

1. Bevezetés

KOVÁCS L. GÁBOR

A fehérje mint az élet princípiuma

Az élő rendszernek inherens módon egységnek kell lennie, és biológiai anyagcserét kell folytatnia. Ez nem pusztán anyagok felvételét és leadását, valamint átalakítását jelenti, hanem azt is, hogy eközben a szervezet saját anyagait a rá jellemző arányokban, időben és térben előállítja, sőt akár gyarapíthatja is, miközben az anyagátalakítások kémiai energiával is ellátják. Az anyagátalakítások során a rendszer azokat az információkat is forgalmazza, amelyek a szabályozásához és önszerveződéséhez szükségesek. A sajátos módon szervezett biokémiai reakcióhálózatok egyes vagy sorozatos reakciói katalizáltak és szabályozottak. Az élő rendszernek stabilisnak kell lennie; vagyis reagálni kell tudnia környezetének ingereire, de ezenközben nem vesztheti el önazonosságát (*a homeosztázis folyamata*). Az élő rendszernek rendelkeznie kell olyan alrendszerekkel, amelyek a teljes rendszer keletkezése, létezése és működése számára hordoznak információkat. Ilyen az örökletes információt hordozó genetikai állomány, *a sejtek közötti kommunikáció* rendszere (főleg a hormonális és az idegrendszer), továbbá a sajátot az idegentől megkülönböztető önvédő rendszer (*immunrendszer*). Ez összetett feladatrendszer ellátásának egyik titka a fehérjékben rejlik.

A fehérje (protein) kifejezés a görög „protosz” szóból ered, jelentése az „első” az elemek közt. A fehérjék az élő szervezetet felépítő biomolekulák egyik meghatározó csoportját alkotják. Szerkezetükben az unikális és az univerzális elemek sajátos egyensúlya valósul meg. Így amellett, hogy pl. egyedi enzim-funkciókat látnak el, számos közös tulajdonsággal is rendelkeznek. A fehérjék valamennyi élő sejt számára az optimális szerkezet, a jó funkció, a növekedés, a működési zavarok helyreállításának elengedhetetlen eszközei. Fontos *biológiai szerepüket* jellemzi, hogy minden sejtben lejátszódó folyamatban részt vesznek. Számos fehérje enzimaktivitást mutat, azaz valamilyen biokémiai folyamat katalizátoraként segíti elő a sejt életben maradását. Fehérjék rendelkezhetnek

stabilizáló, szerkezeti funkcióval is. Ilyen a sejt alakjának kialakítása (aktin, mikrotubuláris sejtváza, intermedier filamentum), sejten belüli transzportfolyamatok lebonyolítása (dinein, kinezin, miozin), mozgatás (aktomiozin rendszer). Más fehérjék a sejt és környezete közötti információáramlás megvalósítása révén teszik lehetővé, hogy a sejt érzékeltudja a külvilág ingereit és reagálni tudjon rájuk. Összegezve, a fehérjék az élet nélkülözhetetlen tényezői.

A molekuláris biológia központi tétele a genetikai információ áramlását az élő szervezetekben a DNS-től az RNS-en keresztül a fehérjékig határozza meg. A legújabb technikák már alkalmasak arra, hogy az e biomolekulák közötti sokféle kölcsönhatásról és a genetikai információáramlás minden egyes lépcsőfokról, az azokat befolyásoló specifikus körülményekről, így a környezeti hatásokról és a stresszállapotokról információt szerezzünk. Közülük megemlíthetjük a genomikát, a transzkriptomikát, a proteomikát, valamint a glikomikát és a metabolomikát.

A fehérjék szerkezete, kémiai tulajdonságai

A fehérjék szerkezete és kémiája. A fehérjék *aminosavak* lineáris polimerjeiből felépülő szerves makromolekulák. Aminosavsorrendjüket a gének nukleotidszekvenciája kódolja a genetikai kódszótárnak megfelelően. Kialakításukban 20 féle „proteinogén” (fehérjealkotó) aminosav vesz részt, melyek az aminosav- és karboxilcsoportjaik között kialakuló peptidkötés révén kapcsolódnak egymáshoz. Egyes *polipeptid* kialakításában több ezer aminosav is részt vehet, míg azokat, melyek kevesebb (<50) aminosavból épülnek fel, *peptideknek* szokás nevezni, bár a peptid-fehérje megkülönböztetést elég lazán kezeli a tudományos nomenklatúra. A funkcióképesség megszerzéséhez vagy a megfelelő szabályozás érdekében gyakran találkozunk az aminosav oldalláncainak *utólagos (poszttranszlációs) módosításával*. A leggyakoribb módosítás a *foszforiláció*, melynek során a

fehérjére specifikus kináz enzim foszfátcsoporthoz he-lyez egy meghatározott Ser, Thr, Tyr, ritkábban His oldalláncra. A *glikoziláció* szintén gyakori jelenség, ebben az esetben oligoszacharid/monoszacharid lán-cok kapcsolódnak Asn, Ser, Thr láncokhoz. Az amid-és aminocsoportot tartalmazó aminosav-oldallancok között, transzglutamináz-reakció eredményeként, ki-alakulhatnak peptidkötést tartalmazó kereszthidak, mint pl. véralvadás vagy a tej megalvadása során.

