

BIOLÓGIA II.

Jegyzet az I. éves gyógyszerészhallgatók számára

DEBRECENI EGYETEM
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR
HUMÁNGENETIKAI INTÉZET

BIOLÓGIA II.

Jegyzet az I. éves gyógyszerészhallgatók számára

Debreceni Egyetemi Kiadó
Debrecen University Press
2016

Szerzők:

PENYIGE ANDRÁS

SZESZÁK FERENC

Felelős szerkesztők:

DR. SCHLAMMADINGER JÓZSEF

DR. FEHÉR ZSIGMOND

A technikai szerkesztés Szeszák Ferenc munkája.

ISBN 978 963 318 196 6

© Debreceni Egyetemi Kiadó Debrecen University Press,
beleértve az egyetemi hálózaton belüli elektronikus terjesztés jogát is

Kiadta a Debreceni Egyetemi Kiadó Debrecen University Press

Felelős kiadó: Karácsony Gyöngyi

Készült a DE sokszorosítóüzemében, 2016-ban

Tartalomjegyzék

13. SZIGNALIZÁCIÓ	3
A SEJTEK KÖZÖTTI KÉMIAI SZIGNÁLOK KIS ÉS NAGY TÁVOLSÁGBAN IS HATNAK	3
AZ EGYES SEJTEK CSAK KORLÁTOZOTT SZÁMÚ JELRE REAGÁLNAK	6
A RECEPTOROK INTRACELLULÁRIS SZIGNÁL-TOVÁBBÍTÓ RENDSZEREKNEK ADJÁK ÁT A JELET	7
EGYES JELMOLEKULÁK ÁTHATOLNAK A SEJTMEMBRÁNON	9
A NITROGÉN-MONOXID KÉPES BEDIFFUNDÁLNI A SEJTEKBE ÉS KÖZVETLENÜL AKTIVÁL ENZIMEKET	11
A SEJTFELSZÍNI RECEPTOROKNAK HÁROM ALAPTÍPUSA VAN	13
AZ IONCSATORNÁHOZ KAPCSOLT RECEPTOROK ELEKTROMOS JELEKKÉ ALAKÍTJÁK A KÉMIAI SZIGNÁLOKAT	15
A SEJTEN BELÜLI JELTOVÁBBÍTÓ RENDSZER KOMPONENSEI MOLEKULÁRIS KAPCSOLÓKKÉNT MŰKÖDNEK	16
G-FEHÉRJÉKHEZ KAPCSOLT RECEPTOROK	18
G-FEHÉRJÉHEZ KAPCSOLT RECEPTOROK STIMULÁLÁSA G -FEHÉRJE ALÉGYSÉGEK AKTIVÁLÓDÁSÁT OKOZZA	20
A G-FEHÉRJÉK IONCSATORNÁK AKTIVITÁSÁT IS SZABÁLYOZHATJÁK	23
G-FEHÉRJÉK MEMBRÁNHOZ KAPCSOLT ENZIMEKET AKTIVÁLHATNAK	25
A CAMP ENZIMEKET AKTIVÁLHAT ÉS BEFOLYÁSOLJA EGYES GÉNEK ÁTÍRÓDÁSÁT IS	25
A FOSZFOLIPÁZ C AZ INTRACELLULÁRIS Ca^{2+} SZINTET EMELI	31
A Ca^{2+} SZIGNÁL SOK FONTOS BIOLÓGIAI FOLYAMATOT AKTIVÁL A SEJT BEN	33
ENZIMHEZ KAPCSOLT (KATALITIKUS) RECEPTOROK	35
AZ AKTIVÁLT RECEPTOR TIROZIN KINÁZOK KOMPLEXET ALKOTNAK INTRACELLULÁRIS JELTOVÁBBÍTÓ FEHÉRJÉKKEL	36
EGYÉB RECEPTOROK KÖZVETÍTÉSÉVEL HATÓ SZIGNÁL MOLEKULÁK ÉS JELTOVÁBBÍTÓ MECHANIZMUSAIK	41
A PROGRAMOZOTT SEJTHALÁL FOLYAMATÁBAN SEJTEN BELÜLI FEHÉRJEBONTÓ ENZIMEK AKTIVÁLÓDNAK	42
Összefoglalás	47

14. AZ EGYEDFEJLŐDÉS BIOLÓGIÁJA.....	49
DIFFERENCIÁLÓDÁS SEJTSZINTEN.....	49
DIFFERENCIÁLÓDÁS A SOKSEJTŰ SZERVEZET SZINTJÉN	49
A <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> JELENTŐSÉGE.....	50
AZ EMBRIONÁLIS FEJLŐDÉS FŐ ÁLLOMÁSAI, ÉS AZOK SZABÁLYOZÓ GÉNJEI:	
ANYAI GÉNEK, ZIGOTIKUS GÉNEK, HOMEOTIKUS GÉNEK.....	51
A PETÉK KÉTFÉLE TÍPUSA.....	53
HOMEODOMÉN ÉS HOMEODOMÉN.....	56
HOX GÉN MUTÁCIÓ EMBEREN.....	61
Összefoglalás	64
Tárgymutató.....	66

SZIGNALIZÁCIÓ

A többsejtű élőlények nagyszámú, egymástól eltérő, speciális feladatok ellátására differenciálódott sejtből épülnek fel. Ezek az élőlények csak akkor működhetnek optimálisan, ha a különböző szöveteket, szerveket felépítő individuál is sejtek képesek egymással kommunikálni, együttműködni. Képesek koordinálni osztódásukat, növekedésüket, differenciálódásukat, speciális működésüket, azaz egyáltalán sejthalmaz helyett egységes szervezetként működni. Ebben a fejezetben sejtek közötti információcserét, a sejtek közötti kommunikáció mechanizmusait tárgyaljuk meg és azokat a sejten belüli folyamatokat (azaz **jeltovábbítás**), amelyek hozzájárulnak a szignálok hatására kialakuló specifikus sejtválasz kialakulásához.

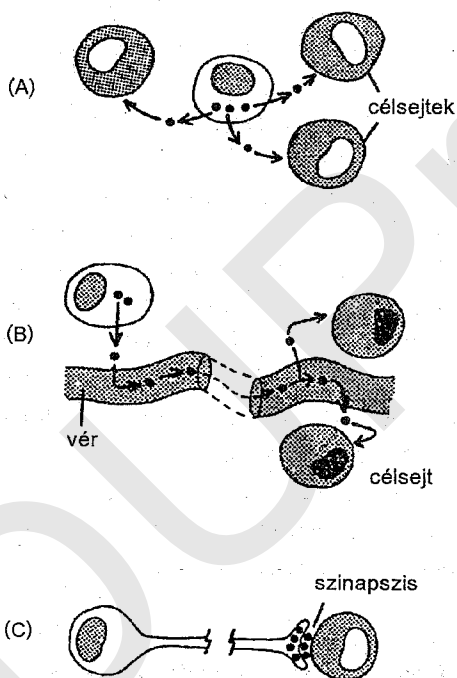
A sejtek között zajló információcsere során használt szignálok, jelek viszonylag egyszerűek. Az egyik sejt – a jeladó – előállít egy jellemző molekulát, és ezt veszi észre, detektálja a másik – a célsejt – receptor molekulái segítségével. A receptor molekula hajtja végre a célsejtben az első reakciót abban a több lépésből álló jeltovábbító folyamatban, amelynek végén az eredetileg extracelluláris szignál intracelluláris, a sejt működését befolyásoló jellé alakul. A sejtek között zajló jeltovábbító folyamat tehát a szignál molekula érzékelését és a jel továbbítását jelenti. Fejezetünk is ennek a két alapvető folyamatnak a lépéseit tárgyalja majd. Rendkívül fontos, az immunrendszerre jellemző szignalizációs folyamatok zajlanak le pl. a szervezet saját-idegen felismerési folyamataiban, a humorális és celluláris immunválasz működése során, de ezekkel – ahogyan sok más specializált jelmechanizmussal – itt most nem foglalkozunk.

A SEJTEK KÖZÖTTI KÉMIAI SZIGNÁLOK KIS ÉS NAGY TÁVOLSÁGBAN IS HATNAK

Egy többsejtű szervezet sejtjei a molekulák százait használják az egymás közötti szignalizáció során – fehérjéket, peptideket, aminosavakat, nukleotidokat, szteránvázas molekulákat, zsírsav származékokat, még

oldott gáz molekulákat is – de magának a jelátviteli folyamatnak csak néhány alapvető típusa létezik.

Az **extracelluláris szignál molekulák segítségével történő sejtek közötti kommunikációt** a jelátviteli molekula hatótávolságának nagysága alapján soroljuk három típusba (13.1. ábra). Az első kategóriába az **endokrin szignalizáció** tartozik, itt a közvetítő molekulák (**hormonok**) többnyire specifikus, ún. belsőelválasztású mirigyekben termelődnek és a vérárammal jutnak el a célsejtekhez. Mivel a szignált kiválasztó és a célsejtek között nagy a távolság, a jelátviteli molekulák kihígulnak a



13.1. ábra. Jelátviteli távoli sejtek között. (A) Parakrin. (B) Endokrin. (C) Szinaptikus jelátviteli.

vérben, a koncentrációjuk relatíve alacsony (pM töménységben hatásosak). A második kategóriába tartozó **parakrin** szignalizáció esetében a szignál molekulát kiválasztó sejt a célsejt közvetlen környezetében van, az **autokrin** szignalizáció esetében pedig önma-

ga a célsejt. Az itt szereplő jelemolekulákat lokális **mediátoroknak** (helyben ható jelátviteli molekuláknak) hívjuk. Ilyen szignál molekulák például a növekedési faktorok, amelyek az egyes sejttípusok osztódását és differenciálódását szabályozzák (nM-os koncentrációtartományban fejtik ki

hatásukat), vagy például a fertőzések környezetében kialakuló gyulladásos folyamatot szabályozó molekulák nagy része is.

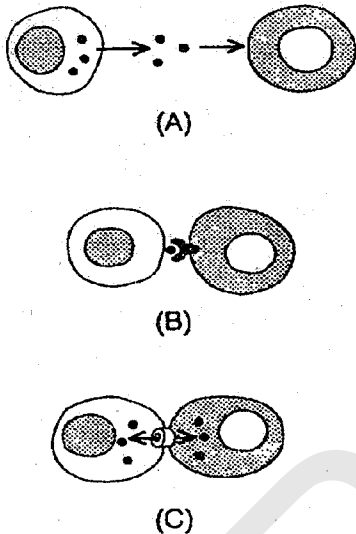
Autokrin szignalizáció figyelhető meg egyes tumor sejtek esetében, ezek a maguk termelte növekedési faktorokra is reagálnak, amelyek ezért korlátlan és szabályozatlan sejtosztódást és tumorképződést váltanak ki.

A sejt-kommunikáció harmadik típusa az **idegi szabályozás**. Akár csak a hormonális szabályozás esetében, az idegi szabályozás során is nagy távolságban hatnak a jelek aminek nagy részét az axonok hidalják át, ez a szignalizáció nagyon gyors. Az idegsejtek specifikus kapcsolatokat, szinapszisokat alakítanak ki a célsejttel. A magasabbrendű élőlényekben specifikus vegyületek, a szinaptikus résbe exocitózissal kiválasztott **neurotranszmitterek** továbbítják a jelet a célsejthez. Annak ellenére, hogy tulajdonképpen itt is parakrin típusú a szignalizáció, ezt mégis külön kategóriába soroljuk, mert ezek a jelátvivő molekulák rendkívül kis távolságban fejtik ki hatásukat, célsejtet csak a szinaptikus rés választja el a jelet átvadó sejttől. Ennek megfelelően ebben a kis térrészben a felgyülemelő neurotranszmitter molekulák koncentrációja eléggé magas lesz (μM -os tartományban).

Mindhárom szignáltranszdukciós típusnak közös jellemzője az, hogy a jelátvivő molekula a célsejt egy rá specifikus kötő fehérjéjéhez, a **receptor**hoz kapcsolódik. Az endokrin és parakrin szignalizációban szereplő receptorokra általában az jellemző, hogy nagy affinitással ($\sim 0,1 \text{ nM}$) kötik a relatíve kis koncentrációban jelenlévő szignál molekulát és a sejtválasz kialakulásának reakcióidejét percekben mérhetjük. A neurotranszmitterek receptorait viszont kisebb affinitás jellemzi ($K_d = 1-100 \text{ nM}$), de a válaszreakció sokkal rövidebb idő, a másodperc törtörésze alatt kialakul.

A sejtek közötti jelátadás negyedik típusa nem használ extracelluláris kiválasztott molekulákat. Ehelyett a jeladó sejt a jel továbbító molekula segítségével közvetlen kapcsolatot alakít ki a célsejt sejtmembránjában lévő receptor molekulával (13.2. ábra). Az üzenet átadását a jeladó sejt plazmamembránjában kihorgonyozott fehérje jelmolekulának (pl. az *integrinek*) a célsejt plazmamembránjában található receptorhoz történő kapcsolódása jelenti. Ez tehát egy, a *sejtek közötti közvetlen kontaktus* kialakulását igénylő szignalizációs folyamat. Az embrió fejlődése során például a kialakuló és differenciálódó idegsejtek ilyen közvetlen sejt-kontaktusok segítségével gátolják meg azt, hogy a szomszéd sejtek is idegsejteké differenciálódjanak. A sejtek közötti közvetlen kapcsolatot igénylő jelátadási típus a gap junkciókat (rés-kapcsolatokat) felhasználó szignalizá-

ció is. A gap junkciók esetén a két érintkező sejt membránjában elhelyezkedő azonos fehérje egységekből (*connexon* molekulák) egy összekapcsolódó, hidrofil csatorna alakul ki, amelyen az egyik sejtől a másikba átdiffundálhatnak kis hidrofil jelátvivő molekulák.



13.2. ábra. Közvetlen szignalizáció háromféle lehetőségének vázlata. (A) Jelátvitel távolabbra, a sejtől kiválasztott molekula révén. (B) Kontakt szignalizáció, sejtmembránhoz kötött molekulák segítségével. (C) Kontakt jelátvitel, rés-sejtkapcsolatok (*gap junction*) révén.

AZ EGYES SEJTEK CSAK KORLÁTOZOTT SZÁMÚ JELRE REAGÁLNAK

Egy többsejtű szervezet tipikus sejtje általában a környezetében jelenlévő szignál molekulák százainak van kitéve. Ezek szabadon diffundálhatnak az extracelluláris folyadékban, de kötődhetnek az extracelluláris mátrix molekuláihoz, vagy sejtek felszínéhez is. A sejtnek azonban szelektíven kell reagálnia a szignálokra, bizonyos molekulákat figyelmen kívül kell hagynia; másokat viszont észre kell, hogy vegyen és saját funkciójától függően specifikusan reagálnia kell ezekre a jelekre.

Az egyes sejtek szignálokra történő reagáló képességét elsősorban az szabja meg, hogy milyen receptor molekulákkal rendelkeznek. Fajlagos receptor hiányában a sejt "süket" bizonyos jelekre és nem képes specifikus választ produkálni. A rendkívül nagyszámú ismert receptor molekula közül az egyes sejtek általában csak néhányat képesek szintetizálni és így csak erősen korlátozott számú jelmolekulát képesek felismerni. De a lehetséges szignálok ezen erősen limitált készlete is komplex módon képes szabá-

lyozni a sejt viselkedését, tulajdonságait. A komplexitást két tényező biztosítja.

Először is egy adott szignál a sejt receptorához kötődve hatások sokaságát képes kiváltani: alakváltozást, mozgást, anyagcsereváltozást, a gén-expresszió megváltozását, osztódást, differenciálódást, programozott sejthalált (apoptózis), néha több folyamat is együttesen változik. Mint látni fogjuk, a jel a receptorról egy vagy több molekula közreműködésével átvezetődik a sejt belsejébe, és ott áttevéődik a specifikus választ létrehozó komponensre. Ennek az intracelluláris jeltovábbító rendszernek (**szignáltranszdukciós rendszer**) és a specifikus választ produkáló rendszernek az összetétele változik a sejtípustól függően. Ezért aztán különböző sejtek ugyanarra a szignálra egészen eltérő válaszokat produkálnak. Például, ha szívizom sejteket acetilkolin hatásának tesszük ki, akkor a sejtek kontrakciója ritkábbá válik. A nyálmirigy sejtei acetilkolin hatására viszont fokozott nyáleválasztásba kezdenek.

A komplexitás másik tényezője az, hogy egy tipikus sejt különböző típusú receptorok kis kollekciójával rendelkezik (többnyire néhány tucattal), de ez azért elegendő ahhoz, hogy a sejt egyidejűleg több szignálra is reagálhasson. Ezek a szignálok együttesen hatva jellemző választ váltanak ki a célsejtben. A különböző jelek továbbítását végző szignáltranszdukciós rendszerek komponensei egymással kölcsönhatásba léphetnek, így az egyik szignál módosíthatja egy másik szignál hatását. Ennek következtében a különböző szignálok kombinációja elősegítheti például a sejtek alapvető fiziológiai folyamatainak szabályozásával a sejtek túlélését az adott körülmények között, a jelek egy másik kombinációja osztódást válthat ki, egy harmadik kombináció viszont differenciálódási folyamatot indíthat el ugyanolyan célsejtekben. Ily módon az erősen korlátozott számú szignál molekulák különböző kombinációi rendkívül komplex szabályozó rendszert alkotnak, lehetővé téve a sejtek működésének precíz regulációját.

A RECEPTOROK INTRACELLULÁRIS SZIGNÁL-TOVÁBBÍTÓ RENDSZEREKNEK ADJÁK ÁT A JELET

A kémiai szignál detektálásának első lépéseként az eredetileg a célsejten kívül keletkezett szignál molekula hozzákötődik annak egy specifikus receptorához, ezt a receptort csak egyfajta szignál aktiválja. A

receptor hajtja végre a szignál transzdukció első lépését, fogadja a jelet, és válaszul átalakítja azt egy új, már sejten belüli jellé. Ez az első lépés, ezt követően egy intracelluláris jeltovábbító folyamat indul el mely során specifikus sorrendben intracelluláris jeltovábbító molekulák aktiválódnak és adják át egymásnak a jelet. A folyamat végén enzimek aktiválódhatnak, gének átírása változhat, vagy a citoszkeleton átrendeződik, azaz specifikus sejtválasz következik be. Ennek a több egymást követő biokémiai reakcióból álló jeltovábbító rendszernek (**szignalizációs kaszkád**) számos lényeges funkciója van:

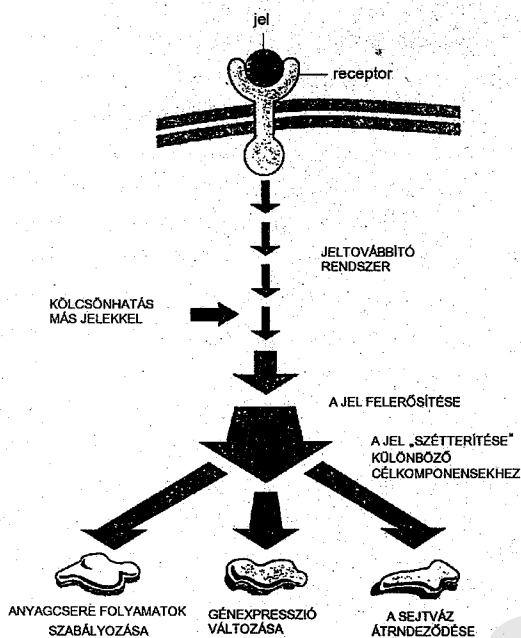
1) Fizikailag elszállítja a jelet a befogadás helyéről a specifikus választ adó sejtkomponenshez, ami gyakran a sejt egy másik kompartmentjében található.

2) Olyan új molekuláris formává alakítja a jelet, ami kiváltja a specifikus választ.

3) A legtöbb esetben a jeltovábbító rendszer felerősíti a jelet. Ennek következtében kisszámú jelmolekula elegendő erős sejtválasz kiváltásához.

4) A jeltovábbító kaszkád szétteríti a jelet a sejtben, ezért párhuzamosan több folyamat is szinkronban szabályozható. A jeltovábbító rendszer számos komponense képes a jel több irányba továbbítására. Ennek következtében több intracelluláris célkomponens is aktiválódhat. Az ilyen elágazó szignalizációs reakciósorok rendkívül komplex sejtválaszt képesek kiváltani.

5) Végül, a jeltovábbító rendszer több komponensét is befolyásolhatják más szignálok. Így az egyes szignálok továbbítása modulálható a sejtek külső- és belső környezete állapotának megfelelően (13.3. ábra).

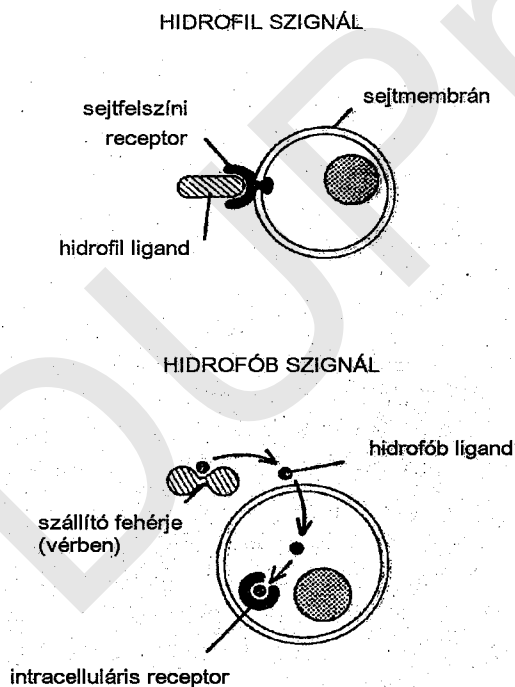


13.3. ábra. A sejtben belüli jelátviteli rendszerek vázlatos felépítése. Az extracelluláris jelmolekulát a sejtfelszínen található receptor köti meg és közvetíti a sejt belsejébe. Itt több komponensből álló jelátviteli rendszer veszi át és továbbítja a jelet a specifikus választ létrehozó célkomponensekhez. Továbbítás közben a jel felerősödik. A rendszer elemeinek működését módosíthatják egyéb sejtben belüli tényezők.

