos, szer-teágazó funkció, és sok kutatásra váró feladat van itt.

A TRANSPORTFEHÉRJÉK AZONOSÍTÁSA FUNKCIÓIK ALAPJÁN

A fehérje által szállított atom vagy molekula alkalmas és a gyakorlatban valóban fel is használt magának a szállítófehérjének azonosítására. Különösen jól alkalmazható ez a fehérjék elektroforetikus elválasztása után, ha az elektroforetikus szeparálás során a fehérjéről nem válik le, amit szállít. Ekkor a szállított anyag detektálása a szállítófehérjét is jelöli. Erre nagyon jó példa a lipoid-elektroforézis. A szérumfehérjék elektroforetikus elválasztása után lipoidfestést alkalmazunk, és a lipoproteineket 4 frakcióban ismerhetjük fel: α (HDL), β , pre- β (LDL ÉS VLDL) és kilomikron. Ezek relatív „mennyiségi” összevetése hasznos diagnosztikai szempontból.

Ligandumok

Fehérjeligandumok, ligandumfehérjék egyet jelentenek: fehérjéket, amelyekhez valami kapcsolódik. Ebből adódik, hogy nincs messze az igazságtól az az állítás, hogy az élő sejtekből kivett vagy fiziológiás úton kijutott fehérjék többsége nem csak egyszerű polimerje az aminosavaknak, hanem módosultak, valami kapcsolódik hozzájuk, tehát ligandumfehérjék. A peptidszintézis, a transláció utáni módosulásokat közös néven *poszttranszlációs módosulásoknak*

nevezzük. Ezek többségében valami kapcsolódik a peptidlánchoz. Ligandum (kapcsolt anyag) lesz része a fehérjéknek. Így pl., ha cukormolekulák, monosacharidok kapcsolódnak abból a célból(?), hogy vízben jobban oldottak legyenek, mint ahogy a vérplazmába került fehérjék esetében így van, a ligandumfehérjéknek glikoprotein lesz a nevük. Ha fémek kapcsolódnak, akkor metalloproteinek, ha lipoidok, akkor lipoproteinek. Ligandumfehérje a K-vitamin-dependens módon γ -karboxileződött protrombinmolekula is. A fehérjékhez atomok, molekulák kapcsolódása azonban nem csak sejten belül, intracellulárisan következhet be, hanem sejten kívül is. Különböző fehérjékhez, „receptorfehérjékhez” bizonyos molekulák, potenciális gyógyszermolekulák kapcsolódásának kutatása az egész világon fejlett módszerekkel, fejlett számítógépes technikákkal intenzíven folyik. Néhány módszer, amelyet ma a ligandumkutatásban alkalmaznak: Raman-spektroszkópia, fluoreszcens spektroszkópia, cirkuláris dikroizmus, magmágneses rezonancia spektroszkópia, tömegspektrometria, atomerő-mikroszkópia, kettős polarizációs interferometria, a paramágnesesség vizsgálata stb.

Esszenciális táplálékok

Ezek a fehérjék csak azért kerültek ide, a felsorolás végére, hogy alázatra figyelmeztessenek. Az emberi test fehérjéi 20 aminosavból épülnek fel. Ebből kilencet a testünket felépítő 10^{14} saját sejtünk nem tud elő-

állítani. A táplálékokkal kell megkapnunk. Ha csak egyszerűen kimondjuk, hogy 9 esszenciális aminosav van, nem fogjuk fel eléggé az újabb bizonyítékokat arra, hogy az életünk más élőlényektől függ. A fától, a zöld növényektől függ, hogy van-e oxigén, védő ózonpajzs a Föld körül, van-e tiszta levegő és tiszta vizünk. Itt azt is fel kell fogunk, hogy az, hogy az életünket jelentő fehérjeink legyenek, más élőlények lététől függ. Minden tanulás végén alázattal azt kell megértenünk és elfogadnunk, hogy tisztelnünk, védenünk kell az élővilágot.

IRODALOM

- [1] SZENT-GYÖRGYI, A. (ed.): Studies from Institute of Medical Chemistry, Univ. Szeged. Vol. 1., S. Karger, AG., Basel, 1942.
- [2] KÜHNE, W.: Untersuchungen über das Protolazma und die Contractilität. W. Engelmann, Leipzig, 1864.
- [3] ENGELHARDT, W. A., LYUBIMOVA, M. N.: Myosin and adenosin triphosphatase. *Nature* 144:668–669, 1939.
- [4] HUXLEY, A. F., NIDERGERKE, R., HUXLEY, H., HANSON, J.: Sliding filament hypothesis. *Nature* 173:4412, May, 1954.
- [5] KELLERMAYER, M., JOBST, K.: Cytoplasmic protein network in HeLa cells. *Histochemistry* 44:193–195, 1975.
- [6] KÜHNE, W.: Untersuchungen über das Protoplasma und die Contractilität. W. Engelmann, Leipzig, 1864.
- [7] RADZICKA, A., WOLFENDEN, R.: *Science* 6:267, 931, 1995.
- [8] THEIL, E.: Ferritin: Structure, gene regulation, and cellular function in animals, plants and microorganisms. *Annual Review of Biochemistry* 56:289–315, 1987.