Az *elsődleges* vagy *primer szerkezet* a fehérje *ami-nosavszekvenciája*. A fehérjelánc szintézisekor a leg-utoljára beépült aminosav karboxilcsoportjához kap-csolódik a következő aminosav aminocsoportja és így tovább. Így megkülönböztetjük a fehérjelánc „elejét”, a szabad aminocsoportot tartalmazó N-terminálist, valamint a „végét”, a szabad karboxilcsoportot tartal-mazó C-terminálist.

A *másodlagos* vagy *szekunder szerkezeten* a pep-tidgerinc hidrogénkötések által stabilizált lokális (legalább négy aminosavra kiterjedő) rendezettsé-gét értjük. Ezt a szerkezeti szintet a peptidsíkok egy-máshoz képest történő elfordulásával jellemezhetjük. E szerkezeti elemek legfőbb csoportjai a jobb- vagy balmenetes hélixek, a redők, a hurkok és a kanyarok; leggyakoribb az α -hélix, az antiparallel β -redő és a β -kanyar.

A *harmadlagos* vagy *tercier szerkezet* egy polipep-tidlánc teljes *térbeli konformációja*. Ezt a konformá-ciót mindenekelőtt a hidrofób kölcsönhatások stabi-lizálják. Egy peptidlánc tartalmazhat egyetlen vagy többféle másodlagos szerkezeti elemet, melyek ren-dezetlen szakaszokkal váltakoznak, de ismertek olyan fehérjék is, melyekből teljesen hiányoznak a rendezett szerkezetek, ezeket *natívan rendezetlen fehérjéknek* nevezzük.

Bizonyos fehérjéket több peptidlánc alkot, melye-ket ez esetben alegységeknek nevezünk (*negyedleges szerkezet*). A peptidláncok lehetnek azonosak vagy el-térőek, számuk általában nem haladja meg a nyolcat, de ismertek fontos kivételek: pl. egyes vírusok kap-szidja hatvan polipeptidből is állhat.

Egyszerű és összetett fehérjék. A fehérjéket osztá-lyozhatjuk összetételük alapján. Az *egyszerű fehérjé-ke*t csak aminosavak építik fel, hidrolízisükkor csak aminosavak képződnek. Az *összetett fehérjék* hidro-lizátuma egyéb alkotórészt is tartalmaz. Így lehet-

nek *metalloproteinek* (fémionokat tartalmaznak, pl. az alkohol-dehidrogenáz Zn^{2+} -t, a citokróm-oxidáz Cu^{2+} -t), *foszfoproteinek* (pl. kazein), *hemproteinek* (pl. hemoglobin, mioglobin, citokróm-c), *glikopro-teinek* (szénhidrát részt tartalmaznak, pl. γ -globulin), *lipoproteinek* (pl. β_1 -lipoprotein), *flavoproteinek* (pl. a szukcinát-dehidrogenáz) vagy *nukleoproteinek* (nuk-leinsavakat tartalmaznak, pl. a dohánymozaik-vírus és az atelomeráz enzim).

A fehérjék osztályozása funkciójuk alapján. A fe-hérjék sokféle funkciót töltenek be a szervezetben, ezek közül a fontosabbak: enzimek (pl. tripszin, cito-kró-m-c), transzportfehérjék (hemoglobin, hemocia-nin, szérumalbumin), védőfehérjék (lehetővé teszik, hogy a szervezet fertőzéssel vagy sérüléssel szemben védekezzék, pl. ellenanyagok, fibrinogén, trombin), toxinok (pl. kígyómérgek), hormonok (pl. inzulin, mellékvesekéreg-serkentő hormon: ACTH, növeke-dési hormon), struktúrfehérjék (a mozgáshoz szilárd vázat biztosítanak, és a külső védelmet szolgálják, pl. kollagén, elasztin, retikulin), motorfehérjék (a sejt-szervecskék, vezikulumok sejten belüli mozgatása a feladatuk, pl. aktin, miozin, kinezin, dinein), vala-mint tartalékfehérjék (az embrionális fejlődés zálo-gai, pl. ovalbumin).

Fehérjék az élő sejtben

A fehérjék szintézise. A sejt DNS-állományában bá-zispár-kombinációk formájában tárolt információ tulajdonképpen a 20 féle aminosav valamelyikét kó-dolja, 3 bázispáros szavakban. Egy-egy gén egy fehér-je tervrajzát tartalmazza. A transzkripció során ez a leírás egy közti molekula (mRNS) formájában mobi-lizálódik, és a genomból a fehérjeszintézist végző ri-boszómákhoz kerül, amelyek az mRNS-t tervrajzként használva legyártják a fehérjéket, az aminosavakat egyenként egymás mögé kapcsolva. A transzkripció helye a sejt DNS-állományához kötött eukarióták vagy valódi sejtmagosokban a sejtmag, a prokarióták, vagy sejtagnélküliekben a citoplazma.