EGYES JELMOLEKULÁK ÁTHATOLNAK A SEJTMEMBRÁNON

Az extracelluláris szignál molekulák általában két csoportba sorolhatók, ennek megfelelően a receptoroknak is két alaptípusa van (13.4. ábra). A nagyobbik csoportot azok a szignál molekulák alkotják, amelyek hidrofílek és túl nagyok ahhoz, hogy átjuthassanak a sejtmembránra. Ezeknek a molekuláknak a receptorai a sejt felszínén, a sejtmembránra rögzítve találhatók. Ezeknek a receptoroknak át kell juttatniuk a jelet a membrán másik, belső oldalára. A második csoportba tartozó molekulák hidrofóbak és eléggé kicsik ahhoz, hogy átdiffundálhassanak a sejtmembránra. E szignál molekulák a receptorai a célsejt belsejében találhatók, többnyire szabályozó fehérjék vagy enzimek. Ezek akkor aktiválódnak, amikor a jel molekula hozzájuk kötődik.

A legismertebb hidrofób szignál molekulák a szteroid hormonok (pl. a tesztoszteron, ösztrogén, kortizol, progeszteron, stb.) és a pajzsmirigy hormonok (tiroxin, trijód-tironin). Ezek a hormonok átdiffundálnak a célsejt sejtmembránján és a citoplazmában, vagy a sejtmagban található receptor fehérjéhez kötődnek. A receptorok regulátor fehérjék – tipikus esetben transzkripciósfaktorok – amelyek a hormon kötődése előtt inaktív formában vannak. A hormon megkötődésének következtében jelentős konformációs változáson mennek keresztül, és a hormon-fehérje komplex már képessé válik a neki megfelelő szabályozó szekvenciához kötődni a DNS-en. Ennek a kötődésnek a gének expressziójában bekövetkező változás az eredménye. Bizonyos gének átírása aktiválódhat másoké pedig gátlódhat a komplex kötődésének hatására, ami további gének aktivitására lehet hatással. Minden egyes hormonnak megvan a saját specifikus receptora és a különböző receptorok eltérő és jellemző szabályozó szekvenciákhoz kötődnek a DNS-en. A különböző hormonok tehát specifikus gének csoportjainak aktivitását szabályozzák (13.5. ábra).



13.4. ábra. Szignalizációs molekulák és receptoraik két alapvető típusa.

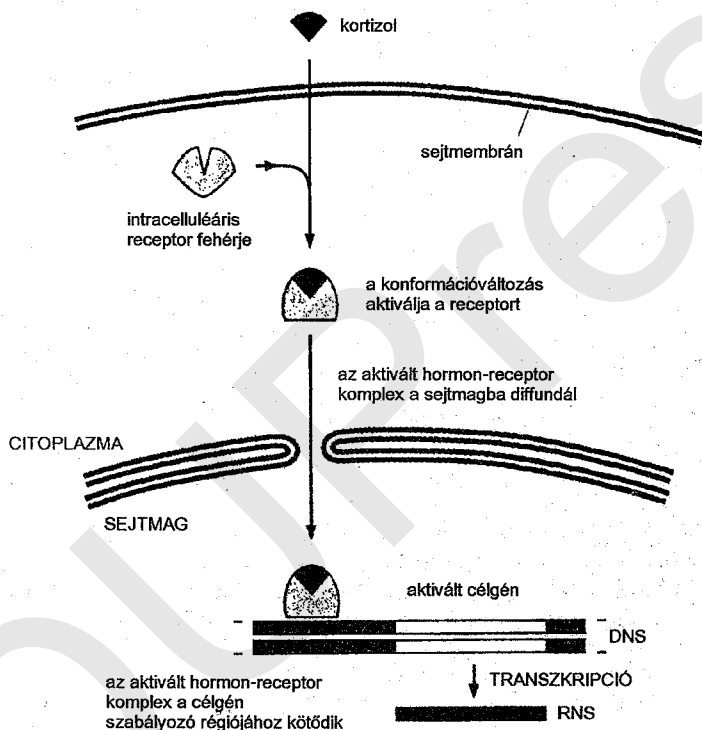
A szteroid hormon receptorok fontosságát jól illusztrálja a tesztikuláris feminizációs szindróma. Ezen egyének kromoszomális és gonadális neme férfi, ugyanakkor női fenotípussal rendelkeznek (de természetesen sterilek) mert a tesztoszteron receptor hiányzik sejtjeikből (vagy funkcióképtelen). Hiába termel a hím gonád elegendő férfi nemi hormont, a

sejtek nem reagálnak a jelre, hiszen hiányzik az a molekula ami felismerné és megkötné a tesztoszteront. Ennek hiányában természetesen elmarad a

megfelelő gének aktiválódása és a genotípusnak megfelelő differenciálódás is. (L. még Genetika jegyzet I. kötet 248. old.)

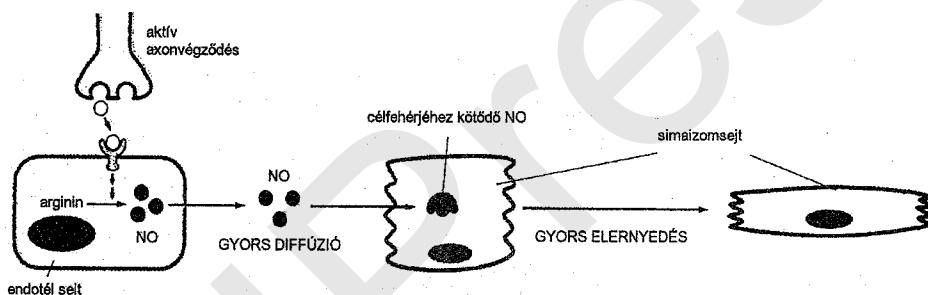
A hidrofób hormonok is a vérben szállítódnak megfelelő fehérjemolekulákhoz kötődve, hiszen vizes fázisban nagyon rosszul oldódnak.

A NITROGÉN-MONOXID KÉPES BEDIFFUNDÁLNI A SEJTEKBE ÉS KÖZVETLENÜL AKTIVÁL ENZIMEKET



13.5. ábra. A kortizol gének aktivitását szabályozó fehérje segítségével fejt ki hatását. A szteroid kortizol átdiffundál a sejtmembránon és a citoplazmában található receptor fehérjéjéhez kötődik. A hormon-receptor komplex a maghártya membrán pórusain át bejut a sejtmagba. A hormon kötődése aktiválta receptor képessé válik a DNS-ben található specifikus szabályozó régiókhoz kötődni és megváltoztatni egyes gének expresszióját.

Amikor a sejtnak egy hormonra adott válasza gének aktivitásának a megváltozását igényli, akkor általában a sejtválasz percek, vagy akár órákat is késhet. Ebben az esetben ugyanis először át kell írni a DNS információját RNS-be, amit aztán a transzláció folyamatában a riboszómák a sejtnek fehérjékké kell lefordítani. Mindez időigényes folyamat. Gyorsabb reagálást tesz lehetővé, ha a szignál molekula közvetlenül enzimeket aktivál. Így hat például a **nitrogén monoxid (NO)**, 13.6. Ábra). Ez a molekula, ami argininből keletkezik a NO szintetáz enzim hatására, oldódik a vérplazmában és nagyon sok szövetben lokális mediátorként hat. Az erek belső falát bélelő lapos endotél sejtek pl. lokális idegi stimulációra NO-t szintetizálnak, ami az érfal simaizom sejtjeinek relaxációját váltja ki. Az erek kitágulnak és nagyobb mennyiségű vér áramlik át rajtuk. Ez a jelenség megmagyarázza a gyógyászatban már több mint száz éve használt nitroglicerint jótékony hatását anginás¹ betegekben. A kezelt betegek



13.6. ábra. A nitrogén monoxid az erek falában található simaizom elernyedését váltja ki. Az axonvégződésből felszabaduló acetilkolin az erek falában található endotél sejtekből NO felszabadulást vált ki. A NO gyorsan kidiffundál az endotél sejtekből, bejut a szomszédos simaizom sejtekbe, ahol izomelernyedést okoz.

endotél sejtjei a nitroglicerintől NO-t állítanak elő. Ez okozza az erek kitágulását, csökkentve ezzel a perifériás ellenállást és a szív munkáját is, ami viszont csökkenti a szívizom O_2 igényét. A NO gyorsan kidiffundál azokból a sejtekből ahol keletkezett és eljut a szomszédos sejtekig. Csak lokálisan hat, mert ennek a molekulának rövid az élettideje az extracelluláris térben, ott ugyanis O_2 -vel és H_2O -val reagálva nitráttá és nitrá-

¹ Angina: szívizom szűkületben szenvedő betegeknek jelentkező jellegzetes mellkasi fájdalom

tokká alakul. A sejtekbe jutott NO leggyakoribb célpontja a **guanilát cikláz** enzim, amely **ciklikus GMP (cGMP)** képződését katalizálja GTP-ből, extracelluláris szignálok hatására. (A cGMP szerkezetében és hatásmechanizmusában is nagyon hasonlít egy másik intracelluláris jelátvivő molekulához, a ciklikus AMP-hez.) A keletkező cGMP aztán további effektor molekulák aktiválásában vesz részt, ilyen molekulák például a *cGMP-függő fehérje kinázok*, *ciklikus nukleotidok-szabályozta ion csatornák* és a *cGMP-szabályozta foszfodieszterázok*. A cGMP lebontását GMP-vé a **foszfodieszteráz** enzimek katalizálják, felfüggesztve ezzel a cGMP jeladó hatását.

A SEJTFELSZÍNI RECEPTOROKNAK HÁROM ALAPTÍPUSA VAN

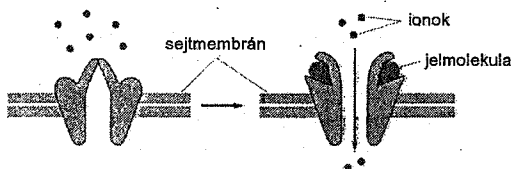
A szteroid hormonoktól eltérően a legtöbb szignál molekula hidrofíl molekula, fehérjék, peptidek, nukleotidok és egyéb vízben oldódó vegyületek, amelyek nem képesek átdiffundálni a sejtmembránon. A hidrofíl hormonok – pl. az inzulin; a növekedési faktorok, mint az EGF², PDGF, IGF; a citokinek; a neurotranszmitterek, mint a dopamin, noradrenalin, acetilkolin – esetében a jelátvivő molekula a sejtek felszínén lévő receptorhoz kötődik. Az ilyen típusú jelátviteli folyamatokban résztvevő receptoroknak ezért át kell érnie a sejtmembránt ahhoz, hogy az extracelluláris felszínen megkötve a jelmolekulát közvetítse a jelet a membránon keresztül az intracelluláris térben lévő jeltovábbító rendszerhez. Ezek a receptorok tehát a sejten belül található, a jeltovábbításban részt vevő végrehajtó (effektor) molekulákhoz kapcsolódnak.

A legtöbb felszíni receptor az alábbi három kategória egyikébe tartozik: *ioncsatornához kapcsolt*, *G-fehérjékhez kapcsolt* és *az enzimhez kapcsolt receptorok* csoportjába (13.7. ábra). Ezek a típusok természetesen eltérő intracelluláris jeleket állítanak elő. Az ioncsatornához kapcsolt receptorok esetében az intracelluláris szignál ionok áramlása a membránon keresztül, ami elektromos változásokat produkál, megváltoztatja a tényleges ionkoncentrációkat a sejtben. A G-fehérjékhez kapcsolt receptorok aktiválódásuk után egy, a sejtmembránhoz kapcsolt fehérje komplex (**G-fehérje**) egyik alegységét (α alegység) felszabadítják és ez a membrán

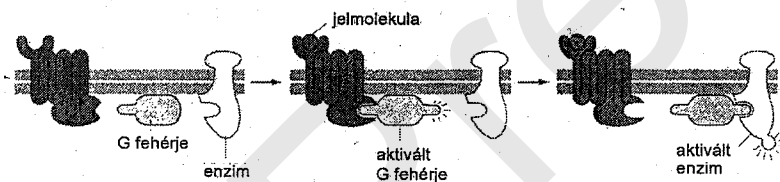
² Az itt szereplő faktorok, ill. receptorok jelentése: EGF: epidermális növekedési faktor, PDGF: vérlemezke eredetű – –, IGF: inzulinszerű – –, citokinek: sejtek közötti kommunikációban szereplő jelátvivő molekulák.

síkjában eldiffundáló alegység indít el egy reakciósorozatot. Az enzimhez kapcsolt receptor típusok esetében a receptor citoplazmatikus doménjében található enzimaktivitás stimulálódik az extracelluláris szignál molekula megkötése után és ez az enzim aktivitás indítja el a jeltovábbító folyamatot. Ennek során citoplazma membránhoz rögzített fehérjék szabadulhatnak ki a citoplazmába, egyben továbbítva a jelet a sejt belsejébe.

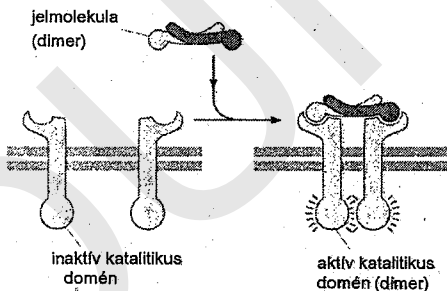
(A) IONCSATORNÁHOZ KAPCSOLT RECEPTOR



(B) G FEHÉRJÉHEZ KAPCSOLT RECEPTOROK



(C) ENZIMHEZ KAPCSOLT RECEPTOR



13.7. ábra. A sejtfelszíni receptorok három alaptípusa. (A) Ioncsatornához kapcsolt receptorok, a ligand kötődése nyitja ki az ioncsatornát. (B) A G fehérjéhez kapcsolt receptorok, a receptor a jelmolekula (ligand) megkötése után összekapcsolódik a GTP-kötő fehérjével (G fehérje). Az aktivált G fehérje leválik a receptorról és a célmolekulához kapcsolódik. (C) Az enzimhez kapcsolt receptor esetében a sejten kívüli ligand kötődése után a receptor intra celluláris doménje aktiválódik. A jelmolekula megkötése mindhárom esetben megváltoztatja a receptor konformációját, az aktív receptor tehát úgy továbbítja a jelet a sejt belsejébe, hogy magának a jelmolekulának nem kell bejutnia a sejtbe.

Az ezekbe a csoportokba tartozó receptorok száma sokkal nagyobb, mint a receptorokat stimuláló szignál molekulák száma, azaz egy-egy molekula több, különböző receptorhoz is kötődhet. Az acetilkolin molekula például harántcsíkolt izomsejteken ioncsatornához kapcsolt receptort aktivál, szívizom sejteken viszont G-fehérjéhez kapcsolt receptorhoz kötődik. A két eltérő receptor természetesen más-más intracelluláris szignált produkál, lehetővé téve a két sejttípus eltérő reakcióját az acetilkolin stimulációra.

A sejtfelszíni receptorok sokasága, amely a szervezet működésének szabályozásához szükséges nemcsak saját, fiziológiás szignálokra reagálhat, stimulálhatja a receptorokat idegen anyagok is. Számos olyan anyag ismert, ami beavatkozik a szervezet saját szignalizációs útvonalaiba, megváltoztatva fiziológiai folyamatainkat, érzékelésünket. Ilyen anyagok például a nikotin, a heroin, a fájdalomcsillapítók, de még a csili paprika hatóanyaga is. Ezek az idegen vegyületek egyes esetekben a természetes ligand szerkezetéhez hasonlóak, ezért elfoglalják a fiziológiás szignál molekula kötőhelyét a receptoron. De kötődhetnek a receptor más területeihez is és így blokkolják vagy túlstimulálják a receptorok természetes aktivitását. Ismerünk olyan vegyületeket is, amelyek a természetes szignáltranszdukciós út vonal komponenseit befolyásolják és ezért módosítják a szervezet anyagcsere folyamatait. Nagyon sok drog, méreg hat ilyen módokon szervezetünk szignáltovábbító folyamataira. Természetesen a gyógyszergyárak is nagy erőfeszítéseket tesznek olyan gyógyszerek előállítására, amelyek a kívánt módon tudják befolyásolni szervezetünk működését. Az utóbbi évek alapkutatásának fontos eredményei arra az érdekes és rendkívül fontos jelenségre is kezdenek fényt deríteni, hogy egyes vírusok és patogén baktériumok is a gazdaszervezet szignáltranszdukciós folyamatait befolyásolva képesek megfertőzni szervezetünket.

AZ IONCSATORNÁHOZ KAPCSOLT RECEPTOROK ELEKTROMOS JELEKKÉ ALAKÍTJÁK A KÉMIAI SZIGNÁLOKAT

Az ioncsatornához kapcsolt receptorok – más néven a *transzmitter nyitotta ioncsatornák* – rendkívül egyszerű mechanizmussal működnek. Ilyen receptorok találhatók például az idegsejtek szinapszisaiban, ahol a gyors ingerületátadást teszik lehetővé. Kémiai ingereket alakítanak át elektromos jellé, a sejtmembrán nyugalmi membránpotenciáljának megvál-

tozásává. A neurotranszmitter kötődése a receptorhoz megváltoztatja a receptor konformációját, ezzel kinyílnak vagy bezárulnak ioncsatornák a membránban. Ezek a csatornák specifikusak, csak bizonyos ionokat engednek át, pl. K^+ , Na^+ , Ca^{2+} vagy Cl^- ionokat. Az ionok elektrokémiai gradiensüknek megfelelően áramlanak át a csatornákon, milliszekundumok alatt megváltoztatva a sejtmembrán nyugalmi membránpotenciál értékét. Ez az elektromos változás aztán akciós potenciál keletkezését válthatja ki, vagy ellentétes módon éppenséggel meggátolhatja új akciós potenciál kialakulását. Amint azt az alábbiakban részletesebben is megárgyaljuk a Ca^{2+} csatornák nyitásának rendkívül fontos következményei lehetnek a sejt életében, az intracelluláris Ca^{2+} sok enzim aktivitását befolyásolja.

A SEJTEN BELÜLI JELTOVÁBBÍTÓ RENDSZER KOMPONENSEI MOLEKULÁRIS KAPCSOLÓKKÉNT MŰKÖDNEK

A G-fehérijéhez és enzimhez kapcsolt receptorok a megkötött extracelluláris jelet a sejt belsejébe továbbítják, átadva azt egy intracelluláris, többkomponensű jeltovábbító rendszernek (ahhoz hasonlóan, ahogyan a váltófutásban a futók átadják egymásnak a váltóbotot, de a jeltovábbítás során minden "váltásnál" megváltozik a jel minősége). A továbbiakban részletesen írunk arról, hogy a jeltovábbító útvonal elemei, az **effektorok** lehetnek integráns vagy perifériás membránfehérjék (ezek a sejtmembrán foszfolipid molekuláihoz kapcsolódva rögzülnek a membránhoz), de lehetnek citoplazmatikus fehérjék is. Az effektor molekulák lehetnek enzimek (pl.: adenilát cikláz, guanilát cikláz, foszfolipázok, fehérje kinázok), ioncsatornák és regulátor fehérjék (pl. GAP fehérjék, lásd az alábbiakban). A regulátor fehérjéket kivéve a legtöbb effektor molekulára jellemző, hogy meg tudják változtatni az ún. másodlagos hírvivő molekulák – ezek kis, nem fehérje jellegű molekulák, vagy ionok – koncentrációját a citoplazmában vagy a sejtmembránban. A másodlagos hírvivők közé tartoznak a ciklikus nukleotidok (cAMP, cGMP), a foszfolipidekből, keletkező diacilglicerín és inozitolfoszfatok, az arachidonsav és metabolitjai (pl. eikozanoidok). A másodlagos hírvivő molekulák aztán úgy továbbítják a jelet, hogy újabb fehérjék aktivitását változtatják meg, többnyire citoplazmatikus szerin/treonin fehérje kinázokét, vagy a sejtmembránhoz kötődő **kis GTP-kötő fehérjékét** (pl. a **Ras** és **homológjai**). Fontosnak tartjuk kiemelni, hogy a szignáltranszdukciós folyamat egymást követő lépései nem igénylik új fehérjék szintézisét. Végső lépésként a fehérje kinázok

gyakran transzkripció faktorok aktivitását képesek módosítani, megváltoztatva azok kötődését a DNS-hez, sejtben belüli lokalizációjukat. A szignáltranszdukciós folyamat végén tehát megváltozhat egyes gének átíródása, expressziója, azaz új géntermékek jelennek meg a sejtben.

Ennek a rendszernek a tagjai tehát lehetnek kis molekulák (a ciklikus nukleotidok), ionok (Ca^{2+}) és a legnagyobb számban fehérjék. Egyes komponensek kémiai átalakítóként működnek (egyik kémiai jelet átalakítják egy másik kémiai jellé), mások hírvivőként (a sejt egyik részében detektált jelet elviszik a sejt egy másik részébe és ott váltják ki a specifikus választ).

Az intracelluláris jeltovábbító molekulák legtöbbje molekuláris kapcsolóként működik, azaz a befogott jel átalakítja a molekulát egy inaktív formából az alternatív aktív formába. Ebben az aktív formában funkcionál, aztán a molekula addig, amíg egy másik reakció ki nem kapcsolja, azaz vissza nem alakítja inaktív formává. A kikapcsolás lehetősége a jeltovábbító rendszerek egy rendkívül fontos tulajdonsága. Ahhoz, hogy egy ilyen rendszer a jel továbbítása után újra képessé váljon a következő stimulus továbbítására, a rendszer elemeit vissza kell állítani az eredeti inaktív formába. A rendszer be- és kikapcsolása tehát egyformán fontos reakciója a jeltovábbító folyamatnak és a kettőnek egymást kell követnie.

A molekuláris kapcsolóként működő fehérjéket általában két kategóriába lehet besorolni. A nagyobb csoport azokat a fehérjéket tartalmazza, amelyeknek az aktivitását foszforilációval lehet szabályozni. Ezeknek a fehérjéknek az egyik irányban való átalakítását fehérje kináz enzimek, a másik irányban való átalakítását fehérje foszfatáz enzimek katalizálják. A fehérje kinázok ATP γ helyzetű foszfát csoportját kapcsolják a célfehérjéhez, megváltoztatva annak konformációját, a visszaalakítást a foszfatázok a foszfát csoport eltávolításával végzik el. A foszforilációval szabályozott fehérjék gyakran maguk is fehérje kináz enzimek és újabb kinázokat aktiválnak. Ily módon a fehérje kinázok gyakran foszforilációs kaskádokat hoznak létre, egy foszforilációval aktivált fehérje kináz aktív alakja egy, a sorban következő újabb fehérje kinázt aktivál (foszforilációval) és így tovább. A fogadott jel minden reakcióban tovább adódik a sorozat következő tagjára, közben modulálódhat a jel és áttekeredhet párhuzamos jeltovábbító rendszerekre.

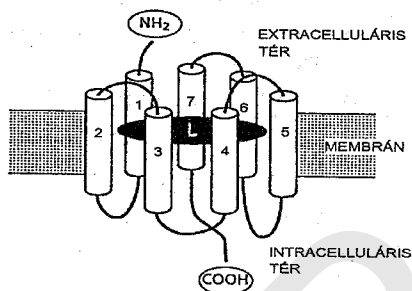
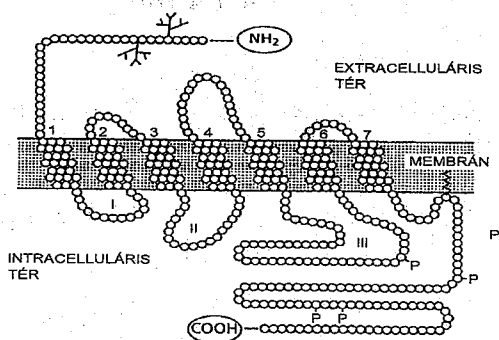
A molekuláris kapcsolók másik nagy csoportját a **GTP-kötő fehérjék** alkotják, ide tartoznak a G-fehérjék is. Ezeknek a fehérjéknek is aktív és inaktív konformációja létezik, attól függően, hogy a fehérje GTP-t (aktív konformáció), vagy GDP-t (inaktív konformáció) tart megkötve.

Fontos szerepet játszanak a legtöbb receptor típus jeltovábbító kaszkádjában, aktivált állapotukban ion csatornák és enzimek aktivitását tudják szabályozni. Az ebbe a fehérje családba tartozó molekulák közül két típusnak van különösen fontos szerepe, az egyikbe a klasszikus **heterotrimer G-fehérjék** tartoznak, a másikba pedig a *ras* protoonkogén kódolta kis (~21 kDa méretű) GTP-kötő Ras fehérjék és homológjaik. Az előbbiek természetesen a **G-fehérjékhez kapcsolt receptorok** szignalizációjában vesznek részt, az utóbbiak pedig a receptor tirozin kinázokéban és citokin receptorokéban.

G-FEHÉRJÉKHEZ KAPCSOLT RECEPTOROK

A G-fehérjéhez kapcsolt receptorok alkotják a sejtfelszíni receptor fehérjék legnépesebb családját, már eddig is több mint százféle, ebbe a csoportba tartozó receptort ismertek fel emberi sejteken. Rendkívül sokféle extracelluláris szignál felismerésében és továbbításában vesznek részt, hormonokéban, lokális mediátorokéban, neurotranszmitterekéban. Ezek a szignál molekulák szerkezetük és hatásuk tekintetében is rendkívül sokfélék, lehetnek fehérjék, kis peptidek, aminosav származékok, zsírsavak.

Az általuk megkötött szignál molekulák szerkezeti sokfélesége ellenére ezek a receptorok nagyon hasonló szerkezetűek (13.8. ábra). Az eddig felismert receptorok mindegyike egy polipeptidláncból áll, aminek az N-terminális extracelluláris doménje gyakran glikozilált. Hét azonos hosszúságú hidrofób láncrészlete hozza létre a membránon átérő hidrofób domént, valószínűleg ez alkotja a ligand-kötő helyet is a receptoron. A membránon átvelő részeket három-három extracelluláris és citoplazmatikus hurok kapcsolja össze. Az intracelluláris C-terminális rész és a citoplazmatikus hurkok hozzák létre a G-fehérjéhez kapcsolódó domént. Ennek a résznek a specifikus aminosav szekvenciája biztosítja a receptor szelektív kötődését a különböző típusú G-fehérjékhez.



13.8. ábra. *G* fehérjéhez kapcsolt receptor működésének általános modellje. A felső ábrán a kis körök a fehérje aminosav komponenseit ábrázolják. Az arab számok a transzmembrán doméneket, a római számok pedig az intracelluláris doméneket jelzik. Az N-terminális rész glikozilált, a membránba benyúló kis cikkcakkos vonal a fehérjéhez kapcsolódó palmitinsavat jelenti ami segíti a membránhoz rögzíteni a fehérjét. Az alsó ábrán a hengerek a fehérje α -helikális szakaszait jelzik. A -P jelek a fehérje foszforilálható aminosav oldaláncait jelzik. L = ligand, jelmolekula.

Ezeket a fehérjéket szerkezetüknek megfelelően a membránt hétszer átvelő transzmembrán receptor fehérjék szupercsaládjába sorolják,

ide tartozik például a pálcikák fényreceptora a *rodopszin* is. Evolúciós eredetüket tekintve ezek a fehérjék rendkívül ősi, hiszen már az alacsonyabbrendű eukarióta egysejtűekben is megtalálhatóak (pl. a nyálkagombákban is). Még baktériumokban is található hasonló fehérje, a *bakteriorodopszin*, ami egy fény energiájával működő H^+ pumpa. *G*-fehérjéket azonban eddig még nem mutattak ki baktériumokban, a receptor homolog tehát eltérő funkciót tölt be baktériumokban, mint eukariótákban.

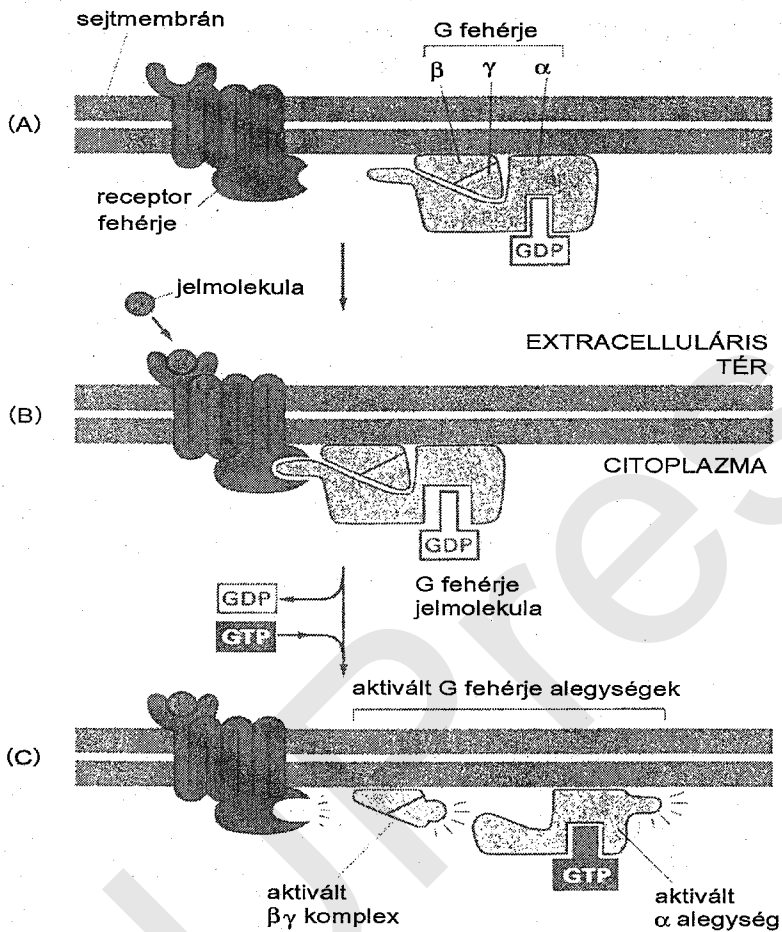
Az aktivált *G*-fehérjék aztán nagyon sokféle további effektor molekulát képesek stimulálni. A receptorhoz kapcsolódó *G*-fehérje típusa szabja meg, hogy melyik szignáltraszdukciós útvonal aktiválódik a sejtben, hiszen *G*-fehérjék is specifikusan kötődnek a különböző effektorokhoz. Ilyen effektorok lehetnek **foszfolipázok** (PLA, PLC), **nukleotid-cikláz** enzimek, a **cGMP-foszfodiesteráz**, és bizonyos ioncsatornák (Ca^{2+} , K^+).

A legtöbb *G*-fehérjéhez kapcsolt receptort specifikus kináz enzimek foszforilálni tudják a sejtben belüli doménen, ez a módosítás további serkentő hatással szemben érzéketlenné teszi a receptort (**receptor deszenzitizálás**).

G-FEHÉRJÉHEZ KAPCSOLT RECEPTOROK STIMULÁLÁSA G-FEHÉRJE ALEGYSÉGEK AKTIVÁLÓDÁSÁT OKOZZA

Amikor a szignál molekula megkötődik a receptoron, akkor ez konformációs változáson megy keresztül, aminek következtében megváltozik a receptor intracelluláris doménjének a szerkezete is. Ez a változás teszi lehetővé a plazmamembrán citoplazmatikus felszínéhez kötődő **G-fehérje** kapcsolódását az aktivált receptorhoz. A G-fehérjék GTP-kötő fehérjék, számos változatuk ismert és mindegyik változat csak a receptorok egy-egy meghatározott csoportjához tud kötődni. A receptorhoz való kötődés mellett a G-fehérjék specifikusan kapcsolódni tudnak az intracelluláris jelzőváltató rendszer egyes komponenseihez is. Miután ezek a molekulák a G-fehérjétől veszik át a jelet és továbbadják a sorozat következő elemének ezért ezeket a molekulákat "*downstream*" *effektoroknak* nevezzük, azaz a hierarchikus sorrendben lejjebb következő végrehajtó elemnek. A különböző G-fehérjék szerkezetükben, felépítésükben és hatásmechanizmusukban sok hasonlóságot mutatnak. Három – az α , a β és γ – fehérje alegységből állnak azaz heterotrimer molekulák. Külső szignál, stimulus hiányában az α alegységhez GDP kötődik és a G-fehérje inaktív. A G-fehérjét a $\beta\gamma$ komplex γ alegységéhez kapcsolt izoprenoid vegyületből álló hidrofób lipid "horgony" rögzíti a sejtmembránhoz. Hasonló poszttranszlációs módosítás kapcsolhatja az α alegységet is a membránhoz, de ebben az esetben egy másik lipid molekula, a mirisztillsav kapcsolódik a fehérjéhez.

A G-fehérjékhez kapcsolt receptorokat az extracelluláris ligandok kötődése (vagy fotonok befogása a pálcikák és csapok esetében) aktiválja, az aktív receptor-ligand komplex a membránhoz kapcsolt alapállapotú, GDP-t kötő G-fehérjéhez kötődik és elősegíti a GDP-nek GTP-re cserélődését (13.9. ábra). A GTP-nek α alegységhez kötődése következményeképpen az $\alpha_{GTP}\beta\gamma$ komplex leválik a receptorról, majd az α_{GTP} alegység és a $\beta\gamma$ dimer is disszociál. Az α_{GTP} alegység ezután effektor enzimeket vagy ioncsatornákat képes aktiválni. Néhány esetben a $\beta\gamma$ dimer is kapcsolódhat effektor fehérjékhez és aktiválhatja azokat. Ez történik a szívizomsejtek K^+ csatornáin, és egyes Ca^{2+} csatornák esetében is. Az α alegység saját belső GTPáz aktivitása a megkötött GTP-t GDP-vé alakítja és így megszünteti az alegység effektorhoz kapcsolódását. A GDP-t kötő α alegység visszakapcsolódik a $\beta\gamma$ dimerhez és a kialakult $\alpha\beta\gamma$ komplex alkalmassá válik újabb aktiválódásra.



13.9. ábra. Az aktivált G fehérje két jeltevábbító komponensre disszociál. (A) Aktiválás hiányában a receptor és a G fehérje is inaktív alakban van jelen és valószínűleg leginkább nem kapcsolódik össze. (B) A receptor aktiválódását követően összekapcsolódik a G fehérjével. (C) A receptorhoz való kötődés hatására a G fehérje α alegysége lecseréli a megkötött GDP-t GTP-re. Ennek hatására az α alegység és a $\beta\gamma$ komplex szétválnak és a sejtmembrán belső felszínén diffundálva a célfehérjékhez kapcsolódnak. A receptor addig marad aktív konformációban amíg a jelmolekula kötődik hozzá, ez idő alatt több száz, ezer G fehérjét is képes aktiválni.

A G-fehérjék által szabályozott effektorok nagyon sokfélék lehetnek. Találunk közöttük enzimeket (adenilát cikláz, foszfolipáz C, foszfolipáz A₂, cGMP-foszfodieszteráz) és ioncsatornákat is (K⁺, Ca²⁺ és Na⁺ csatornák).³

Az α és a $\beta\gamma$ alegységek disszociált állapotának életideje az α alegység viselkedésétől függ. Ennek az alegységnek saját, belső GTP-t hidrolizáló (GTPáz) aktivitása van és egy bizonyos idő után a megkötött GTP-t elbontja GDP-vé. Ezután az α alegység újra hozzákapcsolódik a $\beta\gamma$ komplexhez, ezzel a G-fehérje inaktív alapállapota visszaalakul – kikapcsolódik a G-fehérje – és természetesen megszakad a jel továbbítása is. Ezek a lépések általában néhány másodpercet vesznek igénybe (persze lehet sokkal gyorsabb is), azután újra aktiválódhat a G-fehérje.

Ez a mechanizmus remekül mutatja a szignál továbbító rendszerek alapvető jellemzőit, a jel megszakítása, a rendszer kikapcsolása éppen olyan fontos, mint a bekapcsolás. Jól példázza ennek fontosságát a kolera esete. A kolera bakteriális fertőzés következménye (a *Vibrio cholerae* baktérium okozza). A bélcsatornába került baktériumok egy mérgező fehérjét termelnek, a kolera toxint. Ez a fehérje a bélfalat borító endotél sejtek membránjában lévő egyik G-fehérje-féleség α alegységét kémiaiilag mó-

³ Az α alegység típusa alapján különböztetjük meg a G-fehérjéket és ez az alegység határozza meg a receptorhoz- és az effektorhoz kötődés specititását is. Korábban a G-fehérjéket az alapján osztályoztuk, hogy mennyire érzékenyek, azaz gátolhatóak-e egyes bakteriális toxinokkal. A kolera toxinra (a *Vibrio cholerae* baktérium toxinja) érzékeny (gátolható) és adenilát cikláz aktiváló G-fehérjéket G_s-nek nevezték, a pertusszis toxinnal (a *Bordetella pertussis*, a számarköhögés kórokozója által termelt toxin) gátolható és az adenilát cikláz gátló G-fehérjéket G_i-nek nevezték. A mindkét toxinnal gátolható fehérjéket pedig G_q-nek (vagy transzducinnak) nevezték el, ezek a G-fehérjék kapcsolják a rodopszint a cGMP-foszfodieszteráz enzimhez a retina pálcikáiban. Mostanáig 18-féle emlős G-fehérje α alegységének génjét izolálták és klónozták, aminosav szekvenciáik összehasonlítása alapján négy csoportba soroljuk ezeket. [A G_s osztályhoz tartozik az α_s és α_{olf} (az utóbbiak a szagló receptorokhoz kapcsolódnak). A G_i osztályba tartoznak az erős homológiát mutató α_{i1} , α_{i2} és α_{i3} alegységek, az α_{0A} és α_{0B} alegységek, az α_{t1} és az α_{t2} alegységek (transzducin, látás) az α_g (gasztducin, íz érzékelés) és az α_z alegység. A G_q osztályba az α_q alegység, az α_{11} alegység, az α_{14} , az α_{15} és az α_{16} alegységek tartoznak. A G₁₂ osztályt pedig az α_{12} alegység és az α_{13} alegység alkotja.]

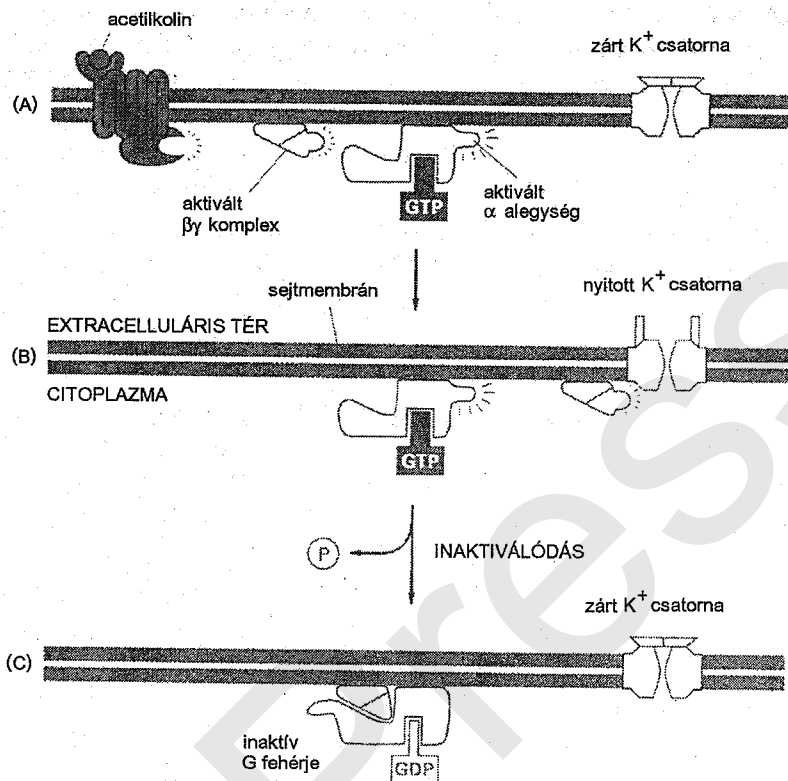
Az α alegységek funkcionális szerepe nem mindig korrelál az osztályozásukkal. A G_s osztályhoz tartozó α_s és α_{olf} alegységek aktiválják az adenilát cikláz, emelve ezzel az intracelluláris cAMP szintet. A G_i osztályba tartozó α_i alegységek pertusszis toxin érzékenyek (a G α_z kivételével), a G α_i és G α_0 altípusok ion csatornák regulációjában vesznek részt, de a G α_i gátolja az adenilát cikláz és csökkenti a cAMP szintet a sejtben. A G α_0 stimulálja a foszfolipáz C enzimet, G α_{t1} és a G α_{t2} alegységek a retina pálcikáiban a cGMP-foszfodieszteráz stimulálják, a G α_g és a G α_z alegységek effektorai nem ismertek. A G_q osztályba tartozó alegységekről azt feltételezik, hogy a különböző foszfolipáz β enzim izotípusok aktiválásában vehetnek részt, egyébként az összes ide tartozó alegység gátolható pertusszis toxinnal. A G₁₂ osztály α alegységeinek fiziológiai szerepe nem ismert.

dosítja. (A NAD^+ molekula egyik felépítő egységét, az ADP-ribózt hozzákapcsolja az α alegységhez. A poszttranszlációs fehérje módosításnak ezt a fajtáját ADP-ribozilációnak nevezzük.). A módosított α alegység nem képes elhidrolizálni a megkötött GTP-t, azaz rendkívül hosszú ideig aktivált állapotban marad és folyamatosan stimulálja a jeltovábbító rendszer következő komponensét. Ez a folyamatos stimulus azzal jár, hogy a sejtek nagy mennyiségű Na^+ iont és ennek következtében vizet választanak ki a bélbe. Ez olyan súlyos hasmenéssel, folyadékvesztéssel jár, hogy megfelelő kezelés hiányában a beteg belehal a folyadékvesztésbe.

A G-FEHÉRJÉK IONCSATORNÁK AKTIVITÁSÁT IS SZABÁLYOZHATJÁK

Természetesen a jeltovábbító rendszerek felépítésének következő fontos elemei azok a molekulák amelyek átveszik a G-fehérjétől a jelet és továbbítják azt a sejt egyéb komponenseihez (azaz a downstream effektorok). A G-fehérjék aktív komponenseinek tipikus célmolekulái ioncsatornák vagy membránhoz kapcsolódó enzimek. A különböző típusú G-fehérjék eltérő effektorokat aktiválnak, és ne feledjük maguknak a különböző G-fehérjéknek is megvannak a saját, specifikus receptorai. Ebben a rendszerben tehát egy extracelluláris szignál molekula kötődése a G-fehérjéhez kapcsolt receptorhoz a sejtben jelenlévő összes lehetséges jeltovábbító rendszereknek csak egy bizonyos alcsoportjához tartozó elemeit aktiválja, az adott jelnek és sejtípusnak megfelelően.

Az aktivált G-fehérjék bizonyos típusai ioncsatornákat aktiválhatnak (13.10. ábra). Közismert példa erre a jelenségre az acetilkolin – fentebb már említett – hatása a szívimzra. Az acetilkolin receptorhoz kötődése a már ismert mechanizmussal egy G-fehérjét aktivál, ebben az esetben a le-disszociált $\beta\gamma$ dimer az aktív jeltovábbító komponens ami a szívimzsejtek membránjában lévő K^+ csatornák intracelluláris részéhez kötődik. A dimer kötődésének hatására kinyílik a csatorna és a K^+ eloszlás átalakulása megváltoztatja a sejt nyugalmi membránpotenciálját, ez pedig csökkenti az összehúzódnások frekvenciáját. Az α_{GTP} komplex inaktiválódása (a GTP hidrolízise után) újra összekapcsolódik a három alegység, a K^+ csatorna pedig bezárul. Ioncsatornák mellett ismerünk más G-fehérje aktiválta molekulákat is.



13.10. ábra. Aktivált G fehérjék K^+ csatornákat nyitnak ki szívizomsejtek sejtmembránjában. (A) Az acetilkolin G fehérjéhez kapcsolt receptorhoz kötődik a szívizomsejt membránján. A receptor aktiválódását a G fehérje alegységekre való szétválása követi. (B) Az aktivált $\beta\gamma$ komplex a K^+ csatornához kötődik és annak nyitódását váltja ki. (C) A GTP hidrolízisét követően az α alegység újra a $\beta\gamma$ komplexhez kapcsolódik és inaktíválja azt. Végül a K^+ csatorna újra bezárul.