Transzkripció. Az RNS-szintézist az RNS-polimeráz nevű enzim katalizálja („alternatív splicing”). A szin-tézis kezdetén a DNS kettős hélix szerkezete felnyí-

lik. Az RNS-polimeráz a DNS ún. értelmes szálához kapcsolódik, és megkezdí annak átírását. Ez az átírás a bázispárképzés szabályainak megfelelően megy végbe. A bázisok beépítéséhez ATP eredetű energia szükséges. A szintézis végén az RNS-molekula leválik a DNS-ről, és visszaáll a kettős hélix szerkezet. Ezután eukariótákban az mRNS a sejtmaghártya pórusain át a citoplazmába transzportálódik, prokariótáknál viszont már a transzkripció alatt úgynevezett riboszómák kapcsolódnak az mRNS-hez, és megkezdik a fehérjék előállítását. Egy-egy mRNS-hez egyszerre több riboszóma is kapcsolódhat, ami meggyorsítja a fehérjeszintézis folyamatát. Ezeket a képződményeket *poliriboszómáknak* nevezzük.

Aminosavak aktiválása. Az aminosavak aktiválása energiaigényes, a szükséges mennyiséget az ATP hidrolízise fedezi. Az aminosavak aminosavaktiváló enzimhez kapcsolódnak, mely kapcsolatba lép a tRNS-molekulával, végül az aminosav kapcsolódik a tRNS aminosavkötő helyére.

Transzláció. A riboszóma kisebbik alegysége kapcsolódik az mRNS 5' végéhez, majd ezután kapcsolódik a riboszóma nagyobbik alegysége is. A transzláció során a riboszóma (multienzim-komplex) határozza meg a szintézisben részt vevő molekulák térbeli elrendeződését, együtt tartja az mRNS-t és a növekvő polipeptidláncot, és a szintézis előrehaladásával folyamatosan továbblép az mRNS-en. A transzláció apparátusa a polipeptid képzésekor az mRNS-en 5'-3' irányban halad. Minden egyes aminosavnak 3-3 nukleotidból álló kodonja sorakozik egymás után az mRNS-en, amelyek a tRNS-eken található 3-3 komplementer nukleotidból álló antikodonnal párosodnak.

A transzláció első lépéseként az első aminosavat (a lánckezdő metionint) szállító tRNS kapcsolódik a riboszóma P- (peptidkötő) helyéhez, a következő aminosavat szállító tRNS pedig az A- (aminosavkötő) helyéhez. A P-helyen lévő metionin (majd később a polipeptid) és az A-helyre szállított aminosav között ATP-energia felhasználásával és enzimek segítségével peptidkötés alakul ki, ezután a kialakított peptidszakasz továbbitódik a peptid-kötőhelyre, a beépült aminosavat szállító tRNS szabadon leválik, a riboszóma továbblép az mRNS-en. A megfelelő ko-

don felismerése után az aminoacil-tRNS-ek egymás után kapcsolódnak a riboszómához, adják le az aminosavakat és így hosszabbítják a polipeptidláncot. A növekvő polipeptidlánc a riboszóma kis alegységéhez kapcsolódik.

A polipeptidlánc szintézisének végét az úgynevezett „*stop*”-*kodonok* határozzák meg. Három lánczáró kodon létezik: UAA, UGA, UAG. A terminációs kodonhoz egy release-faktor kapcsolódik (peptidil-transzferáz), amely képes a P-helyen lévő utolsó tRNS és aminosav közötti kötés hidrolízisére. Ezután a tRNS és a polipeptid távozik, majd megszűnik a riboszóma és az mRNS közötti kapcsolat, végül a riboszóma alegységeire hidrolizál.

A fehérjék felgombolyodása (folding). A fehérje gombolyodásának problémája, hogy a frissen szintetizált polipeptidlánc hogyan jut el abba a háromdimenziós szerkezetbe, amely biztosítja a biológiai rendszerben neki szánt funkció teljesítését. Bizonyos konformációs betegségekben félig felgombolyodott fehérjék vízben oldhatatlan aggregátumai rakódnak le a szövetekben. Az irodalomban publikált felgombolyodási vizsgálatok valójában az *újrágombolyodást* (*refoldingot*) tanulmányozták. A fehérjefelgombolyodás kísérleti tanulmányozására használt általános módszer a kémiai ágensekkel való denaturáció és az ezt követő hirtelen kihígítás, aminek következményeként a denaturáló kémiai ágens koncentrációja a kritikus alá csökken, így megindul a felgombolyodás. (A nyomás-denaturáció olyan új eszközt kínált, amellyel a kémiai ágenszt kiválthattuk.)

A fehérjefelgombolyodási vizsgálatok egyik fontos kérdése a feltekeredési útvonalon létrejövő köztes állapotok létezése volt. Számos kísérletet, ill. modellszámolást végeztek ugyanis annak bizonyítására, hogy a fehérjék feltekeredésük során köztes állapotokon mehetnek keresztül.