G-FEHÉRJÉK MEMBRÁNHOZ KAPCSOLT ENZIMEKET AKTIVÁLHATNAK

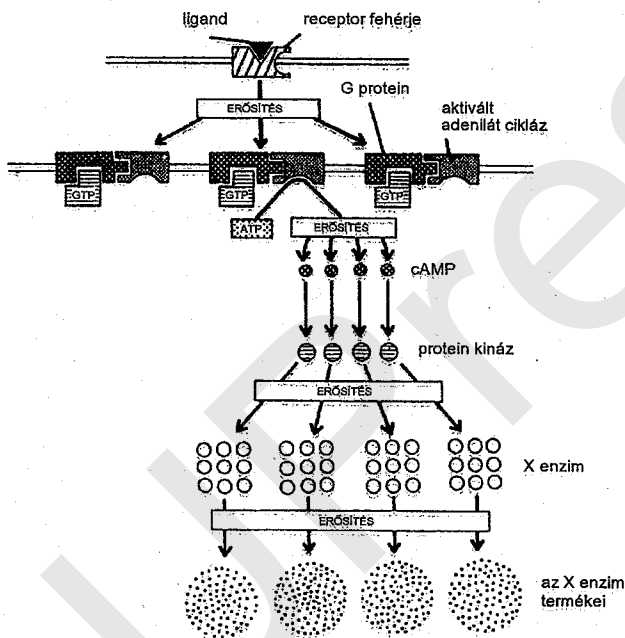
A G-fehérje és az ioncsatornák között kialakuló kölcsönhatás azonnal megváltoztatja a sejt fiziológiai állapotát, viselkedését. A G-fehérjék és enzimek közötti kapcsolat létrejöttének már bonyolultabb következményei lesznek, az enzim aktiválódásának következtében újabb jeltovábbító molekulák keletkeznek. G-fehérjék leggyakoribb effektor enzimei az **adenilát cikláz** és a **foszfolipáz C**. Az adenilát cikláz integráns membránfehérje, két hidrofób doménjét a membránon hatszor átmenő láncrészek alkotják, a két citoplazmatikus doménjében van a katalitikusan aktív hely. Az adenilát cikláz aktiválódása után ATP-ből **ciklikus AMP (cAMP)** szintézisét katalizálja. A foszfolipáz C enzim a sejtmembránban található foszfolipid molekulákból – a **foszfatidilinozitolból** – készít két kis másodlagos hírvivő molekulát, az **inozitol foszfátot** és a **diacilglicerint**. Ezeket a kis intracelluláris jeltovábbító molekulákat másodlagos hírvivő molekuláknak nevezzük. Mivel ezeket a G-fehérjék által aktivált enzimek nagy mennyiségben szintetizálják, ezért az eredeti, az *elsődleges jel* (az extracelluláris szignál molekula kötődése a receptorhoz) *felerősödik*. A másodlagos hírvivők gyorsan eldiffundálnak keletkezésük helyéről, és újabb enzimeket aktiválnak, tovább közvetítve ezzel a jelet.

Ezeket az enzimeket különböző típusba tartozó G-fehérjék aktiválják, amelyek természetesen eltérő receptorokhoz kapcsolódnak, így különböző extracelluláris szignálok hatására jönnek létre a sejtben a különböző másodlagos hírvivő molekulák (amelyek természetesen a sejt sajátos feladatainak megfelelő hatás[oka]t váltanak ki). A downstream effektor enzimek és a G-fehérjék kapcsolódásának a következménye lehet az effektor enzim aktiválódása a stimuláló G-fehérjék (G_s) segítségével, de járhat az enzim inaktiválódásával is, ha gátló G-fehérjék (G_i) kapcsolódnak az enzimhez.

A cAMP ENZIMEKET AKTIVÁLHAT ÉS BEFOLYÁSOLJA EGYES GÉNEK ÁTÍRÓDÁSÁT IS

Sok extracelluláris szignál G-fehérjéhez kapcsolt receptorokhoz kötődve végül is az adenilát cikláz enzim aktiválódását váltja ki, az enzim pedig megemeli a sejtben belül a cAMP koncentrációját. Általában az akti-

vált G_s -fehérje α_{GTP} alegysége aktiválja az adenilát cikláz, ami a sejtben belüli cAMP szint drasztikus megemelkedésével jár. Egy második enzim azonban – **cAMP foszfodiesteráz** – képes gyorsan elbontani a cAMP-t AMP-vé. A sejtekben a cAMP foszfodiesteráznak (és a hozzá hasonló cGMP foszfodiesteráznak is) több típusa található, ezeknek az enzimeknek az aktivitását különböző belső faktorok módosíthatják (pl. Ca^{2+} szint), így a sejt fiziológiai állapotának megfelelően modulálható a ciklikus nukleotidok segítségével történő sejtben belüli jeltovábbító rendszer működése (13.11. ábra).



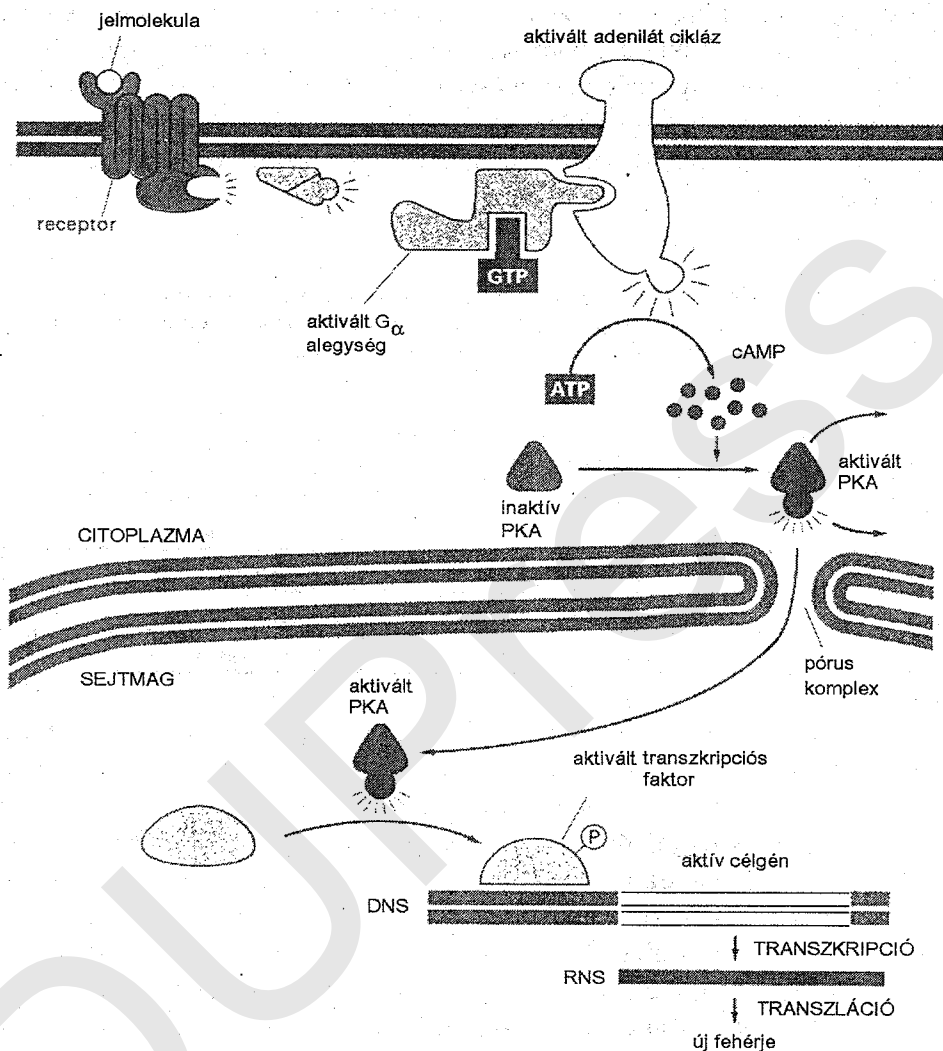
13.11. ábra. Jelátvitel és a jel felerősítése membránhoz kötött receptorok esetén. Amikor a hormon a receptorához kötődik, akkor ez utóbbi kölcsönhatásba lép a G fehérjével olyan formában, hogy arról leválik a GDP és helyére GTP kerül. Ennek következtében a felszabaduló α_{GTP} alegység ledisszociál a $\beta\gamma$ komplexről és az adenilát cikláz enzimet aktiválja. Ez az aktiválás azonban rövid életű mert az α alegység elhidrolizálja a kötött GTP-t GDP-re és már nem képes kötődni az adenilát ciklázhoz. Ezután a fehérje újra aktiválható, a ciklus ismétlődhet. Egyetlen hormon receptor több G fehérje aktiválására képes, s egyetlen α_{GTP} alegység több adenilát cikláz molekula aktiválására, ezek pedig – amíg az α_{GTP} komplex hatásos – igen gyorsan tetemes mennyiségű cAMP-t hoznak létre. Azaz a rendszer mintegy erősítőként is működik. A cAMP egy protein kináz aktivátora, ami viszont – sejttypustól függően – egy bizonyos enzimet aktivál, s ennek a termékének megjelenése ill. felszaporodása jelenti a tulajdonképpeni, általunk észlelt hormonhatást.

Mivel a cAMP nagyon gyorsan lebomlik a sejtben (gyors a molekula metabolizmusa, idegen szóval a *turnover-e*), ezért a cAMP intracelluláris koncentrációja rendkívül gyors változásokat mutathat (másodpercek alatt több nagyságrendnyi változást mérhetünk). Miután a cAMP vízdoldékony molekula, ezért a keletkezésének helyéről (az adenilát cikláz a sejtmembránhoz kapcsolt enzim) szétdiffundálhat a sejt citoplazmájában, eljuthat a sejtmagba is.

13.1. táblázat. *Néhány példa azokra hormonokra, melyeknek a hatását cAMP közvetíti a sejtben belül (a hormonok mellett természetesen lokális mediátorok és neurotranszmitterek hatását is közvetíti cAMP).*

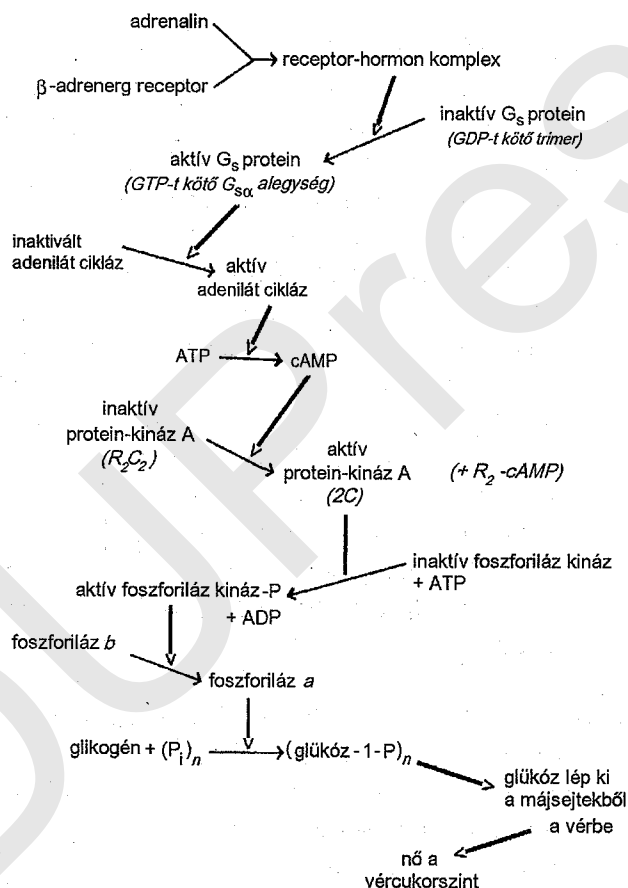
Extracelluláris szignál	Célszövet, célmirigy	A sejtválasz
Adrenalin	Szívízom	Szívfrekvencia nő, a szív összehúzódások ereje fokozódik
Adrenalin	Harántcsíkolt izom	Glikogén bontása
Adrenalin, ACTH, glukagon	Zsírszövet	Zsírok bontása
ACTH	Mellékvese kéregállománya	Kortizol elválasztás nő

Amint azt a táblázat is mutatja, a különböző sejtek egészen eltérően reagálnak a sejtben belüli cAMP szint növekedésére. Ezeket a hatásokat a cAMP általában újabb enzimek aktiválásával váltja ki. Az egyik gyakori cél-enzim a **cAMP-függő fehérje kináz** (a **protein kináz A, PKA**), ami a sejtben más fehérjéhez kötődve egy inaktív komplexben található. A PKA enzimnek két szabályozó- és két katalitikus alegysége van. Egy-egy cAMP kötődése az enzim szabályozó alegységeihez konformációváltozást okoz, a két katalitikus alegység (most már monomer alakban) ledisszociál a komplexről. Ez a változás aktiválja a PKA katalitikus alegységeit. Az aktív kináz aztán bizonyos intracelluláris fehérjék foszforilációját katalizálja a fehérjék szerin és/vagy treonin aminosavoldalláncain, ezzel módosítva a célfehérjék aktivitását (13.12. ábra). Sejtípustól függően különböző fehérjék lehetnek a PKA szubsztrátjai, megmagyarázva a cAMP sejtspecifikus hatását.



13.12. ábra. A cAMP koncentráció emelkedése gének átírását aktiválhatja. Hormonok vagy neurotranszmitterek kötődése a G fehérjéhez kapcsolt receptorhoz az adenilát cikláz enzim aktiválódásához vezet ami megemeli a sejtben belüli cAMP szintet. A citoplazmában a cAMP a fehérje kináz A (PKA) enzimet aktiválja, az aktív PKA a sejtmagba szállítódik és ott gének aktivitását szabályozó transzkripció faktorokat foszforilál. Foszforilálódásuk után ezek a transzkripció faktorok nagyon sok gén expresszióját képesek megváltoztatni. Ilyen felépítésű jeltovábbító útvonalak szabályozzák pl. egyes belső-elválasztású mirigyek hormontermelését, vagy a hosszútávú memória kialakulását is.

Bizonyos esetekben a cAMP kiváltotta sejtválasz gyors, más esetekben lassabb reakciót tapasztalunk. A gyors reakcióra talán a legismertebb példa a PKA-nak a harántcsíkolt izomban kifejtett hatása. Ezekben a sejtekben az aktív PKA katalitikus alegység különböző anyagcsere folyamatok szabályozó enzimeire van hatással. A glikogén anyagcsere kulczenzimeit például a **foszforiláz kináz** és a **glikogén szintetáz**. Ezeknek a fehérjéknek az aktivitását szabályozza a cAMP szinttől függően a PKA (13.13. ábra).



13.13. ábra. Az adrenalin vércukorszintet emelő hatásának molekuláris mechanizmusa (vázlat).

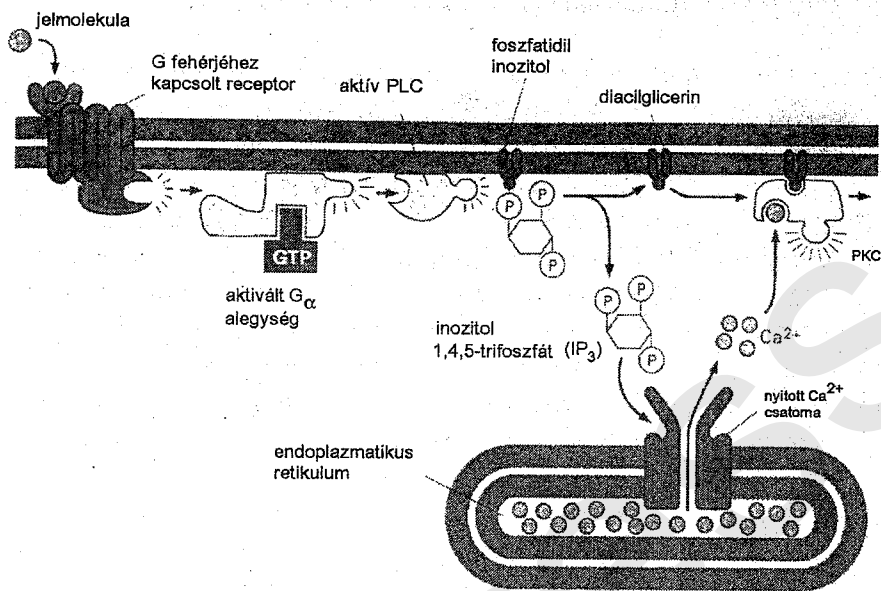
Egy másik fontos funkciója a PKA-nak, a negatív visszacsatoláson alapuló hatása a G-fehérjéhez kapcsolt receptorok aktivitására. Mint azt már leírtuk ezek a receptorok G-fehérjéken keresztül aktiválják az adenilát ciklázt és megemelik a cAMP szintet a sejtben. Ez utóbbi aktiválja a PKA-t ami viszont képes foszforilálni a receptor citoplazmatikus doménjét. Ennek következtében a receptor és a G-fehérje szétkapcsolódik és megszűnik az extracelluláris jel továbbítása is. Ez a jelenség tulajdonképpen *csökkenti a receptor érzékenységét (deszenzitizálás)* és természetesen gátolja az effektor (a G-fehérje) aktiválását annak ellenére, hogy jelen van az extracelluláris szignál.

Az esetek más részében a cAMP hatásának megjelenéséig hosszabb időre van szükség. A lassú válasz általában gének aktivitásának megváltoztatását jelenti. Ezekben az esetekben a PKA gének transzkripcióját szabályozó fehérjék – transzkripciós faktorok – foszforilálásával befolyásolja a génműködést. Számos gén esetében kimutatható volt, hogy a gén aktiválódásához a cAMP-re és aktív PKA enzimre volt szükség. A PKA egyik jól ismert szubsztrátja a **cAMP válasz-szekvenciához kötődő fehérje** – a szakirodalomban használt rövidítése: **CREB** – nevű transzkripciós faktor. Aktiválódását követően a PKA aktív alegysége bejutva a sejtmagba foszforilálja a CREB-et. A CREB egyik szerin oldalláncának foszforilálása aktiválja ezt a transzkripciós faktort, ennek következtében képes lesz kötődni a DNS egy specifikus bázissorrendű szakaszához a **CRE**-hez (*cAMP Response Element, cAMP válasz-szekvencia*), ami a célgének promóter régiójában található és a CREB kötődése aktiválja a gének átírását (13.12. ábra). Ugyanezt a transzkripciós faktort más fehérje kinázok is aktiválhatják, például egy **Ca²⁺/kalmodulin-függő fehérje kináz**, azaz a **fehérje kináz C, PKC** – így több jelátviteli útvonal aktiválhatja ugyanazt a sejtválaszt. Számos más transzkripciós faktort is aktiválhat a PKA, ezek közé tartozik például az AP-1 és az NFκB fehérje. (Érdekes módon az AP-1 transzkripciós faktort megköti és inaktív formában tartja egy másik szabályozó fehérje az IP-1, Az IP-1-et foszforilálja a PKA és az IP-1 foszforilálódásának következményeképpen elengedi az AP-1-et. Ezután az már szabadon aktiválhatja gének átírását.)

A FOSZFOLIPÁZ C AZ INTRACELLULÁRIS Ca^{2+} SZINTET EMELI

A sejtmembrán felépítésében játszott fontos szerepük mellett a foszfolipidek nagyon sok szabályozó folyamatban vesznek részt a sejtben. Számos bioaktív vegyület keletkezik belőlük, hormonok, lokális mediátorok és sejtben belüli másodlagos hírvivő molekulák. Az átalakításukban a foszfolipáz enzimek vesznek részt, például a **foszfolipáz C (PLC)**, a **foszfolipáz D (PLD)**, **foszfolipáz A₂ (PLA₂)**. Ezek az enzimeknek olyan fontos szabályozó anyagokat készítenek a foszfolipidekből, mint a *diacilglicerín* (DG), a *inozitolfoszfátok* (IP), az *arachidonsav* (AA), az *eikozanoidok*, a *foszfatidsav*, a *vérlemezke aktiváló faktor* (PAF), a *ceramidok* és a *szfingozin*. A foszfolipázok által katalizált reakciókban keletkező hidrolitikus termékek szinte mindegyike fontos szignál molekula a szervezetünkben.

Jelenleg már több mint 25 olyan G-fehérjéhez kapcsolt receptort ismerünk az emberi sejteken, amelyek a membránhoz kötött PLC enzim aktiválásával fejtik ki hatásukat. Az ezeket a receptorokat aktiváló szignálok lehetnek hormonok, növekedési faktorok, neurotranszmitterek és citokinek (13.14. ábra). Az aktivált PLC-nek a sejtmembrán belső rétegében kis mennyiségben előforduló *foszfatidilinozitol-difoszfát* (*PIP₂*) a szubsztrátja és a hidrolízis két fontos másodlagos hírvivő molekulát hoz létre, a *diacilglicerint* (DG) és az *inozitol foszfátot* (IP₃). A PLC a PIP₂ molekula hidrofíl részénél a cukor-foszfát maradékot hasítja le és így keletkezik a két termék. Pontosabban az egyik termék az *inozitol 1,4,5-trifoszfát* (1,4,5-IP, IP₃) a másik pedig a sejtmembránban maradó maradék lipid molekula a *diacilglicerín*. A PLC enzimnek több típusa is ismert, ezek közül a PLC_β aktiválható G-fehérjéken keresztül.



13.14. ábra. A foszfolipáz C (PLC) enzim által szabályozott jeltovábbító útvonal vázlata. Az aktivált PLC két jeltovábbító molekulát készít foszfatidil-inozitolból, az inozitol 1,4,5-trifoszfátot (IP₃) és a diacilglicerint. Az IP₃ az endoplazmatikus retikulum Ca²⁺ csatornájához kötődik és hatására a csatorna kinyílik, megemelkedik a citoplazma Ca²⁺ szintje. A citoplazma membránban maradó diacilglicerint a Ca²⁺ ionokkal együtt a protein kináz C-t (PKC) aktiválja, az aktív PKC a citoplazmából átkerül sejtmembrán belső felszínére.

Az IP_3 hidrofil molekula, eldiffundál a membrántól és a sejten belül található Ca^{2+} raktárakból – endoplazmatikus (harántcsíktolt izomban: szarkoplazmatikus) retikulum – felszabadítja a Ca^{2+} -ot. Ennek következtében hirtelen jelentősen megemelkedik az egyébként nagyon alacsony Ca^{2+} koncentráció a citoplazmában, ahol számos enzim és szabályozó fehérje aktivitását fogja befolyásolni a magas Ca^{2+} szint. A membránban maradt DG a Ca^{2+} -al együttesen egy membránhoz kapcsolódó kináz enzimet, a **Ca^{2+} -függő fehérje kináz C-t (PKC)** aktiválja. Az aktív kináz aztán specifikus célfehérjéket fog foszforilálni, ezzel szabályozva azok működését. Az elv tehát ugyanaz, mint a PKA esetében, csak a célfehérjék mások. Érdekes módon az PKC képes foszforilálni és kikapcsolni a PLC_β -t, azt az enzimet, ami hozzájárult a PKC aktiválásához, kikapcsolva ezzel a PLC_β -t a további jelátadó folyamatból.

A PIP_2 -n kívül más foszfatidokból – például a foszfatidilkolinból - is keletkezhetnek másodlagos hírvivő molekulák.

A Ca^{2+} SZIGNÁL SOK FONTOS BIOLÓGIAI FOLYAMATOT AKTIVÁL A SEJTEN

A Ca^{2+} annyira kiterjedt és fontos biológiai szerepet játszik mind eu-, mind prokarióta sejtekben, hogy hatását érdemes egy kicsit általánosabban is megtárgyalni. Nagyon sok extracelluláris szignál – és nem csak a G-fehérjékhez kapcsolt receptorokon keresztül hatókról beszélünk - létezik amelyek hatására a sejten belül megemelkedik a citoplazma Ca^{2+} koncentrációja. A petesejtben például a megtermékenyítést követően a Ca^{2+} szint megemelkedése indítja el a zigóta differenciálódását; izomsejtekben a Ca^{2+} a kontrakciót indítja meg; nagyon sok szekrécióra képes sejtben, így az idegsejtekben is, exocitózist indukál. A Ca^{2+} ion ezeket a hatásait Ca^{2+} -érzékeny fehérjékhez kötődve fejt ki. Az extracelluláris folyadékéhoz hasonlítva a citoplazma Ca^{2+} koncentrációja általában extrém alacsony (10^{-7} M). A sejten belül viszont vannak olyan kompartmentek, amelyekben a Ca^{2+} koncentráció ennél lényegesen magasabb, ilyen például az endoplazmatikus/szarkoplazmatikus retikulum és a mitokondrium. A koncentráció különbségeket Ca^{2+} pumpák tartják fent, amelyek aktív transzporttal pumpálják ki a Ca^{2+} -ot a citoplazmából az extracelluláris térbe, vagy a sejten belüli raktárakba. Ennek eredményeképpen nagy Ca^{2+} gradiens alakul ki a sejtmembrán- és az endoplazmatikus retikulum membránjának két oldalán. Ha egy szignál átmenetileg megnyitja az említett membránokban található

Ca^{2+} csatornákat, akkor a Ca^{2+} rendkívül gyorsan beáramlik ezeken át a citoplazmába és aktiválja a Ca^{2+} érzékeny fehérjéket.

Az IP_3 szignáltranszdukciós rendszer szinte minden eukarióta sejtben a Ca^{2+} -nak az endoplazmatikus retikulumból való felszabadulását eredményezi. A Ca^{2+} szint, mint egy új intracelluláris szignál aztán Ca^{2+} -függő fehérjéket aktivál, közöttük a már említett PKC-t. Ez az enzim egy *szerein/treonin kináz*, amelyet számos szignál aktiválhat, pl. hormonok, növekedési faktorok, neurotranszmitterek. Eredetileg úgy ismerték meg, mint egy olyan kinázt amelynek az aktivitásához elengedhetetlen Ca^{2+} és fosfolipidek jelenléte. Valójában a PKC-t a PLC hatására keletkező DG és a Ca^{2+} aktiválja.⁴ A PKC más fehérje kinázokat is aktiválhat, elindíthat tehát foszforilációs kaszkádokat a sejtben. Az egyik ilyen kináz a *RAF-1* kináz, amely több jeltovábbító útvonalnak is tagja, fontos szerepet játszik a sejtosztódás szabályozásában.

A Ca^{2+} hatásának közvetítésében nagyon fontos szerepet játszanak olyan Ca^{2+} -kötő fehérjék, amelyek Ca^{2+} -al képzett komplex formájában kötődni tudnak más fehérje molekulákhoz és szabályozzák azoknak működését. A legismertebb Ca^{2+} -kötő fehérje a **kalmodulin** ami eukarióta sejtek citoplazmájában található. Négy Ca^{2+} iont képes megkötöni és a kötődés konformációs változást indukálva képessé teszi a kalmodulin/ Ca^{2+} komplexet arra, hogy a célfehérjékhez kötődjön. Különösen fontos célfehérje a **CAM-kináz**, egy fehérje kináz amelyet a kalmodulin/ Ca^{2+} komplex aktivál. Az aktív CAM-kináz sok fehérjét képes maga is foszforilálni, különösen sok CAM-kináz található idegsejtek szinapszisaiiban, ahol az akciók potenciál hatására megemelkedő Ca^{2+} szint aktiválja ezt az enzimet.

⁴ Stimulus nélkül az enzim inaktív formában a membránhoz kötve található, a sejtmembrán foszfatidilszerin molekuláihoz kapcsolódik Ca^{2+} segítségével. A membránban keletkező DG kötődik az inaktív PKC-hez, Ca^{2+} jelenlétében konformációváltozást indukál az enzim szerkezetében és így aktiválja azt. A PKC az aktiválódást követően a továbbiakban már független a Ca^{2+} -tól és leválik a sejtmembránról. A PKC-nek számos változata (izoenzimek, izoenzim) található a sejtekben, ezek tulajdonságai (például a szubsztrát specifitásuk) kissé eltérnek egymástól és lokalizációjuk is változhat. Még a sejtmagban is található PKC izoenzim. Az aktivált PKC számos ioncsatorna aktivitását szabályozza a sejtmembránban (pl. a Na^+ -ot H^+ -ra kicserélő csatorna), de jónéhány fontos szabályozó fehérje is célpontja a PKC-nak. Közülük is ki kell emelni a *MARCKS* fehérjéket (*Mirisztillált Alaninban gazdag C Kináz Szubsztrát*) amelyek az F-aktin fonalakhoz kötődnek és a citoszkeleton és a sejtmembrán közötti kapcsolat kialakításában játszanak fontos szerepet. Az is bizonyos, hogy a PKC fontos egyes gének aktivitásának szabályozásában. Számos transzkripció faktor DNS-hez való kötődését szabályozza, többek között közvetlenül (a fehérjék foszforilációs módosításával) részt vesz a *c-jun* és a már korábban említett NF κ B transzkripció faktorok transzkripció aktivitásának szabályozásában.

Inaktív CAM-kinázzal rendelkező mutáns egerek emlékező képessége erősen lecsökkent a vad fenotípusú egyedekéhez képest.

ENZIMHEZ KAPCSOLT (KATALITIKUS) RECEPTOROK

A receptorok e harmadik nagy csoportjára akkor figyeltek fel a kutatók, amikor a növekedési faktorok – a sejtek osztódását szabályozó fehérjék – hatásmechanizmusát kezdték el tanulmányozni. A növekedési faktorok többsége lokális mediátorként hat és hatását már kis koncentrációban kifejti (10^{-9} - 10^{-11} M). A sejtek lassan reagálnak ezekre, a specifikus válasz megjelenése órákat igényel és tipikus esetben gének aktiválódásával jár. Egyéb enzimhez kapcsolt, vagy más néven katalitikus receptorok képesek gyors sejtválasz generálására is, szignálok hatására a citoszkeleton gyors átépülését, a sejt alakjának megváltozását, sejtmozgásokat indíthatnak el. Az ezeket a folyamatokat beindító extracelluláris szignálok nem csak szabadon diffundáló vegyületek, hanem más sejtek membránjához, vagy az extracelluláris mátrixhoz rögzített molekulák is lehetnek, melyekkel a sejt mozgása közben kapcsolatba kerül.

Az enzimhez kapcsolt receptorok egyetlen hidrofób, a membránt átvíelő doménnel rendelkező transzmembrán fehérjék. A szignál molekulát megkötő doménje a sejtmembrán extracelluláris felszínén található, a membrán intracelluláris felszínén található doménjének viszont saját enzimaktivitása van (ezért is nevezik ezeket a receptorokat katalitikus receptoroknak). A saját katalitikus aktivitással rendelkező receptorok nagy családjából legismertebbek a **receptor tirozin kinázok**. Ezek mellett ismerünk olyan receptorokat is amelyek szerin/treonin kináz aktivitással rendelkeznek, ilyen pl. a TGF- β (a Tumor Growth Factor, ez egy növekedési faktor) II. típusú receptora, vagy az aktivin (sejtdifferenciálódást szabályozó fehérje) receptor. Továbbá számos, receptor fehérjékkel homológiát mutató **tirozin foszfatázt** ismerünk, amelyeknek még nem ismertek a specifikus ligandjai. Miután a receptor tirozin kinázok a legismertebb és legtöbbet tanulmányozott receptorok ebben a kategóriában ezért a továbbiakban ezeket tárgyaljuk.

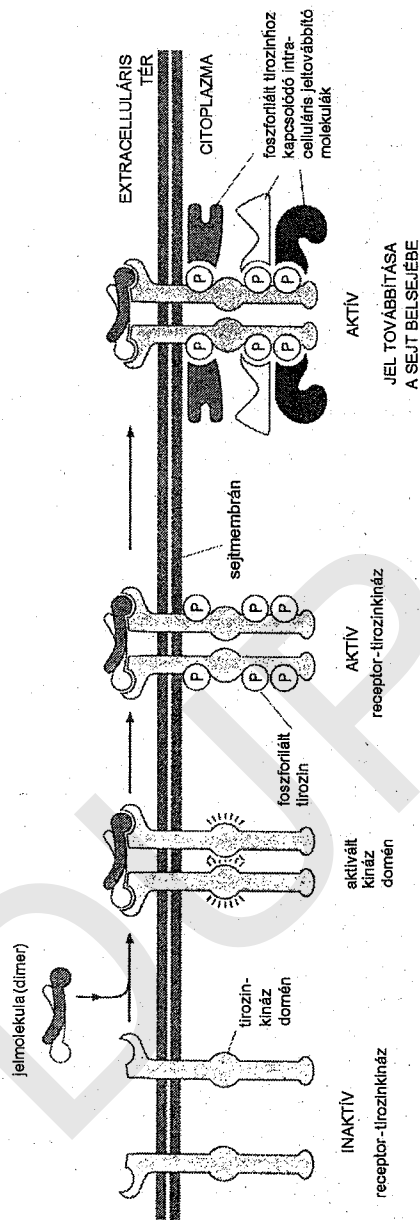
AZ AKTIVÁLT RECEPTOR TIROZIN KINÁZOK KOMPLEXET ALKOTNAK INTRACELLULÁRIS JELTOVÁBBÍTÓ FEHÉRJÉKKEL.

Ezek a receptorok tehát főleg a sejtek által kiválasztott, vagy a sejt-felszínhez kapcsolt növekedési faktorok szignáltranszdukciójában vesznek részt. Ezeknek a receptor tirozin kinázoknak a ligand kötődésével kiváltott aktiválódása egy biokémiai és fiziológiai reakciósorozatot indít el, amelynek végén aktiválódhat a DNS szintézise vagy a sejtosztódás, de sejt-differenciálódás is kiváltható ilyen típusú receptorok stimulálásával. Éppen ezért sok receptor tirozin kinázt azért ismertek fel a kutatók, mert fontos szerepet játszottak daganatok kialakulásában (daganatkeltő retrovírusok részeként, transzformáló ágensként, vagy éppen mint proto-onkogént). A receptorokat aminosavszekvencia homológia alapján több alcsoportba lehet sorolni, de ezek részletezésétől itt eltekintünk.

Inaktív állapotban a receptor tirozin kinázok monomerek vagy lazán kapcsolódó dimerek formájában vannak jelen a sejtmembránban (13.15. ábra). Ligandjaik szintén monomer molekulák (EGF, TGF- β) vagy dimerek (PDGF, CSF-1⁵, NGF, HGF). Ma már általánosan elfogadott elképzelés, hogy a receptorokat tulajdonképpen a ligand kötődése által kiváltott dime-rizáció (a receptor monomerek szoros összekapcsolódása) aktiválja. Az EGF kötődése a monomer alegységek formájában jelen lévő EGF-recep-torból dimerek képződését váltja ki és ekkor aktiválódik a receptor tirozin kináz.⁶

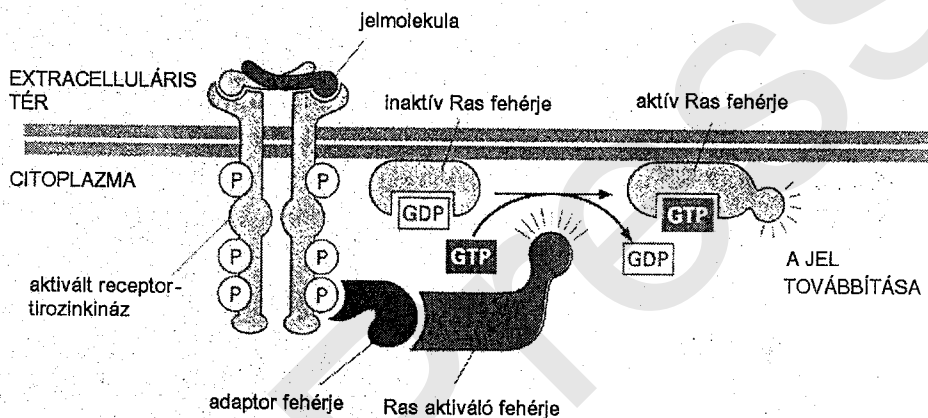
⁵ CSF (Colony Stimulating Factor): a különböző vérsejtek kialakulását szabályozó faktor, NGF (Nerve Growth Factor): idegnövekedési faktor, HGF (Hepatocyte Growth Factor): májsejt növekedési faktor.

⁶ A receptor enzimatisz aktivitásának bekapcsolódása néhány esetben kissé bonyolultabb folyamat eredménye, attól függően, hogy milyen az extracelluláris szignál molekula szerke-zete. Például egy másik extracelluláris növekedési faktornak, a PDGF-nak három külön-böző, peptid egységekből felépülő dimerje (izofarmája) jöhet létre. Kialakulhatnak homológ A és B alegységekből álló homo- (AA, BB) és heterodimer (AB) formák, amelyekben az egységeket diszulfid hidak kapcsolják össze. A sejtek felszínén viszont csak kétféle PDGF receptor típus található, az α és a β típusú PDGF receptor. Az α típus mind a három PDGF izofarmát megköti, a β receptor viszont csak a BB izofarmát köti nagy affinitással. A PDGF kötődése receptor homo- ($\alpha\alpha$, $\beta\beta$) vagy heterodimerek ($\alpha\beta$) kialakulásához vezet, attól függően, hogy milyen típusú a ligand. A receptor tirozin kinázok harmadik típusába a heterotetramer formát létrehozó receptorok tartoznak (inzulin-receptor, IGF-receptor), ame-lyeknél a monomer ligand kötődése új alloszterikus kölcsönhatást indukál a diszulfid hidakkal egyébként már összekapcsolódó $\alpha\beta$ receptor alegységek között, ennek a konformációs vál-tozásnak a következménye a tirozin kináz aktiválódása.



13.15. ábra. A receptor tirozin kinázok aktiválódása egy intracelluláris szignalizációs komplex kialakulásához vezet. A jelmolekulának a receptor extracelluláris doménjéhez kötődését követően a receptor konformációváltozása aktiválja az intracelluláris katalitikus domént (ez a folyamat a receptor alegységek összekapcsolódásával, dimerizációjával jár). Az ábrán látható jelmolekula maga is két komponensből áll – dimer – ezért összekapcsolhat két receptor alegységet. A dimerizáció következtében a receptor alegységek intracelluláris doménjei kontaktusba kerülnek, tulajdonképpen ez a lépés aktiválja a tirozin kináz aktivitását a receptornak. Számos tirozin oldalláncukon egymást foszforilálják az alegységek. Minden egyes foszforilált tirozin köztérként szolgál specifikus fehérjék számára amellyel aztán komplexet alkotva továbbítják a jelet a sejt belsejébe.

Az aktív receptor tirozin kinázok két eltérő mechanizmus segítségével továbbíthatják az információt a sejt belsejébe, fehérjék foszforilálásával és fehérje asszociátumok kialakításával. A ligand kötődésére és a dimerizációra az első válaszreakció a receptor autofoszforilációja, azaz receptor egyes saját tirozin oldalláncainak foszforilálása ATP segítségével. Ez az autofoszforiláció lehetővé teszi, hogy az aktív receptor megköthessen és ezt követően foszforilálhasson specifikus effektor molekulákat, amelyek aztán továbbítják a szignált a citoplazmában (13.16. ábra).



13.16. ábra. Receptor tirozin kinázok a Ras fehérjét is aktiválják. Egy adaptor fehérje kötődik az aktivált receptor foszforilált tirozin aminosav oldalláncához. Az adaptor megköti és aktivál egy fehérjét, ami így képessé válik aktiválni a Ras fehérjét. Ennek hatására a Ras fehérje a megkötött GDP-t GTP-re cseréli és az aktív Ras_{GTP} komplex további molekulákat stimulál a citoplazmában.⁷

⁷ Ilyen effektor molekulák lehetnek enzimek, pl. a *PLC-γ1* enzim, a *PI-3-kináz*, az *Src* tirozin kináz fehérjék egyes típusai, lehetnek regulátor fehérjék (a *rasGAP*, l. alább), vagy transzkripciós faktorok (a proto-onkogén fehérje *Vav*). Mindezen fehérjék közös jellemzője, hogy megtalálható bennük egy vagy több ún. *Src-homológ-2* (SH-2) domén, ez a jellegzetes domén teszi lehetővé azt, hogy az ilyen fehérjék specifikusan kötődhessenek a foszforilált tirozin oldalláncokat tartalmazó receptorhoz (vagy más ilyen oldalláncokat tartalmazó fehérjékhez). Az aktív autofoszforilált receptor aztán foszforilálja és így aktiválja a megkötött effektor fehérjéket. Ez a fehérje módosítás része a szignáltranszdukciós láncreakció sorozatnak. Az SH-2 doménnel rendelkező fehérjéket adaptor fehérjéknek is nevezzük, mert ezek nem csak a foszforilált receptorhoz kötődnek, hanem képesek más fehérjék megkötésére is, ezzel nagy szignalizációs fehérje komplexeket hoznak létre a receptorhoz kapcsolódva. Ennek a komplexnek a részei azok a további effektor fehérjék, amelyek aktiválódva majd továbbítják a jelet a sejt belsejébe. Vannak természetesen kivételek is, receptor tirozin

A katalitikus receptorok olyan effektor molekulákat aktiválnak amelyek több sejten belüli folyamatban is fontos szerepet játszanak. Az egyik fontos, jellemző effektor a Ras fehérje. Ez a protoonkogén *ras* gén terméke. Maga a fehérje a GTP-kötő fehérjék családjába tartozó kis méretű (21 kDa) fehérje, amelynek primer szerkezete eléggé erős homológiát mutat a heterotrimer G-fehérjék α alegységének szerkezetével. A Ras fehérje is képes GTP-t kötni és elhidrolizálni GDP-vé. Ennek a fehérjének is a GTP-t kötő változata az aktív, a GDP-t kötő komplexe inaktív. A Ras aktivitását specifikus fehérjék szabályozzák, a **GAP csoportba** (GTPáz Aktivátor Proteinek) tartozó fehérjék stimulálják a Ras saját belső GTPáz aktivitását és ezzel csökkentik a szignalizációs aktivitását (hiszen a GTP GDP-vé alakul). A **GNRP** (Guanine Nucleotide Releasing Proteins) fehérjék a GDP-t GTP-re váltó nukleotid cserét stimulálják és ezzel aktiválják a Ras fehérjét. Az egyik nemrégiben felismert GAP fehérje pl. a NF-1 molekula. Ez egy tumor szupresszor fehérje, hiszen hiányában a Ras túlaktiválódik és ennek következtében folyamatosan serkenti a sejtosztódást, tumorok alakulhatnak ki (pl. a von Recklinghausen neurofibromatosis öröklődő formája és egyéb sporadikus tumorok). A GAP fehérjék mellett természetesen a GNRP-k is részt vesznek a Ras és homológjai szabályozásában. Ezek a fehérjék a Ras_{GTP} komplex kialakulását stimulálva aktiválják a Ras szignalizációs útvonalát. Ezekről a fehérjékről nagyon keveset tudunk, úgy tűnik, hogy egyes sejtek NGF növekedési faktorról történő stimulálását követően GNRP fehérjék aktiválódnak és ennek következtében aktiválódik a Ras fehérje. Valószínűleg a két ellentétes hatású szabályozó fehérje család sejten belüli tagjai közösen szabályozzák a Ras aktivitását.

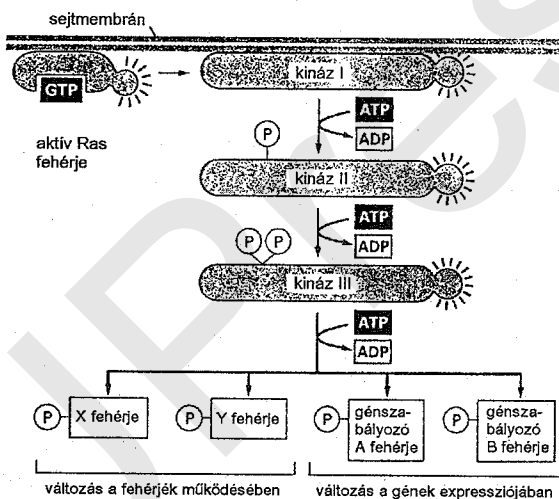
Számos kísérlet bizonyítja, hogy a sejtosztódás, differenciálódás és tumoros transzformáció folyamatának fontos szabályozója a *ras* gén terméke. Úgy tűnik, hogy a Ras közvetíti az aktivált növekedési faktor receptorok

kinázok megköthetik a Raf-1 szerin/treonin kinázt is, holott ebben az effektor enzimben nincs SH-2 domén.

A közelmúlt kutatási eredményei azt igazolják, hogy egyes növekedési faktorok (EGF, NGF, FGF, PDGF és inzulin) aktiválta receptor tirozin kinázok esetében a szignáltranszdukciós útvonal egy fontos további eleme a jól ismert kis GTP-kötő fehérje, a Ras. Ez a fehérje aktiválja a jeltovábbító útvonal további effektorait, a *Raf-1 kinázt*, a *MAP kinázt* és a *c-jun* transzkripció faktor. Egy foszforilációs kaszkád-útvonal indul tehát el a receptor aktiválódása után. Az ebben részt vevő kinázok más jeltovábbító folyamatok komponenseit is foszforilálhatják, ezzel a rendkívül komplex, elágazó jeltovábbító útvonalak jönnek létre. Így koordinálhatóvá válnak azokat a bonyolult biokémiai változások, amelyek végül is elvezetnek a sejtosztódáshoz.

(számos esetben tumor keltő onkogének) és a protein kináz C (PKC) hatását a MAP-kináz aktiválásához. A MAP-kináz azután egyes gének átírásához szükséges transzkripciós faktorok aktivitásának szabályozásában vesz részt. A Ras egyik homológja – a *raf* gén terméke a **Raf fehérje** – az aktin molekulák polimerizációját szabályozza, ezért fontos tényezője a citoszkeletális aktin hálózat kialakításának.