Posztiszintetikus módosítások. A polipeptidlánc a szintézis lezárultával további átalakulásokon megy keresztül. Ilyen átalakulás során kialakul a fehérje másodlagos szerkezete, az első (metionin) vagy első néhány aminosavat enzimek eltávolíthatják, vagy a láncot elvághatják, vagy különböző funkciós csoportok kapcsolódhatnak a lánchoz (foszfátok, lipidek, szénhidrátok).

A fehérjék lebomlása. A fehérjelebontás, az aminosavátalakulás különösen az emlősök szervezetében igen nagy jelentőségű. A táplálékkal felvett fehérjéket hidrolitikus enzimek első lépésben aminosavakra bontják. A peptidkötést bontó enzimek a proteázok. Az aminosavak aztán különféle átalakulási folyamatokban vehetnek részt, pl. az extracelluláris térből aktív transzporttal a sejtbe jutó aminosavak felhasználódnak fehérjék, peptidek bioszintéziséhez; az aminosavak részt vesznek egyéb nitrogéntartalmú vegyületek bioszintézisében (koenzimek, purin- és pirimidinvázis vegyületek, hormonok); dekarboxilezéssel biogén aminok keletkeznek; az aminocsoport lehasadása után szénláncuk a lipid- és szénhidrát-anyagcsere folyamatokba kapcsolódhat be (a citrátkörön keresztül); a sejtek ketosavaiból transzaminálással más aminosavak keletkeznek; az aminosavak egymásba alakulásukkal endogén aminosavak (nem esszenciális) szintézisében is részt vehetnek, ill. a lehasadó ammónia és szén-dioxid karbamiddá alakulva kiürül a szervezetből.

Az aminosavak dezaminálása. A legtöbb dezaminálás transzaminálási reakcióban valósul meg. Az ezt katalizáló enzim aktív centrumában piridoxál-foszfát (a B₆-vitamin származéka) van. Ennek aldehidcsoportja képes kapcsolatot létesíteni az aminosav aminocsoportjával. Ez víz hatására elbomlik, és ketosav lép ki a komplexből, míg az aktív centrumban piridoxamin-foszfát marad vissza.

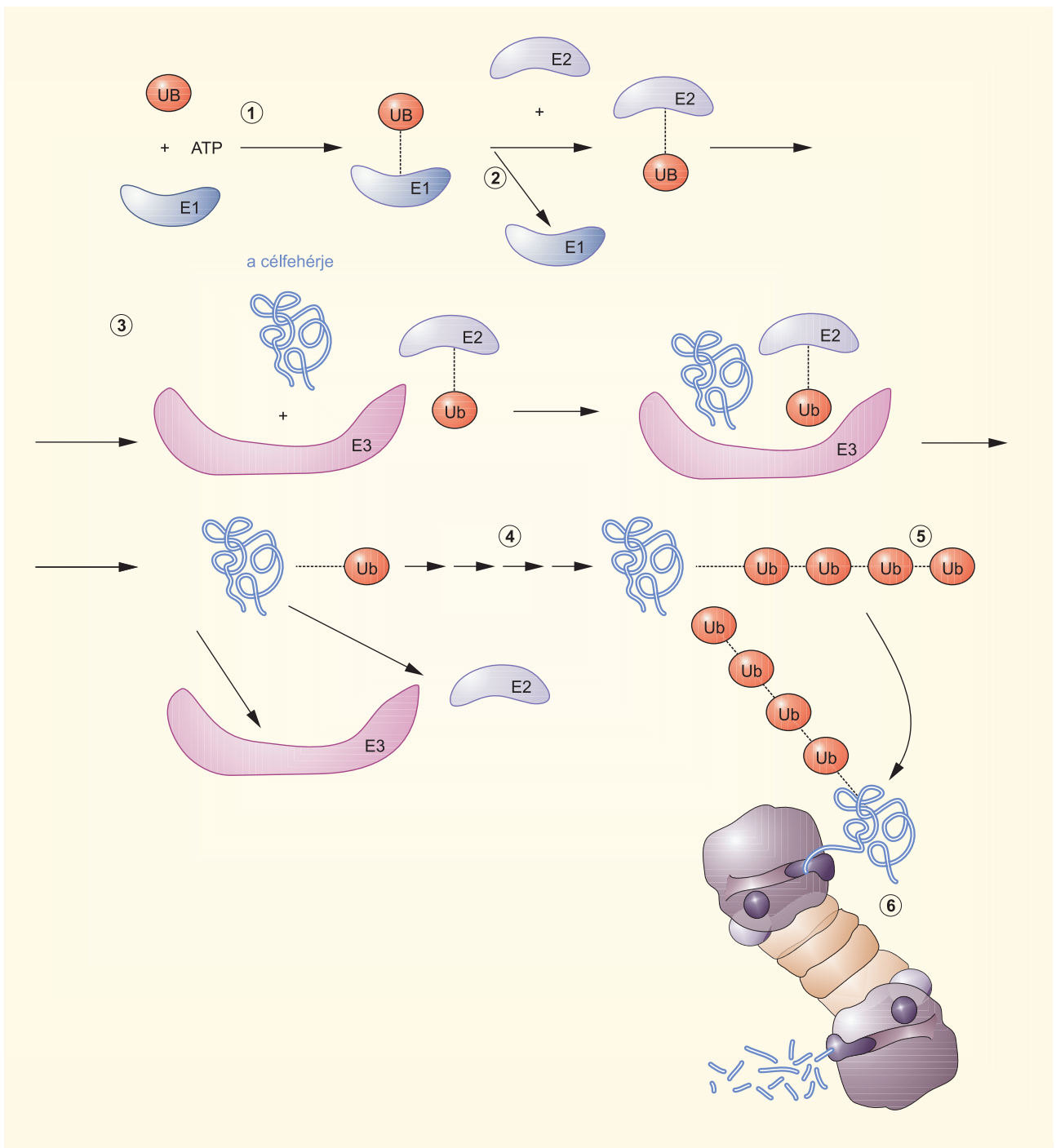
Oxidatív dezaminálás során ammónia keletkezik. A glutaminsav oxidatív dezaminálását katalizáló dehidrogenáz enzim jelentős szerepet játszik a folyamatban. Az aminocsoport eltávolításakor a NAD⁺ koenzim redukálódik, és egy könnyen hidrolizálódó iminosav köztiterméken keresztül α -keto-glutársav és ammónia képződik. Az ammónia karbamid formájában ürül ki a szervezetből.