Aktív állapotában a Ras egy fehérjefoszforilációs sorozatreakciót indít el, amelynek tagjai megfelelő sorrendben egymást foszforilálják (13.17. ábra). A jeltovábbító rendszer utolsó tagja egy génregulátor fehérjét – egy transzkripciós faktort – foszforilál, aminek következtében megváltozik a gének átírásának mintázata, új gének aktiválódnak. A Ras tehát központi



13.17. ábra. A Ras fehérje egy kináz enzimekből álló foszforilációs láncreakciót indít el a sejtben. Az aktív Ras fehérje protein kináz enzimet aktivál a sejtben, ez ahhoz vezet, hogy meghatározott sorrendben újabb és újabb fehérje kináz molekulák foszforilálódnak és aktiválódnak (foszforilációs kaszkád). A végső kináz aztán specifikus célfehérjéket aktivál; legfontosabbak ezek között a gének aktivitását szabályozó transzkripciós faktorok, de enzimek (pl. újabb fehérje kinázok) is aktiválódhatnak. A jeltovábbító folyamat révén aktiválódó gének olyan komplex folyamatokat szabályoznak mint a sejtosztódás, sejt-differenciálódás. A Ras fehérje ilyen mechanizmussal stimulálja a sejtosztódás szabályozásában fontos szerepet játszó MAP-kináz (Mitogén Aktivált Protein-kináz) kaszkádot.

szerepet játszik a sejtosztódást szabályozó jeltovábbító útvonalban. Ezért nem meglepő, hogy a különböző humán daganatok mintegy 30%-ában

kimutatható, hogy a Ras fehérjének egy hibás, mutáns változata van jelen a sejtben. Ez is mutatja milyen fontos a szignáltovábbító útvonalak komponenseinek helyes működése, hibáik nagyon gyakran tumorerő kialakulásához vezetnek.

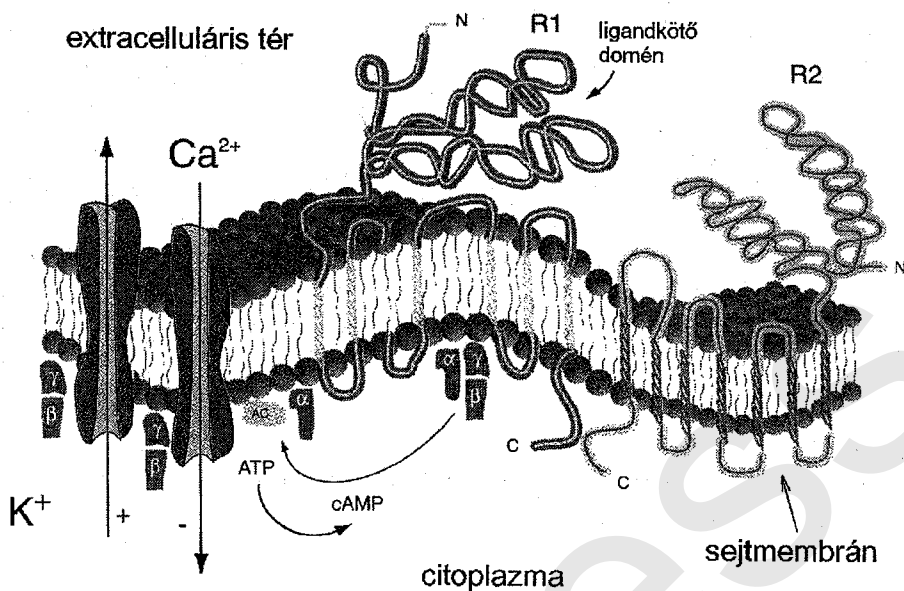
A katalitikus receptorok inaktiválását többnyire a sejt *fehérje tirozin foszfatázai* végzik. Ezek az enzimek lehasítják a tirozin oldalláncokról a foszfát csoportot és ezzel visszaalakul a receptor eredeti, inaktív konformációja. De a sejt képes egy precízen szabályozott folyamat során a felszínről a sejt belsejébe visszahozni a receptorokat (endocitózis) és így is megszüntethető a receptorok aktivitása.

EGYÉB RECEPTOROK KÖZVETÍTÉSÉVEL HATÓ SZIGNÁL MOLEKULÁK ÉS JELTOVÁBBÍTÓ MECHANIZMUSAIK

Az ide sorolt receptoroknak nincs saját enzimaktivitása és nem kötődnek G-fehérjékhez sem. Ezek a receptorok extracelluláris ligandot tudnak megkötni, és egy hidrofób transzmembrán doménnel, valamint egy intracelluláris doménnel rendelkező glikoproteidek. Gyakran több alegység alkot közösen egy funkcióképes receptort, közösen hozva létre a nagy affinitású ligand-kötő helyet.

Ezeket a receptorokat az extracelluláris domén aminosavszekvenciája alapján szokás csoportosítani, négy típusuk ismert, ligandjaik pedig többnyire citokinek (limfokinek, hemopoetikus növekedési faktorok).

Nagyon sok citokintről bebizonyosodott, hogy kötődése a receptorhoz tirozin oldalláncok foszforilációját váltja ki a sejtben. Mivel a receptoraiknak nincs kináz aktivitása, valószínűleg önálló tirozin kinázok kapcsolódnak az aktivált receptorokhoz és azok fehérjék foszforilációjával továbbítják a jelet a citoplazmába. Több tirozin kinázról – ilyen például az **Src-szerű tirozin kináz**, vagy a **Tyk2 kináz** - sikerült is bizonyítani, hogy képes kötődni ilyen típusú receptorokhoz. Egyes interleukin receptorok viszont a kis GTP-kötő fehérjék közé tartozó Ras fehérje aktiválásával közvetítik a jelet a sejtbe. Vannak, továbbá olyan receptorok is ebben a családban, amelyek közvetlenül ioncsatornák aktivitását szabályozzák. A ligand kötődése vagy nyitja, vagy zárja a csatornát. Ide tartozik a pentamer *nikotínerg típusú acetilkolin* receptor (egy kation szelektív csatorna), a *GABA és glicin receptorok* is (ezek Cl^- csatornák) és a *glutaminsav receptor*, ami Na^+ és Ca^{2+} csatorna. (13.18. ábra)



13.18. ábra. A GABA receptor sematikus ábrázolása. A sejtmembránban található heterodimer receptor (R1 és R2 alegységek) ligandkötő doménje az extracelluláris térben van. A receptort a neurotranszmitter γ -aminovajsav kötődése aktiválja. Az aktív receptor közvetlenül tudja szabályozni a sejtmembrán K^+ és Ca^{2+} csatornáinak vezetőképességét. Az aktív receptor ugyancsak képes a cAMP szintjének emelésére is, mert G fehérjék aktiválásával az adenilát cikláz aktivitását is serkenti.

A PROGRAMOZOTT SEJTHALÁL FOLYAMATÁBAN SEJTEN BELÜLI FEHÉRJEBONTÓ ENZIMEK AKTIVÁLÓDNAK

A sérülések vagy toxikus külső hatások miatt elpusztuló sejtek általában megduzzadnak, felrepednek és tartalmuk kiömölve az extracelluláris térbe potenciálisan károsító hatású gyulladásos folyamatot indít el (nekrózis). Ezzel szemben a programozott sejthalál (**apoptózis**) során a sejtek úgy pusztulnak el, hogy a folyamat során nem károsítják szomszédaikat. Az apoptózis a többsejtű élőlények sejtjeinek genetikailag meghatározott jellemzője. A folyamatot elindíthatják belső tényezők és külső szignálok is: pl. növekedési faktorok koncentrációjának lényeges lecsökkenése, apoptotikus faktorok kötődése a sejtfelszíni receptorokhoz (TNF kötődése, lim-

fotoxinok kötődése, a Fas receptorhoz kötődő Fas-ligand fehérje, a FasL; de pl. ebihalakban a tiroxin kötődése a specifikus receptorhoz is kivált apoptózist bizonyos sejtekben), de vírusfertőzés sőt fizikai hatások is apoptózist okoznak (UV sugárzás). Sok daganatellenes kemoterápiás gyógyszer is apoptózist indukál.

Az apoptózis jelensége fontos része a többsejtű állatok és az ember normális differenciálódási folyamatának, ugyanis lehetőséget ad a fejlődéshez továbbiakban már nem szükséges vagy sérült sejtek eltávolításához. A sejthalál folyamata során a sejtek jellegzetes változásokat mutatnak, fontos jellemzője ennek a többfázisú folyamatnak az, hogy már a korai szakasztól kezdődően irreverzibilis a folyamat.

Apoptózis során a sejt zsugorodni kezd, kondenzálttá válik, a sejtvezeték felbomlik, a maghártya burokok szétesnek és a kromatinállomány DNS-e feldarabolódik. A mitokondriumból felszabadul a citokróm C enzim és a citoplazmában megjelenik az Apoptózist Indukáló Faktor (AIF). Közben a sejt felszín is jellegzetes változásokat mutat (pl. a foszfatidilserin molekulák a sejtmembrán belső rétegéből a külsőbe kerülnek át), nagy kitüremkedések jelennek meg rajta. A sejt felszín változása végül oda vezet, hogy az összezsugorodott sejtet – az ún. apoptotikus testet – makrofágok, vagy a szomszédos sejtek fagocitálják, eltüntetik a szervezetből.

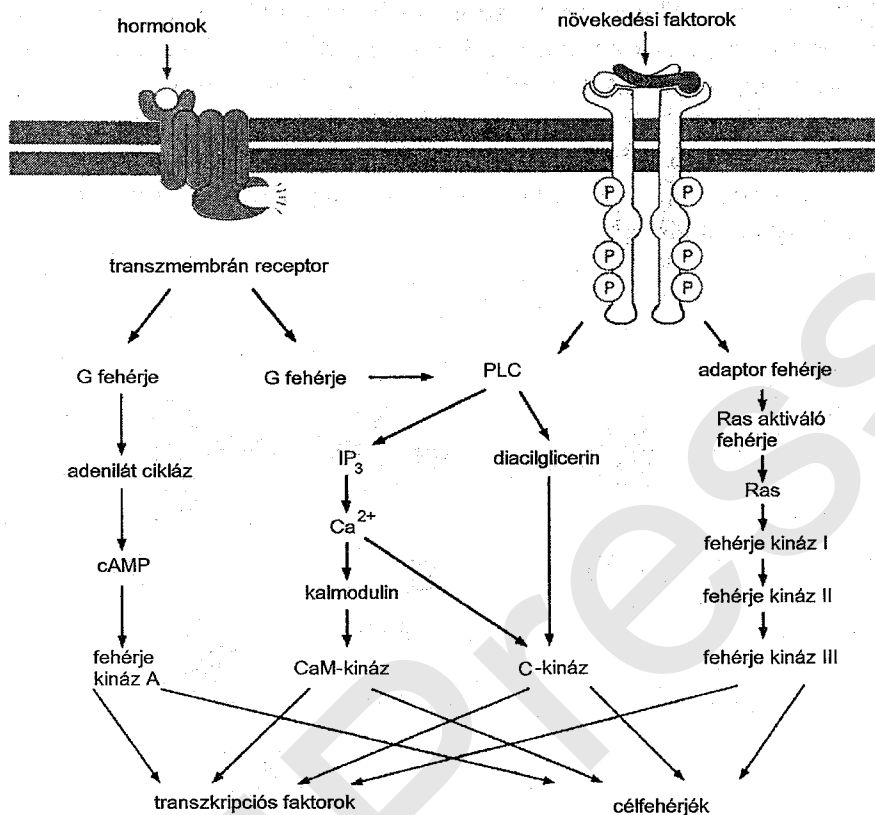
Ez a folyamat a különböző élőlényekben nagyon hasonlóan megy végbe és szabályozásában, végrehajtásában is homológiát mutató fehérjék vesznek részt. A sejtben pro- és anti-apoptotikus faktorok fehérjék találhatók, ezek aktivitását befolyásolva indítják el az apoptózist a különböző szignálok. A folyamat során a pro-apoptotikus faktorok a mitokondriumhoz kötődnek, ennek hatására a citokróm C kiszabadul a citoplazmába és több fehérjével összekapcsolódva egy fehérjét, a kaszpáz proteázok családjába tartozó proteáz enzimet aktivál (kaspáz 9). Az aktív proteáz aztán egy másik, ugyanebbe az ún. "öngyilkos" proteázok családba tartozó enzimet aktivál úgy, hogy elhasítja azt (pro-kaspáz 3 → kaspáz 3). Az aktív kaspáz 3 újabb hasonló proteázokat aktivál, azaz elindul egy lánreakció, amely során proteáz enzimek aktiválódnak meghatározott sorrendben. Az aktív proteázok végül a sejt kulcsfontosságú fehérjeinek egy részét elhasítják (pl. a laminok hasítása vezet a maghártya burokok lebomlásához) ami a sejt halálához vezet.

Ez a specifikus szignálok hatására elinduló folyamat is egy szignál-transzdukciós folyamatnak tekinthető, itt a jel továbbadása fehérjék proteolitikus hasításával jár és újabb fehérjék aktiválódását okozza. Nagy

jelentőségű lehet az apoptózis szabályozási lépéseinek megértése a daganat elleni küzdelemben.

Az eddig leírtakban megpróbáltuk röviden összefoglalni az eukarióta sejtekben található legfontosabb szignáltranszdukciós rendszerek alapvető felépítését és jellemzőit. A 13.19. ábra bemutatja ezeket a jeltovábbító útvonalakat és bemutatja az útvonalak közötti lehetséges kölcsönhatásokat is, ahogyan a komponensek "keresztbe beszélgetnek" egymással. Az útvonalak különböznek egymástól, mégis működési elvük meglepően hasonló. Egyes felépítő elemek, molekulák több útvonal jeltovábbításában is részt vesznek, újabb lehetőséget szolgáltatva a szignalizáció modulálására. Közös jellemzőnek tűnik az is, hogy a különböző útvonalak végén kináz enzimek aktiválódnak, amelyek szinte bármely sejtben belüli biokémiai folyamatot befolyásolhatnak.

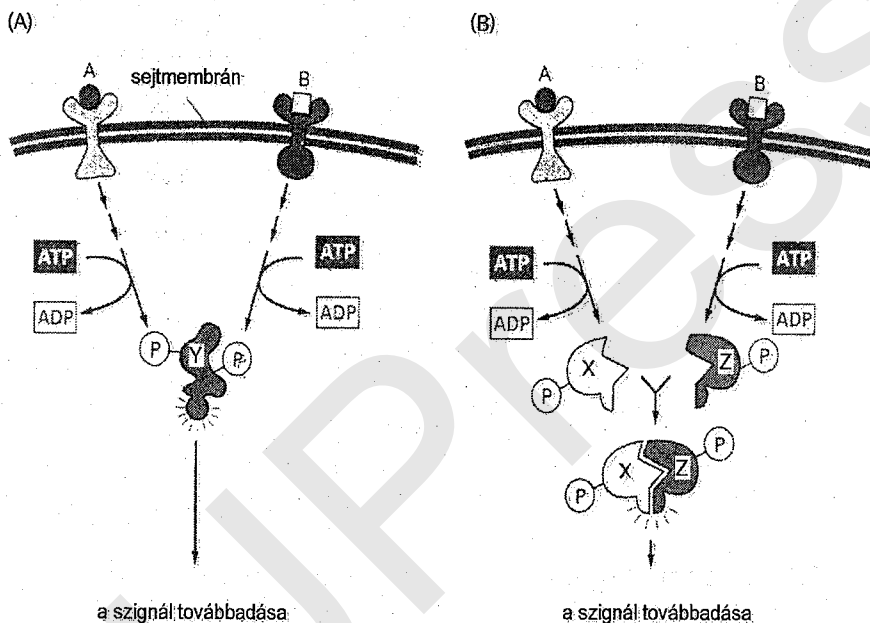
Természetesen leírásunk erősen egyszerűsített képet kívánt nyújtani a jeltovábbító folyamatokról. A valóságban ezek a folyamatok sokkal bonyolultabbak, jelen ismereteink szerint (még a humán genom teljes szekvenciájának megismerése előtt) génjeink 2%-a kódol fehérje kinázokat (~1600 gén!) és ezek közül egy átlagos emlős sejtben mintegy ezer fajta lehet jelen.



13.19. ábra. Négy párhuzamos jelátviteli út közötti lehetséges kölcsönhatások vázlata. Az ábra a G fehérjéhez kapcsolt receptorokból és az enzimhez kapcsolt (katalitikus) receptorokból kiinduló jelátviteli út vonalakat mutatja be. Nyilak jelentik a jel továbbadását az út vonal következő komponensére. A végső reakciókban transzkripciós faktorok vagy enzimek aktiválódnak.

Mindez érthetővé válik, ha meggondoljuk, hogy egy humán sejtek rendkívül sok forrásból származó információt kell felfogni, feldolgozni és az információknak megfelelő sejtválaszt produkálni – osztódni, differenciálódni, tovább élni, programozott folyamat végén elpusztulni, anyagokat kiválasztani, összehúzódní, alakot változtatni, összekapcsolódni más sejtekkel és így tovább, sorolhatnánk még sejtválaszokat. Ezért néhány sejt belüli fehérjének integrációs készülékként (mint a mikrochip a komputerben) kell funkcionálnia a jelek kombinációinak feldolgozásában (13.20. ábra). Ezeknek a fehérjéknek általában több olyan aminosav-oldallánca van amelyek foszforilálódhatnak és az oldallánccokat más-más

kinázok tudják foszforilálni. Ezért aztán több jeltovábbító útvonal jelei egy fehérjén futnak össze és ez a fehérje alakítja egyetlen tovább menő jellé a szignálokat. Ezek az integrátor fehérjék természetesen több különböző effektor molekulát aktiválhatnak az adott foszforilációs állapotuktól függően. Így jöhetnek létre valóságos integrált hálózatok a jeltovábbító rendszerekből, amelyek rendkívül bonyolult biokémiai, fiziológiai folyamatokat tudnak szabályozni a sejtekben.



13.20. ábra. A szignalizációs útvonalak lehetséges integrációjának szemantik ábrázolása. Az (A) ábrán a két jelmolekula (A és B) két különböző fehérje foszforilációs kaskádát indít el. A két jeltovábbító útvonal végül is ugyanazt az Y fehérjét, de eltérő aminosavoldallancain foszforilálja. Az Y fehérje csak akkor aktiválódik, ha mindkét lehetséges oldallancán foszforilálva van, ekkor továbbadja a jelet egy újabb fehérje aktiválásával. A (B) sémán a két jeltovábbító útvonal különböző fehérjéket foszforilál, de a két foszforilált fehérje összekapcsolódik és egy aktív jeltovábbító komplexet alkot.

Természetesen nemcsak a fehérjék foszforilációja tudja befolyásolni egy adott fehérje működését, ismerünk más poszt-transzlációs fehérje módosításokat is mint pl: ADP-ribosiláció, acetilálás, adenilálás, glükózilálás, stb. Ezek a szabályozó elemek is mind részei a jeltovábbító rendszereknek.

Ezek fiziológiai szerepéről azonban még kevés ismeret áll rendelkezésünkre, minden bizonnyal jóval bonyolultabbá válik a jeltovábbító rendszerekről alkotott képünk, ha majd az ezekről a módosításokról nyert ismereteinket is beépítjük az ismert szignáltranszdukciós útvonalakba.

Összefoglalás

- Többsejtű élőlények sejtjei sokféle extracelluláris jelmolekula felhasználásával kommunikálnak egymással.

- A hormonokat a véráram elszállítja a távoli célsejtekig, azonban a legtöbb jelmolekula kis távolságban fejt ki a hatását. Szomszédos sejtek nagyon gyakran közvetlen kontaktusok kialakításával kommunikálnak.

- Az extracelluláris szignálok úgy fejtik ki hatásukat a célsejtekre, hogy receptor fehérjékhez kötődnek, azokat aktiválják. Mindegyik receptor egy specifikus jelmolekulát ismer fel.

- A receptorok jeltovábbító, jelátalakító készülékként működnek.

- A kis, hidrofób extracelluláris szignálmolekulák – mint a szteroidok, NO, stb. – szabadon átdiffundálnak sejtmembránon; ezek a molekulák intracelluláris receptorokat aktiválnak, amelyek gének expresszióját szabályozó fehérjék vagy enzimek lehetnek.

- A legtöbb extracelluláris jelmolekula nem képes átdiffundálni a sejtmembránon; ezek a sejtek felszínén található receptorokhoz kötődnek. Az aktivált receptorok konformációváltozásuk segítségével továbbítják a jelet a sejt belsejébe.

- A sejtfelszíni receptoroknak három fő típusa van: (1) ioncsatornához kapcsolt, (2) G fehérjéhez kapcsolt és (3) enzimhez kapcsolt (katalitikus) receptorok.

- A G fehérjéhez kapcsolt receptorok heterotrimer szerkezetű GTP-kötő fehérjéket, a G fehérjéket aktiválják. Ezek molekuláris kapcsolóként működnek, rövid ideig továbbítják a receptor felől a jelet a sejt belsejébe azután inaktiválják magukat a megkötött GTP GDP-re bontásával.

- Egyes G fehérjék közvetlenül ioncsatornákat aktiválnak a sejtmembránban. Mások enzimeket, pl. az adenilát ciklázát aktiválnak, megemelve

így a sejten belüli cAMP szintet. Megint más G fehérjék a foszfolipáz C enzimet aktiválják, amely további jelátadó molekulákat, az inozitolfoszfátot (IP_3) és a diacilglicerint hozza létre.

- Az IP_3 specifikus Ca^{2+} csatornák kinyitásával megemeli az intracelluláris Ca^{2+} szintet. A Ca^{2+} önmagában is további hírvivőként szerepel, sok fehérje aktivitását befolyásolja.

- A cAMP szint megemelkedése a protein kináz A enzimet, a Ca^{2+} és a diacilglicerin együttesen a protein kináz C enzimet aktiválja.

- A PKA és PKC specifikus célfehérjék szerin és treonin aminosav-oldalláncait foszforilálják, megváltoztatva azok aktivitását. Sejtípusonként változik, hogy milyen célfehérjék találhatók a sejtben.

- A G fehérjéhez kapcsolt receptorok stimulálása általában gyors és reverzibilis sejtválaszt vált ki.

- Sok enzimhez kapcsolt receptornak enzimatisz aktivitással rendelkező intracelluláris doménje van. Legtöbbjük fehérje tirozin kináz aktivitású, amelyeket többnyire növekedési faktorok aktiválnak; az aktív receptor meghatározott fehérjék foszforilálását katalizálja azok tirozin oldal-láncá(i)n.

- Az aktivált receptor tirozin kinázok egy intracelluláris, több fehérjéből álló ún. szignalizációs komplexet alakítanak ki a receptor sejten belüli doménje körül, ahhoz hozzákapcsolva a komponensek egy részét. Ilyen komplex aktiválhatja a kis GTP-kötő fehérjék családjába tartozó Ras fehérjét amelyik további kinázokat aktiválva egy jeltovábbító láncreakciót indít el, eljuttatva így a jelet a sejtmagba.

- A Ras fehérje hiperaktivitását okozó mutációk gyakran kimutathatóak különböző daganatokban.

- A különböző intracelluláris jeltovábbító útvonalak egymással kölcsönhatásba lépnek, lehetővé téve, hogy a sejt megfelelő választ produkáljon a különböző szignálok kombinációira.

AZ EGYEDFEJLŐDÉS BIOLÓGIÁJA

(Segédanyag a Genetika I/8. fejezethez. A nemi fejlődés problémáit illetően l. az eredeti szöveget!)

DIFFERENCIÁLÓDÁS SEJTSZINTEN

Egy faj adott génikus információkészlete alapján egymástól eltérő szerkezetű és működésű sejtek képződhetnek. Pl. a *Bacillus subtilis* főlös tápanyag jelenlétében pálcika alakú, csillók segítségével élénken mozgó sejteket alkot. A tápanyag megfogytatásával párhuzamosan a vegetatív sejtekben rövid, vaskos, ovális, vastagabb falú, önálló mozgásra képtelen, kedvezőtlen környezeti hatásokkal szemben igen ellenálló spórák fejlődnek ki.

DIFFERENCIÁLÓDÁS A SOKSEJTŰ SZERVEZET SZINTJÉN

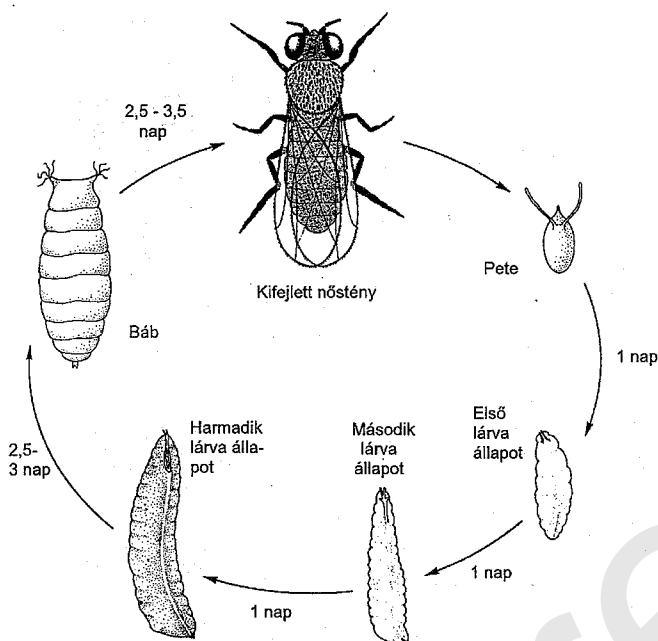
A zigótából – egyetlen sejt! – egymástól nagymértékben különböző szerkezetű és működésű sejtek keletkeznek. A kialakuló különbségek ebben az esetben is azonos genetikai háttér alapján úgy alakulnak ki, hogy más-más sejttypusban a gének más-más csoportja aktiválódik. A fejlődés folyamatát irányító gének termékei olyan DNS-sel kölcsönhatásba lépő fehérjék, amelyek más gének aktivitását képesek szabályozni. Ezek a gének kaszkádot alkotnak: a folyamat egyik szintjén aktiválódó gén terméke szabályozza a fejlődés következő stádiumához tartozó gén kifejeződését. A kifejlett szervezet kialakulása meghatározott program szerint megy végbe, melynek során fajlagos szabályozó gének meghatározott sorrendben és időben aktiválódnak, ill. inaktiválódnak.

A különböző fajok differenciálódási folyamatainak részleteire a sokszínűség jellemző, a fő vonásokat tekintve ugyanakkor meglepő azok hasonlósága. A hasonlóság nemcsak véletlen egybeesés. Az ide vonatkozó

kutatások azt bizonyították, hogy a magasabbrendű soksejtűek egyedfejlődését egy olyan, az evolúció folyamán konzerválódott gén-rendszer irányítja, amelyben a résztvevő gének nagyobb részének rokonsága, egymásból való leszármazása – DNS szekvenciáik hasonlósága alapján – az ecet-muslicától egészen az emberig nyomon követhető. Példaként említhetjük a *Drosophilában* azonosított *eyeless* gént, amely az **összetett szem** fejlődését indítja meg a megfelelő rovar-szelvényben. A gén csirke embrióba átültethető, és abban a **hólyagszem** fejlődését indítja el, akár az embrió olyan testtájain is, ahol az állatnak szeme nem szokott kialakulni. A differenciálódás folyamatának szabályozásával kapcsolatos tudományos felismerések egy része újkeletű, a 80-as, ill. a 90-es évekre esik. Jelentőségüket mutatja, hogy ennek a területnek a kutatói 1995-ben Nobel díjat kaptak.

A *Drosophila melanogaster* JELENTŐSÉGE

Az egyedfejlődés szabályozási folyamatainak részleteit molekuláris genetikai szinten jelentős részben az ecet-muslicán (*Drosophila melanogaster*) végzett kísérletekből ismerjük. Ennek oka részben hagyományos, részben technikai: ennek a fajnak a genetikai alkata ismert legrészletebben a soksejtűek viszonylatában, másrészt kísérleti körülmények között a faj igen könnyen kezelhető. Fejlődési ciklusát az 14.1. ábra mutatja.

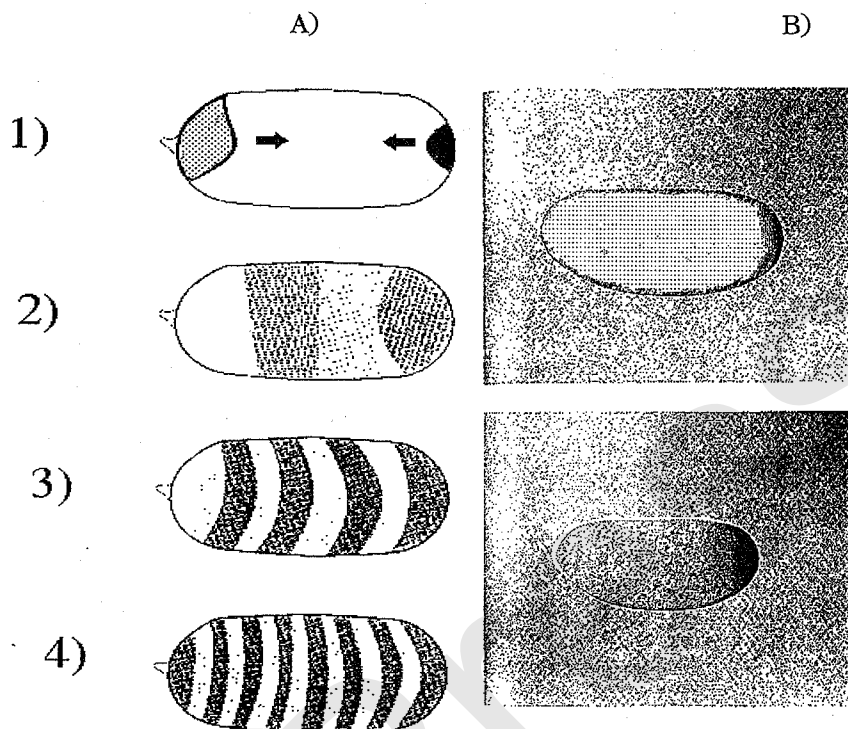


14.1. ábra. A *D. melanogaster* fejlődésének vázlata. A folyamat a petéből a lárv állapotokon keresztül az imágóig tart.

AZ EMBRIONÁLIS FEJLŐDÉS FŐ ÁLLOMÁSAI, ÉS AZOK SZABÁLYOZÓ GÉNJEI: ANYAI GÉNEK, ZIGOTIKUS GÉNEK, HOMEOTIKUS GÉNEK

1) A soksejtű szervezet fejlődése során a természet az ábrázoló geometria logikáját követi. Kijelöli a test hosszanti (fej-farok), kereszt irányú (hát-hasi), majd jobb-bal oldali orientációját (= tengelyeit, 14.2., 3. és 4. ábra). A folyamat már a megtermékenyülés előtt megkezdődik. Ezeket a korai folyamatokat természetesen a petében, ill. az azt körülvevő dajkasejtekben található ún. **anyai gének**¹ irányítják (14.4. ábra). A gének a fehérje termékeit, amelyeknek koncentráció-grádiensei közvetlenül meghatározzák az embrionális sejtek elhelyezkedését és további sorsát, **morfogének**nek nevezték el. Ne tévesszük össze a morfogént a génnel!

¹ Csak példaként említjük, ilyenek a *bicoid*, *nanos*, *torso*, valamint a *toll* gének.



14.2. ábra. *Testtájak és szelvények kijelölődése az ízeltlábúak petéjében*
 1. A) a feji és farki vég kijelölődése után a test előbb nagyobb testtájakra, majd mind nagyobb számú – kezdetben uniform szerkezetű – szelvényre tagolódik. B) A gének aktivitásának szabályozása úgy valósul meg, hogy az illető regulátor gén termékei (a mRNS, majd a fehérje termék) a citoplazmában koncentráció gradienst alkotnak.

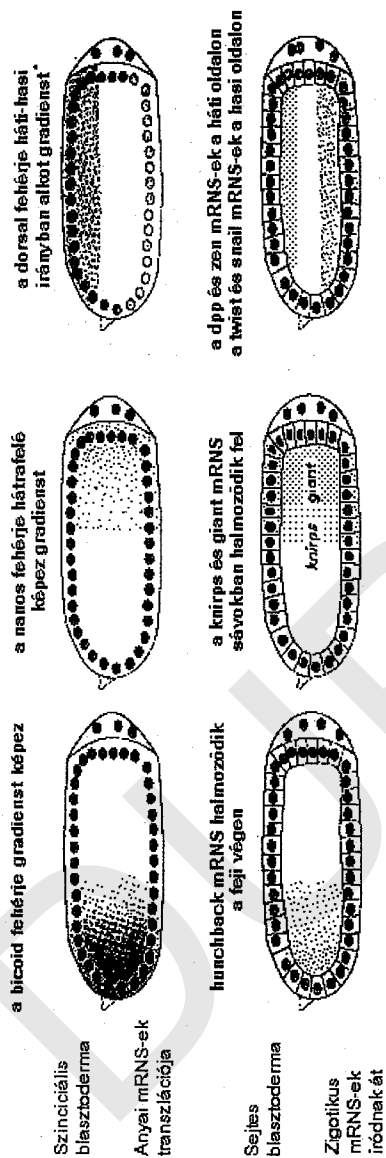
2) Ezt követően az embrió testének fokozatos szegmentációja, **szelvényeződése** indul meg (14.2. és 3. ábra; megintcsak példaként, az ide tartozó géncsaládok: a gap [*hunchback*, *Krüppel*], a pair-rule [*fushi tarazu*], és a segment polarity [*engrailed*] gének). **Zigotikus géneknek** nevezzük mindazokat a géneket, melyeknek expressziója a megtermékenyülés után indul meg.

3) Utána a szelvények egyediségének meghatározása következik, ami a különböző testtájak, szervek kialakulásához vezet. Ezt az **homeobox (homeotikus) gének** irányítják (14.8., 9. és 10. ábrák). A szervek, végtagok kifejlődését vezérlő homeobox géncsalád evolúciósan nagymértékben konzervált. Ez akkor is igaz, ha a különböző fejlettségű fajok egyedfejlődésének részfolyamatai igen nagy különbségeket mutatnak. Erre

példa, hogy a valódi szövetes állatok fejlődhetnek mind ún. *mozaik petékből* (férgek, ízeltlábúak), mind *regulációs petékből* (gerincesek).

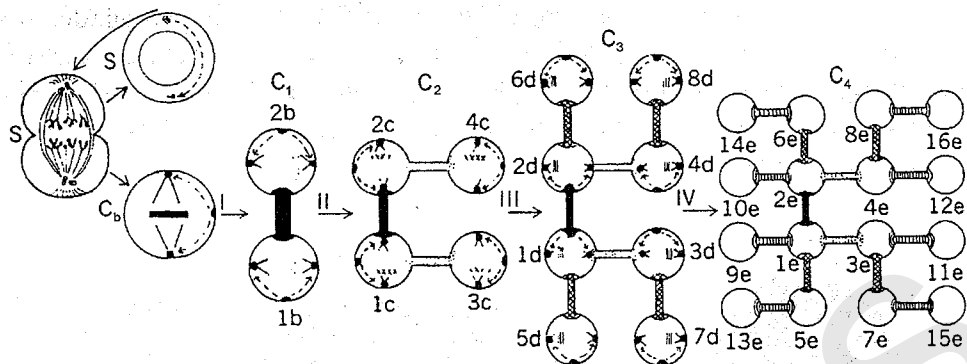
A PETÉK KÉTFÉLE TÍPUSA

– A férgeknek és az ízeltlábúaknak ún. **mozaik petéjük** van. Az ilyen peték citoplazmája már a megtermékenyítés előtt is heterogén, abban jelen vannak a leendő testtájakat kijelölő információk (14.5. ábra). A bennük lezajló sejtosztódások funkcionálisan inekválisak, a keletkező sejtek a magukkal vitt regulációs szignálokat realizálják. Egy-egy szervezdeményt alapító sejt további, adott lokalizációból kiinduló osztódásai vezetnek a szervek kialakulásához.

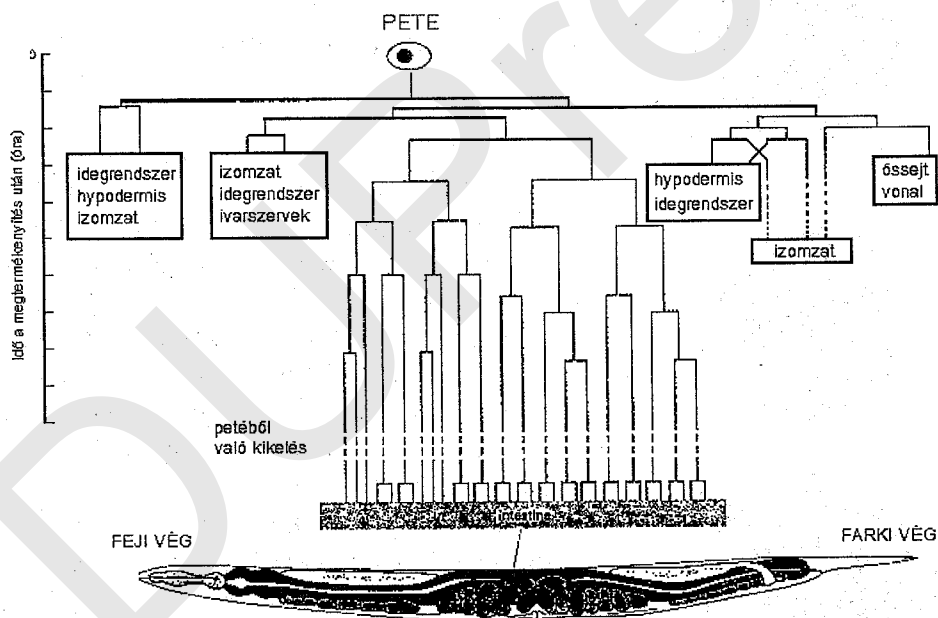


* a háti oldalon a citoplazmában, a hasi oldalon a sejtmagokban foglal helyet

14.3. ábra. *Testtájak és szelvények kijelölődése az ízeltlábúak petéjében II.* Az ábrán több anyai gén hatása van feltüntetve. Látható, hogy a különböző géntermékek a petének mind a hossz, mind a haránt tengelye mentén alkothatnak gradienst. Korai stádiumban a sejtmagok még a közös citoplazmában foglalnak helyet, az embrió csak később tagolódik különálló sejtekre.

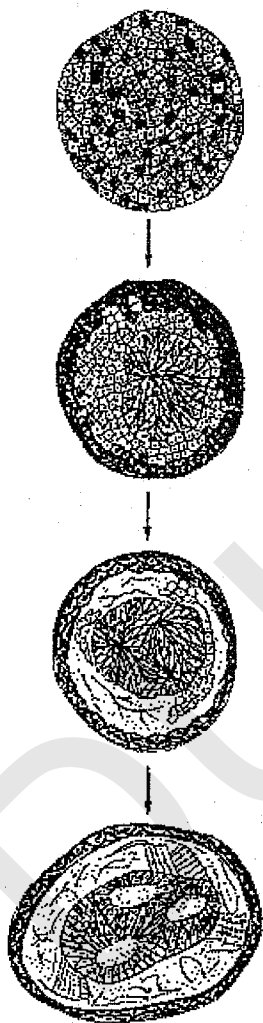


14.4. ábra. A pete kialakulásának folyamata *Drosophilában*. Az egymást követő osztódások után az "1e" jelű sejt lesz a petesejt. A sejteket összekötő citoplazma hidakon keresztül a géntermékek átjuthatnak egyik sejtől a másikba, a sejtek szabályozási szempontból is szoros kölcsönhatásban vannak egymással.



14.5. ábra. A *Caenorhabditis elegans* emésztőrendszerét felépítő sejtvonalak családfája. Vegyük észre, hogy a sejtek sorsát az határozza meg, hogy melyik sejtvonalból származnak. A fejlődő testben a sejtek lokalizációja is előre meghatározott.

– A gerincesek petéi ún. **regulációs peték**. Itt az egyedfejlődés folyamán az embrionális sejtek kiterjedt vándorlása megy végbe. A sejtek egyediségét fajlagos felszíni anyagok (pl. glikoproteinek) biztosítják. Ennek alapján a sejtek egymást felismerik, utólagos összetapadásuk vezet a szervek kifejlődéséhez (14.6. ábra).



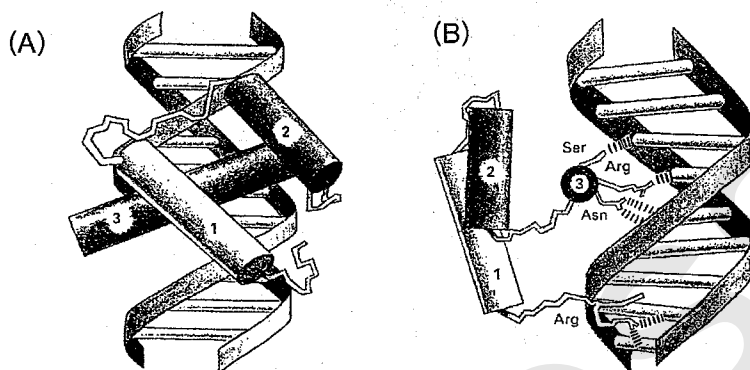
14.6. ábra. Regulációs petével rendelkező fajok embrionális sejteinek spontán kiválogatódása. Korai kétéltű embrió mezoderma, velőlemez és epiderma sejtjeit szétválasztják, összekeverik, majd spontán növekedni hagyják *in vitro*. A sejtek olyan alakzatba rendeződnek, amely emlékeztet a csíralemez képletek *in vivo* megfigyelhető elhelyezkedésére.

HOMEBOX ÉS HOMEODOMÉN

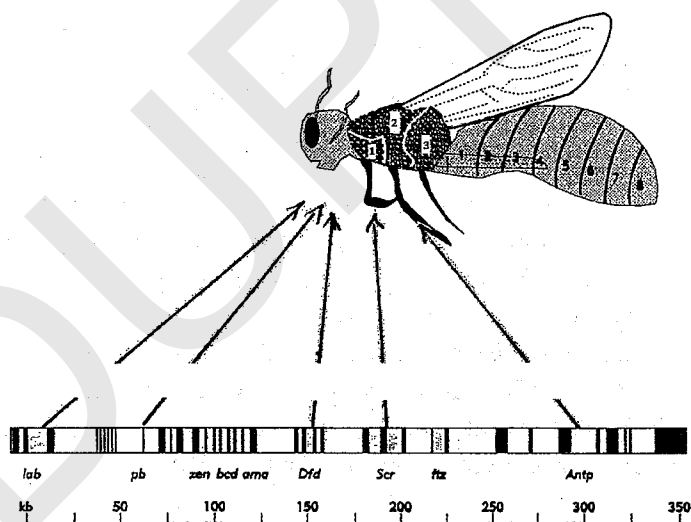
Azt, hogy a kezdetben uniform szelvényekben, hol milyen szerv fejlődése induljon meg, azt a zigótikus gének második nagy csoportja, az ún. **homeotikus gének**² döntenek el mintegy „nevesítve” az egyes szakaszokat (ahogy azt a bevezetőben említett *eyeless* gén esetén láttuk). Ezekben a génekben egy 180 bp hosszúságú, evolúciósan nagymértékben konzervált DNS szekvencia található. Ezt nevezik **homeobox**nak. Az általuk kódolt 60 aminosavnyi **homeodomén**nek is igen hasonlóak egymáshoz az egyes szabályozó fehérjékben. Ezek a fehérjék a DNS-kötő fehérjék családjába tartoznak, feladatuk egyéb gének aktivitásának szabályozása. Ez azt jelenti, hogy a differen-

² A „homoios” görögül hasonlót jelent, ebből származik összetételekben a „homeo-” alak.

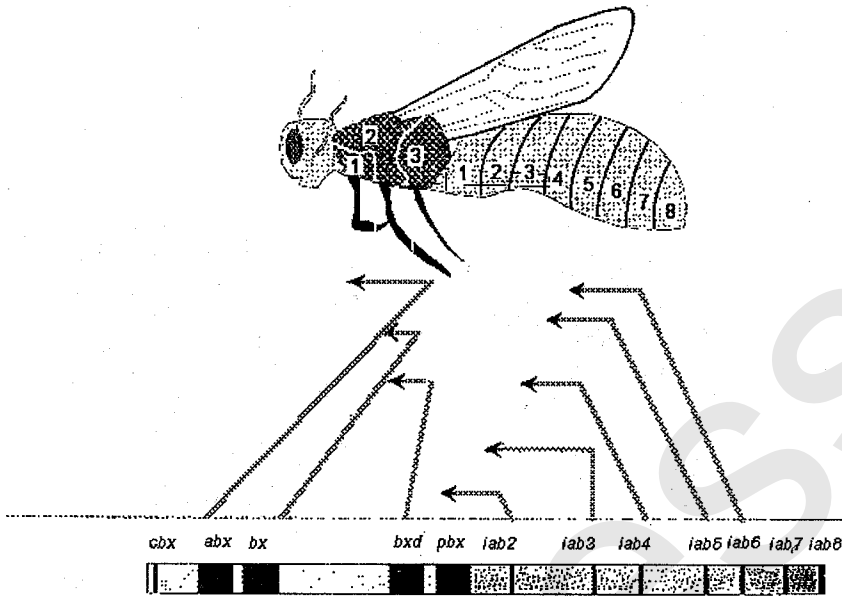
ciálódás folyamatának meghatározott stádiumában fejtik ki hatásukat, és a kifejlődött szervezet sejtjeiben rendszerint már nem mutathatók ki (14.7. ábra). (A gének aktivitás szabályozásának részleteit illetően l. 16. fejezet.)