Nem oxidatív dezaminálás során az ammónia mellett kettős kötést tartalmazó termék is létrejön. A dezaminálás során képződő szénlánc főként a citrátkörön keresztül alakul széndioxiddá és vízzé. Az

aminosavak hét fő intermedier molekulává (piruvát, α -keto-glutársav, szukcinil-KoA, fumársav, oxálcet-sav, acetil-KoA, acetoacetát) bomlanak le.

Az aminosavak dekarboxilezése. Az aminosavak a széndioxid kilépése után a megfelelő aminokká alakulnak. Az aminokat biogén aminoknak nevezzük, mert számos képviselőjük fontos biológiai funkciókat tölt be. Az aminosavak dekarboxilezését specifikus, piridoxál-5-foszfát koenzimmel működő dekarboxiláz enzim végzi. A hisztamin hisztidinből, a tiramin tirozinből, a triptamin triptofánból, a kadaverin a lizinből keletkezik dekarboxilezéssel. A glutaminsavból γ -amino-vajsav jön létre.

Az ubikvitinrendszer. Miközben a fehérjékkel kapcsolatos kutatások nagy része azzal foglalkozott, vajon hogyan jöhetnek létre a proteinek, addig a magyar származású AVRAM HERSHKO, a haifai Technion – Israel Institute of Technology munkatársa első kutatásai óta a lebomlás iránt érdeklődik. A fehérjék lebontásáról sokáig nem sok ismeretünk volt, néhány egyszerű proteinlebontó enzimről tudtunk mindössze. Ilyen pl. a tripszin, mely a vékonybélben bontja le az elfogyasztott ételekből származó fehérjéket. Ma már tudjuk, hogy a sejtek az ubikvitinrendszeren keresztül bontják le hibás fehérjeiket. Az újonnan létrejött proteinek 30%-a végzi a *proteaszóma* megsemmisítő gépezetében, ha nem jutnak keresztül a sejt szigorú ellenőrző rendszerén. Az ubikvitinrendszer hibás működése számos betegséghez, pl. rákhoz vezet. A szisztéma megismerésének orvosi jelentősége, hogy (többek között) bizonyos daganatos, immun-, idegrendszeri betegségek gyógyíthatók lennének, ha csak a káros fehérjék jelölődnének és bomlanának le. A Nobel-díjas eredmények ahhoz is hozzájárultak, hogy jobban megértsük az immunrendszer működését. Ezekkel az új ismeretekkel lehetővé vált annak megértése is, hogy a sejtek molekuláris szinten miként kontrollálnak számos fontos biokémiai folyamatot, mint pl. a sejtciklust, a DNS-újratermelést és a génmásolást (1-1. ábra).



1-1. ábra. Fehérjék lebomlása – az ubikvitin (UB) szerepe

1. Az E1 enzim aktiválja az ubikvitinmolekulát
2. Az E1 enzim átadja az ubikvitinmolekulát az E2 enzimnek
3. Az E3 enzim már képes felismerni a lebontandó fehérjét
4. Az E2 enzim közel kerül a fehérjéhez, és átadja az ubikvitint
5. Ez többször is megismétlődik, így ubikvitinlánc alakul ki
6. A proteasóma felismeri az ubikvitinláncot, és feldarabolja a fehérjét

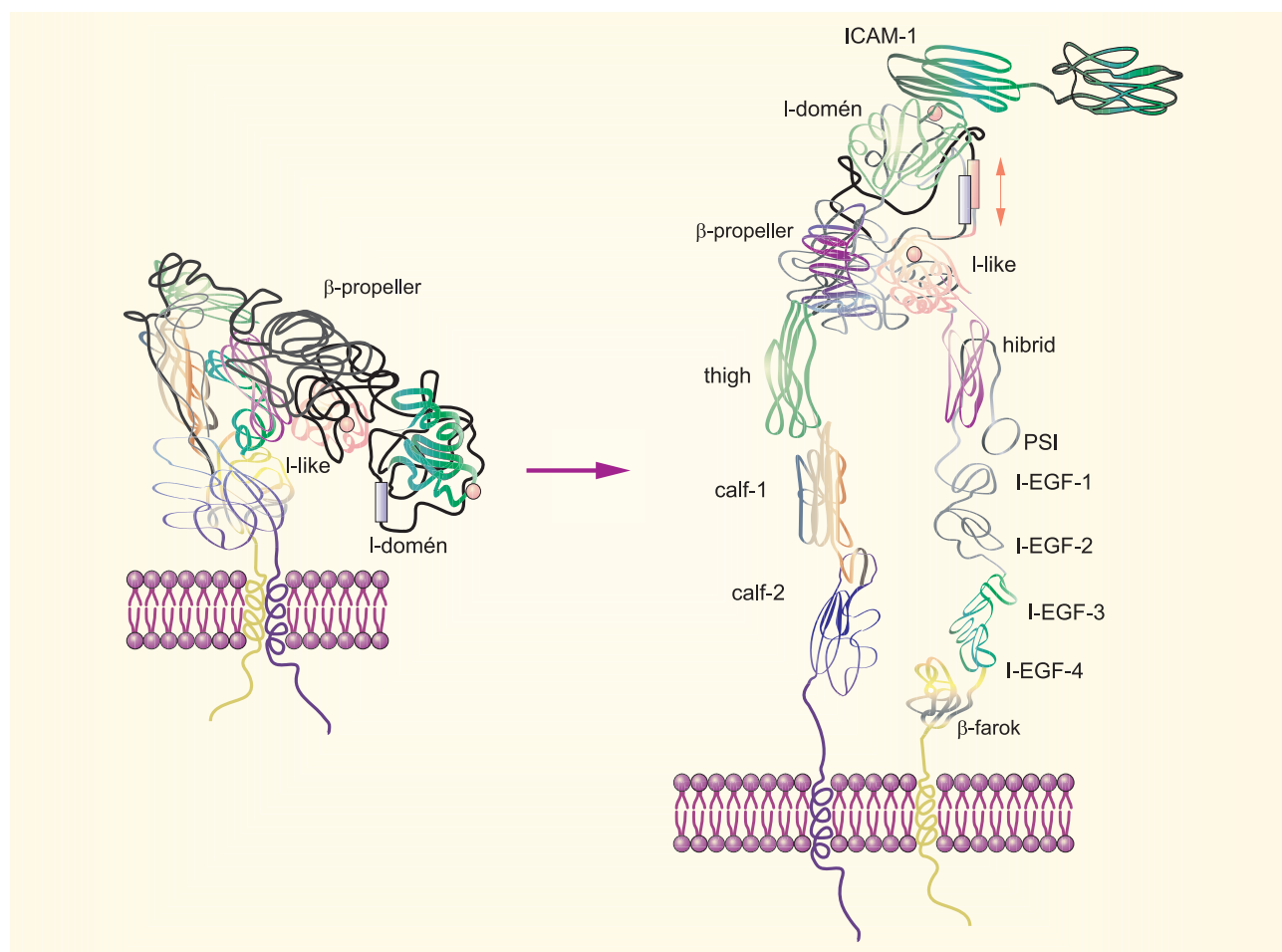
A fehérjék kölcsönhatásai

A fehérjék szerkezetét fenntartó kölcsönhatások alapvetően négy nagyobb csoportba oszthatók:

- Elektrosztatikus kölcsönhatások.
- Diszperziós erők.
- H-hidak.
- Hidrofób kölcsönhatások.

Mai értelmezésünk szerint a komplex biológiai rendszerek, pl. egy sejt alkotóelemei, sokrétű bonyolult és dinamikus kölcsönhatásban vannak egymással, és ezek a kölcsönhatások elektromágneses természetűek, elsősorban Coulomb-erőkre vezethetők vissza. A fehérjék mindig vizes közegben működnek, és maguk is jelentős mennyiségű (20–70%), felszínükön és üregeikben kötött vizet tartalmaznak. E hidrárburok

víz-molekulái integráns részét képezik a térszerkezetnek, és elengedhetetlenek a működéshez. A fehérjék különleges képessége, szerkezeti és funkcionális sokoldalúsága elsősorban annak tulajdonítható, hogy szemben a szilárd anyagokkal, amelyeket főként erős kovalens és ionos kötések tartanak egyben, és a folyadékokkal, amelyeknek részecskéi között gyenge másodlagos kötések hatnak, a fehérjékben e két kötés-típus kombinációjával találkozunk. Az aminosavak oldatát a sejt fehérjéitől az különbözteti meg, hogy a sejt működési körülményei között az aminosavak kovalens kötéssel, adott sorrendben láncba vannak rendezve. Ez a polipeptidlánc korlátozott flexibilitással rendelkezik, ami lehetővé teszi a térbeli gömbölyödést, felcsavarodást, a lánc nem szomszédos oldalláncainak közelkerülését. A nem-kovalens kötések közeli molekulák és molekularészletek között-