14.7. ábra. DNS szekvencia fajlagos felismerésének sémája homeobox fehérje által. A fehérje homeodoménje 3 α -helikális régiót tartalmaz, amelyek közül a harmadik illeszkedik a dupla szálú DNS nagy barázdájába.



14.8. ábra. Az ANT-C gén-sor.

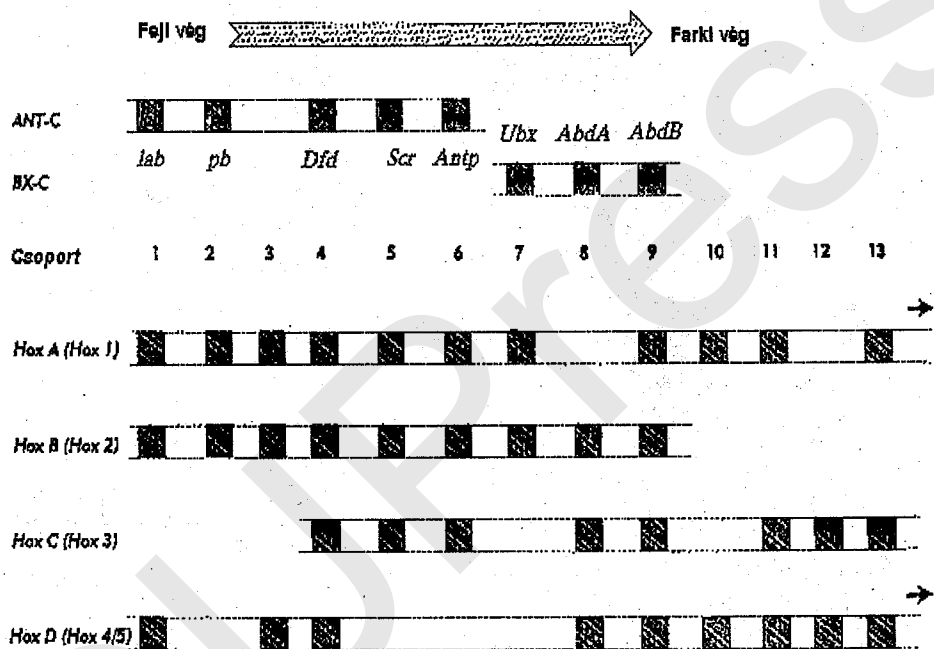


14.9. ábra. Az BX-C gén-sor.

A homeotikus gének a *Drosophila* kromoszómáin különleges szerveződést mutatnak. Két nagy sorozatot alkotnak, az ANT-C és a BX-C gén-sort (14.8. és 9. ábra). (Az ANT az "Antennapedia", a BX a "Bithorax" mutáns nevekből ered.)

Mindkettő a 3. kromoszómán található, de egymástól távol. A sorozatokon belül a gének sorrendje megfelel az általuk determinált testtáj hossz-tengely menti elhelyezkedésének, vagyis a sorozaton belül vonalmenti sorban egymás után következnek a fej, a tor és a potroh képleteit szabályozó gének, a potroh vége irányában haladva. Az ábrákon a nyilak jelzik, hogy mely gének melyik testtáj fejlődését irányítják. A gének átírása során ez a sorrend időrendiségként jelentkezik; a gének a fej, a tor, és potroh képletek fejlődésének megfelelő időrendben íródnak át RNS-be.

A testtájak, szervek fejlődését vezérlő homeotikus génsorozat az evolúció során nagy fokban konzerváltak mutatkozik. Gerincesekben is megtalálható, megtartván a fej-láb térbeli orientációt, valamint az expresszió időrendi szabályszerűségét. A gerincesek génjeit megkülönböztetésül Hox géneknek nevezzük. A génsorozatok között az ízeltlábúak és a gerincesek viszonylatában is jól felismerhető a nukleotid-sorrend homológia (14.10. ábra: az egyes gének szimbólumai szekvencia-, ill. funkcionális homológiájuk alapján kerültek egymás alá).



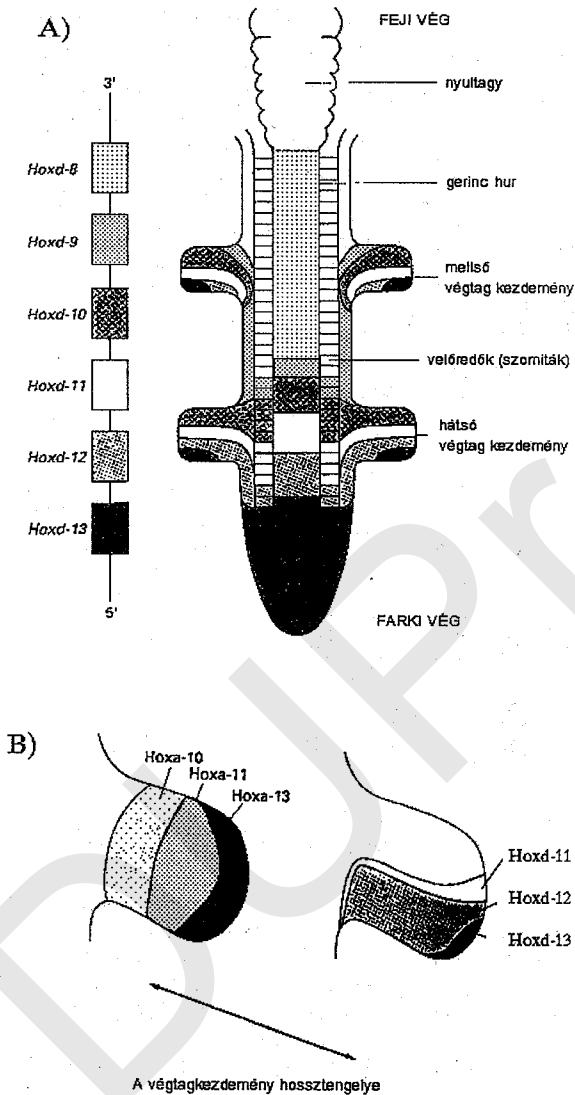
14.10. ábra. A gerincesek Hox génjei. A gerincesekben is találunk az ízeltlábúak homeobox génjeivel jól felismerhető szekvencia-homológiát mutató géneket. Az egérben és az emberekben pl. 4 ilyen gén-sorozat található 4 különböző kromoszómán. Ezek az ábrán Hox A, B, C és D jellel vannak ellátva. Az ábrán az egymással szoros szekvencia-homológiát mutató ízeltlábú, ill. gerinces eredetű géneket felül sorszámmal megjelölt, egymás alá eső négyesek szimbolizálják.

A homeobox és Hox gének között két lényeges különbség van:

- Az ízeltlábúak homeobox génjei két csoportra hasadva találhatók.
- A gerinces Hox gének egy-egy csoportot alkotnak, de többszörözöttek, négy sorozatot találunk belőlük, más-más kromoszómákon.

Ennek alapján a következő evolúciós események valószínűsíthetők: a homeobox gének először a jelenlegi ízeltlábúaknál egyszerűbb (férgek?) fajokban fejlődtek ki, még ősebb gének sokszorozódása révén, és kez-

detben a kromoszómán egyetlen sorozatot alkottak. Ebben a stádiumban ment végbe az ízeltlábúak és a gerincesek génjeinek szétválása. A szétválás után az ízeltlábúakban a homeobox gének két csoportra szakadtak, de funkcionális egységük megmaradt. A gerincesekhez vezető fejlődés során megmaradt a génsorozat vonalmenti folyamatossága, viszont maga a génsorozat többszöröződött.



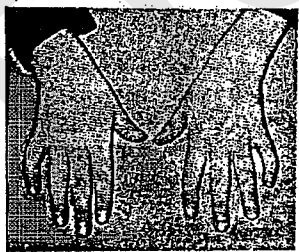
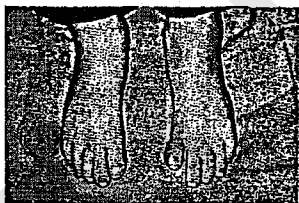
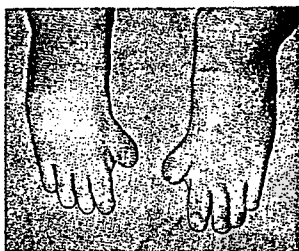
14.11. ábra. A *Hox D*³ 11-13 és *Hox A* 10-13 gének termékeinek megoszlása csirke embrió végtagok kezdeményeiben.

A Hox A, B, C, és D sorozatok tagjainak homológiája funkcionális értelemben is érvényesül. A 10-13. gének pl. mindegyik sorozatban a végtagok kialakulását vezérlik, hatásuk átfedő. Egy gén

³ Emberben ma már a Hox gének elhelyezkedése jól ismert: a HoxA a 7., a HoxB a 17., a HoxC a 12., a HoxD pedig a 2. kromoszómán található. A betű-jelölést azért célszerű fenntartani, mert más emlős állatokban (pl. egér) a kromoszóma szám természetesen nem azonos.

kiesése még rendszerint nem jelentkezik anatómiai rendellenességként. Ha ugyanazon számú gén mind több sorozatban mutált, fokozatosan súlyosabb fejlődési rendellenességet eredményez. Ha mind a négy sorozatból hiányzik ugyanaz a gén, a lábak teljesen hiányozni fognak. A funkcionális átfedés jellegét mutatja a 14.11. ábra. A Hox 10-13 gének termékei a végtagok fejlődését szabályozzák a gerincesekben. Mind a Hox D, mind a Hox A gén-sorozat termékei megjelennek a végtag-kezdeményekben. Figyelemreméltó különbség ugyanakkor, hogy míg a Hox D sorozat termékei a leendő végtag hossz tengelye mentén fejeződnek ki, a Hox A termékek ugyanazon végtag-kezdemények hossz tengelyére merőlegesen szaporodnak fel. Ez az elrendeződés logikus magyarázatot ad a több, de azonos szerkezetű kéz- és lábujj kifejlődésére a gerincesekben.

Hox GÉN MUTÁCIÓ EMBEREN



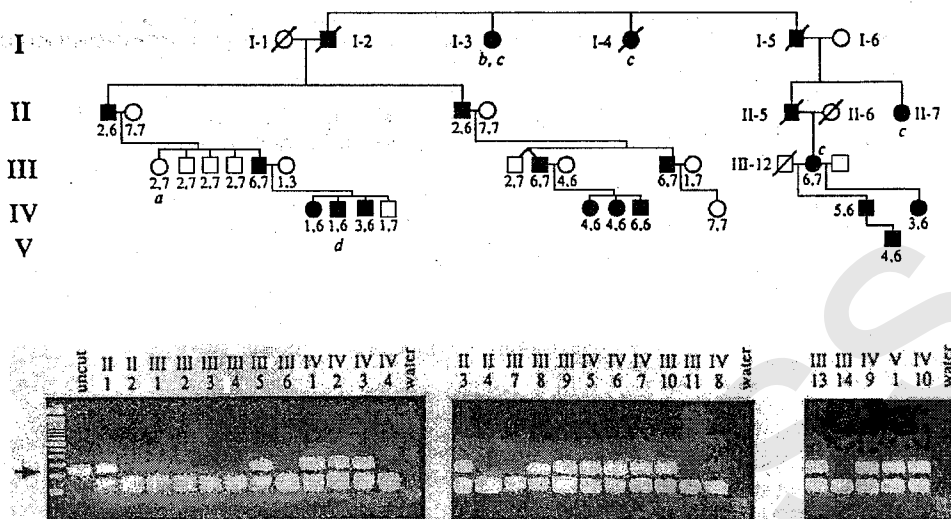
Emberen előforduló öröklődő rendellenesség a *hand-foot-genital* (HFG) szindróma. A 14.12. ábra ennek végtag-tüneteit mutatja be. A 14.13. ábrán látható családfa tanúsága szerint az elváltozás domináns öröklődésmenetet mutat és mindkét nembeli egyének érintettek. Molekuláris genetikai vizsgálati módszerekkel megállapítható volt, hogy a szindróma kifejlődéséért a Hox A 13-as gén lokuszán előforduló mutáció felelős. A lokuszon 7 különböző allélt találtak, melyek közül a 6. számmal jelölt allél felelős a HFG szindrómáért (**multiplex allélia!**). A 14.14. ábra mutatja, hogy a mutáció a homeobox fehérje 3. α -helikális régióját (l. 14.7. ábra) kódoló DNS szekvenciában létrejött pontmutáció; a triplettán tripletjében a 3. pozícióban

lévő guanin adeninre cserélődött, egy TGA triplett keletkezett, mely stop kodont juttat az mRNS láncába. Ezért a 6. allél terméke 20 aminosavval rövidebb lesz, DNS-kötő képessége csökken, ez felelős a kóros tünetek megjelenéséért.

↑ **14.12. ábra.** *Hand-foot-genital (HFG) szindróma.* Látható az ujjak – különösen a hüvelyk, ill. a láb öregujjainak – rendellenes fejlődése mind a kézen mind a lábon. Felül: a 14.13. ábra családfáján V-1-el jelölt beteg lábai. Középen és alul: a IV-3 beteg lábai és kezei. A végtag rendellenességek mellett nőknél jellegzetes a kétszarvú, vagy kettőzött méh jelenléte, férfiakon pedig a hypospadiasis (a húgycső kivezető nyílása a penis alsó felszínére toódik). A hibás allél esetében tehát jellegzetes **pleiotróp** génhatással állunk szemben.

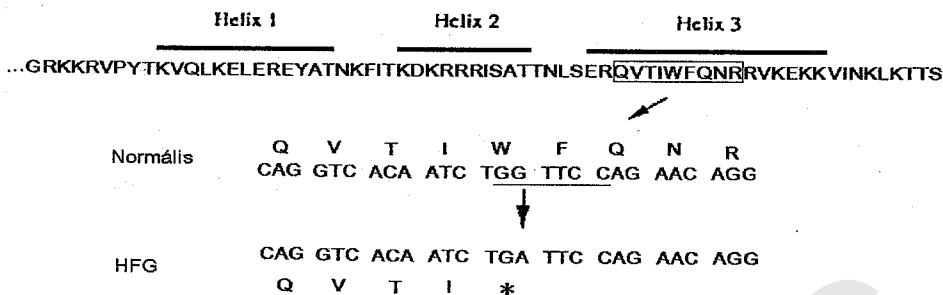
A testi tünetek vizsgálatán túl a diagnózis molekuláris szintű alátámasztását az **RFLP módszer** biztosítja (l. 18. fejezet). A páciensek DNS mintáiból homeobox szekvenciák alapján szintetizált **primer**-pár segítségével egy 249 bp hosszú fragmentumot amplifikálnak **PCR**-rel. Az amplifikált fragmentumokat *NlaIV* restrikciós endonukleázzal emésztik. A tünetmentes egyénekben található alléleket az enzim hasítja, a mutáns 6. allélt viszont nem (14.14. ábra).

Az elektroforézis eredményei egyértelműen mutatják, hogy a tünetmentes egyének mintáiban a hasítás után csak két rövid fragmentum van jelen (110 és 139 bp, melyek egy vastag csíkba összeolvadva látszanak). A jelleghordozóknál viszont, akikben a 6. allél jelen van megtalálható a hasítatlan 249 bp hosszú fragmentum (természetesen a rövidebb fragmentumokkal együtt, mivel a páciensek heterozigóták).



14.13. ábra. *Hox A 13. gén mutációjának (hand-foot-genital szindróma) öröklődése egy családban.* A ferdén áthúzott szimbólumok elhalt személyeket jelölnek. A szimbólumoktól balra álló számok a családtagok sorszámai a generációkon belül (nem mindenütt vannak feltüntetve). A szimbólumok alatti számok mutatják, hogy az egyes személyek hányas számú Hox A 13 allélt hordozzák.

Alul a családtagok DNS mintáiból PCR-rel amplifikált fragmentum *N/aI*V hasítása után elvégzett elektroforézis eredménye látható. Balról az első minta molekulaméret-marker: a leggyorsabban vándorló csík 100 bp, fölötte lévő 200 bp hosszú. Az „uncut” mintát az enzimmel nem hasították. A „water” jelű pályák a templát DNS nélküli kontroll PCR reakció eredményeit mutatják. A gél pályák fölött a családtagok generáción belüli sorszámai láthatók. (Vegyük észre, hogy a gél-pályák legtöbb esetben az illető családtag szimbóluma alatt találhatók. A III/9 személy leletei eltérnek a várttól, az elektroforézis tanúsága szerint hordozza a 6. mutációt, de klinikailag tünetmentes. Ennek a gén 100%-nál kisebb penetranciája lehet az oka.)



14.14. ábra. Normális és mutáns *Hox A 13*. gén homeoboxának részleges DNS szekvenciája. Felül a fehérje homeodoménjének aminosav-sorrendjét látjuk (egybetűs jelölési forma) a 3 α -helikális régió helyének megjelölésével. Az aláhúzott hexanukleotid az *Nla*I enzim felismerőhelye. Alul egy normális és a mutáns allél bekeretezett részletéhez tartozó nukleotid sorrend található. A normális allél triptofán TGG tripletje TGA-ra változik, s a restrikciós hasítóhely is megszűnik.

Összefoglalás

Az egyedfejlődés folyamán a fiatal, éppen osztódott sejtből, ill. a megtermékenyített petesejtből kialakul a fajra jellemző sajátságokkal bíró, szaporodóképes új egyed. A folyamatot differenciálódásnak is nevezzük.

A fejlődésnek induló egyetlen sejtből egymástól alakilag és működés szempontjából nagymértékben eltérő sejtek is létrejöhetnek. A különbségek az azonos genetikai háttér alapján úgy alakulnak ki, hogy más-más sejttypusban a gének más-más csoportja aktiválódik.

A magasabbrendű soksejtűek egyedfejlődését nagymértékben konzerválódott gén-rendszer irányítja.

Az egyed fő testtájainak (feji-farki vég, hát-hasoldal, jobb-baloldal) kialakulása már a megtermékenyítés előtt a petében megindul. Ezért az ún, anyai gének felelősek.

A test ezután (rendszerint a megtermékenyítés után) szelvényeződik. Ezt a folyamatot már zigotikus gének irányítják.

A szelvények egyediségét az homeobox (homeotikus) gének irányítják. A homeobox gének a DNS-en különleges elrendeződést mutatnak, vonalmenti sorban helyezkednek el, ahol a gének sorrendje megfelel az általuk determinált testtáj hossz tengely menti elhelyezkedésének. A gének átírása során ez a sorrend időrendiségként jelentkezik.

Az egyedfejlődés génikus szabályozásának konzerváltsága két vonatkozásban is jelentkezik. Jól felismerhető módon hasonlít egymáshoz mind a megfelelő homeotikus gének nukleotid sorrendje, mind azok térbeli elrendeződése ill. expressziójuk időbeli folyamata.

Lényegi különbség az ízeltlábúak és gerincesek viszonylatában, hogy az ízeltlábúakban egy (megszakított) homeotikus génsorozatot találunk, addig a gerincesek több (az ember pl. 4) génsorozattal rendelkeznek, melyek különböző kromoszómákon helyezkednek el.

A génsorozatok homológ tagjai ugyanazon testtájuk meghatározottságát egymást kiegészítő módon vezérlik, a 10-13. számú Hox gének pl. a végtagokét (14.11. ábra). A sorozatok többszörözöttsége jól magyarázza a több, azonos szerkezetű ujj megjelenését a végtagokon.

A Hox gének tanulmányozása lehetővé tette emberi fejlődési rendellenességek pontos molekuláris genetikai hátterének tisztázását. Kimutatható volt, hogy HFG szindrómában a kéz és lábujjak, valamint a genitális apparátus rendellenességei a Hox A 13-as gén pontmutációjának következményei; a génben egy guanin-adenin csere miatt stop kodon alakult ki, a mutáns homeobox fehérje lánc rövidebb, mint a normális allélról keletkező géntermék.

Tárgymutató

A

adenilát cikláz, 25
anyai gének, 51
apoptózis, 42
autokrin, 4

C

Ca^{2+} /kalmodulin-függő fehérje kináz, 30
 Ca^{2+} -függő fehérje kináz C, 33
CAM-kináz, 34
cAMP foszfodiestheráz, 26
cAMP válasz-szekvenciához kötődő fehérje,
CREB, 30
cAMP-függő fehérje kináz, 27
cGMP-foszfodiestheráz, 19
ciklikus AMP, cAMP, 25, 26
ciklikus GMP (cGMP), 13
CRE, 30
CREB, 30

D

diacilglicerol, 25

E

effektorok, 16
endokrin, szignalizáció, 4

F

fehérje kináz C, PKC, 30
foszfatidilinozitol, 25
foszfodiestheráz, 13
foszfolipáz A_2 , PLA_2 , 31
foszfolipáz C, PLC, 25, 31
foszfolipáz D, PLD, 31
foszfolipázok, 19
foszforiláz kináz, 29

G

GAP csoport, 39
G-fehérjékhez kapcsolt receptorok, 18
glikogén szintetáz, 29
GNRP, 39
guanilát cikláz, 13
G-fehérje, 14, 18, 20
GTP-kötő fehérjék, 16, 17

H

heterotrimer G-fehérjék, 18
hólyagszem, 50
homeobox (homeotikus) gének, 52
homeobox, 52, 56
homeodomén, 56
homeotikus, 56
homológ, 16
hormonok 4

I

idegi szabályozás, 5
inozitol foszfát, 25

J

jeltovábbítás, 3

K

kalmodulin, 34
kis GTP-kötő fehérjék, 16

M

multiplex alléla, 61
morfogén, 51
mozaik pete, 53

N

neurotranszmitterek, 5
nitrogén-monoxid, NO 12
nukleotid-cikláz, 19

Ö

összetett szem, 50

P

parakrin, 4
PCR, 62
PKC, 30
PLA₂, 31
PLC, 31
PLD, 31
pleiotróp, 62
primer, 62
protein kináz A, PKA, 27

R

Raf fehérje, 40
Ras homológ, 16
receptor deszenzitizálás, 20
receptor tirozin kinázok, 35
receptor, 5
regulációs pete, 56
RFLP, 62

S

Src-szerű tirozin kináz, 41
szelvényeződés, 52
szignalizációs kaszkád, 8
szignáltranszdukció, 3
szignáltranszdukciós rendszer, 7

T

tirozin foszfatáz, 35
Tyk2 kináz, 41

Z

Zigotikus gének, 52

DUPress