1-2. ábra. Sejt-sejt kapcsolatot kialakító fehérjék (pl. integrinek) aktiválódása során jellegzetes makroszkopikus szerkezet-változás következik be

(Rövidítések – EGF: epidermalis növekedési faktor; I: integrin; ICAM: intercelluláris adhéziós molekula)

ti töltéskölcsönhatások következményei. Egyenként kicsiny stabilizációs energiát jelentenek. Az étlettel összeegyeztethető hőmérsékleten, a hőmozgás következtében könnyen felhasadnak, de nagy számuk és együttműködő, kooperatív természetük miatt együttesen jelentős szerkezettrögztető, stabilizáló hatást jelentenek. Az ilyen, részben kovalens, részben másodlagos kötésekkel stabilizált szerkezetek, a fehérjék sok különleges, az élettelen világban ritka tulajdonsággal rendelkeznek. Legfontosabb sajátosságuk, hogy miközben jól definiált szerkezettel rendelkeznek, az óriásmolekulát alkotó atomhalmaz állandó, a hőmozgás által hajtott dinamikus fluktuációban van. Ennek folytán a térszerkezet nagyfokú flexibilitással is rendelkezik, könnyen képez komplexet egy nagyjából komplementer felülettel (egy másik, bonyolult makromolekulával), a kölcsönös adaptáció lehetősége révén (1-2. ábra).

Fehérjék mint enzimek (katalízis)

Az enzimek a szervezetben lejártszódó *folyamatok reakciósebességét növelő* anyagok. Az aktiválási energiát csökkentik, így az enzimeket biokatalizátoroknak tekinthetjük. Mint minden katalizátor, az enzimek is csak olyan folyamatok lejártszódását segítik elő, amelyek egyébként is végbemennének, de a reakció lényegesen lassabban járszódna le. Minden enzim fehérje, emiatt mindegyikre jellemző egy hőmérséklet- és pH-optimum. Az optimális pH rendszerint az 5–9 tartományba esik, de pl. a gyomorban termelődő emésztőenzim, a pepszin esetében 2 körüli. Az optimális hőmérséklet általában 36–40 °C környékén van. Magasabb hőmérséklet növeli a reakciósebességet, de ha túl magas, az az enzimek denaturálódását okozza. Az enzimfehérjék térbeli szerkezete az, ami lehetővé teszi a reagáló anyagokkal való kapcsolat kialakítását, azok megkötését. A fehérjék e részét nevezzük *aktív centrumnak*. Az enzimek specifikusak, csak egy adott vegyület (vagy vegyületcsoport, a szubsztrát) adott reakcióját katalizálják, azét a vegyületét, amely képes a kérdéses fehérje térszerkezetéből és energetikai viszonyából adódóan az enzimhez kapcsolódni az aktív centrumon. Az inhibitorok olyan vegyületek, amelyek az aktív centrumhoz kapcsolódnak, és ezzel megakadályozzák az enzim működését, irreverzibilis

gátlást okoznak. A kompetitív inhibitorok térszerkezete a szubsztráéhoz hasonló, ezért tudnak kapcsolódni az enzimhez. Hatásuk reverzibilis, nagyobb szubsztrátkoncentrációval leszoríthatóak. Bizonyos enzimeknek *aktivátorokra* van szüksége a működéshez. Ilyen aktivátorok lehetnek bizonyos kationok, pl. magnézium, cink, kalcium, kobalt. Az enzimek egy része egyszerű fehérje, ami önmagában is képes katalizátorként működni (*egyszerű enzimek*), más részüknek viszont szüksége van valamilyen kiegészítő anyagra (*összetett enzimek*). Ez lehet valamilyen szerves vegyület vagy fémion (gyakori pl. a cink), vagy valamilyen nem fehérje természetű anyag, pl. vitaminszármazék (a NAD⁺ és NADP⁺ molekulákban). Amennyiben erősen kötődik az enzimhez, *proszteitikus csoportnak* nevezzük. Gyakori azonban, hogy egy organikus vegyület csak lazán kapcsolódik, és könnyen leválik a fehérjéről, ezeket a szakirodalom *koenzimnek* nevezi. A koenzimek, fogalmazzunk így, „praktikusabbak” az élővilágban, ugyanis a nem fehérje természetű rész többféle fehérjéhez is képes kapcsolódni, így többféle enzim alkotójává válhat (pl. a NADH-t nagyjából 700 különböző ismert enzim használja). Koenzimek: NAD⁺, FAD, citokrómok, liponsav stb. A teljes, működőképes enzimet *holoenzimnek* nevezzük, ennek a fehérjerésze az *apoenzim*, a kapcsolódó nem fehérje rész pedig a *koenzim*.

A katalizált kémiai reakciók alapján is csoportosíthatók: transzferázok (kémiai csoport átvitele egyik vegyületről a másikra), oxidoreduktázok (oxigénfelvételt, hidrogén-, ill. elektronátvitelt katalizálnak), hidrolázok (hidrolitikus bontás), izomerázok (izomerképződés elősegítése), ligázok (bioszintézisek katalizálása kovalens kötések létrehozásával), liázok (nem hidrolitikus bontás). Az enzimek nem csak a zsírok, a fehérjék és a szénhidrátok lebontásában (emésztés) vesznek részt, hanem építő folyamatokban is. Az immunrendszer működésében is több szinten is szerepet játszanak: egyrészt a bőr felszínén nem csak a savköpeny igyekszik a támadó kórokozókat elpusztítani, hanem az ott lévő enzimek is károsítják azokat és toxinjaikat. Ezek a védő enzimek a testnyílásoknál is megtalálhatók (pl. a lizozim a nyálban, a könnyben, a légutakban). Másrészt a szervezetbe mégis bejutott kórokozók elpusztításában is aktív szerepük van azok burkának feloldása, „kilyuggatása” által.

Fehérjék szerepe a struktúraalkotásban

Az eukarióta sejtben a sejtet kívülről borító plazmamembránon kívül vannak belső sejtmembránok is; melyek egy része nem kerül kapcsolatba, de egy részük érintkezhet, összeolvadhat a plazmamembránnal, ill. leválhat arról (exocitózis, endocitózis). Az egyik legfontosabb ilyen belső sejtmembránrendszer az *endoplazmatikus retikulum (ER)* membránrendszere a citoplazma belső, a sejtmaghoz közelebbi részében. Ez a membránrendszer közvetlen fizikai érintkezésben van a sejtmag maghártyájával; a maghártya két membránlemeze közötti tér az endoplazmatikus retikulum üregrendszerében folytatódik. Az endoplazmatikus retikulum membránjaiban található a sejt bioszintézisét végző enzimek nagy része, vagyis az ER membránjai a sejt szintetizáló rendszerét adják. Itt képződnek az új lipidmolekulák, így a membránok foszfolipidjei is. Az ER membránjaihoz kapcsolódhatnak riboszómák, melyek a citoplazmatikus fehérjeszintézis helyei. A riboszómák ide speciális helyeken és sajátos mintázatban kapcsolódnak; emiatt az ilyen ER elektronmikroszkópban szemcsés vagy durva felszínűnek tűnik. A *durva felszínű ER* riboszómái szintetizálják azokat a fehérjéket, amelyeket a sejt „exportra” termel, vagyis melyek végül exocitózissal ki fognak jutni a sejt külső felszínére, vagy el is hagyják a sejtet. Az ER másik típusának membránján nem találhatók riboszómák, ezért az elektronmikroszkópban *sima felszínű*. A sejt saját használatra szánt fehérjéit a citoplazmában szabadon található riboszómák termelik.

A másik fontos belső membránrendszer eukarióta sejtben a *Golgi-készülék*, mely voltaképpen egymásra rétegzett lapos membránzsákokból áll. Ez a 4-5 membránzsák kissé ívben meg is hajlik, az íve „szája” leginkább a sejtmag felé található, domborulata meg a plazmamembrán felé néz. Ez a membránrendszer kapcsolatban van az ER membránrendszerével olyan módon, hogy az ER kötött riboszómái által termelt fehérjék bejutnak az ER üregébe, majd ott benn megkezdik átalakulásukat: egyes darabjaik lehasadnak, egyes aminosavaikhoz szénhidrátok vagy azok rövidebb-hosszabb láncai kapcsolódnak, majd a módosult fehérje transzportálódik az ER membránjainak széli hólyagocskáiba. Itt azután kis hólyagocskaként lefűződnek az ER-ről, bennük az exportra szánt fehérjékkel. Ezek a kis citoplazmatikus, membránnal

körülvevett hólyagocskák azután átalakulhatnak *lizoszómává*, ha a megfelelő fehérjék és enzimek vannak bennük és a belsejük megsavanyodik; ekkor a sejt anyagain, ill. a sejt által a külvilágból felvett makromolekulákat fogják lebontani. A lizoszómák tehát az eukarióta sejtekben a sejten belüli emésztés helyei. A membránnal körülvevett kis citoplazmatikus hólyagocskák másik része eljut a Golgi-készülék membránjaihoz, és a sejtmaghoz közeli membránzsákokba beleolvad. Ezáltal a bennük levő fehérjék is a Golgi-készülék membránzsákjaiba kerülnek. Az azokban lévő enzimek újabb átalakításokat végeznek a fehérjéken, elsősorban újabb szénhidrátláncok kapcsolódnak hozzájuk. Ezek a glikoproteinek vagy mukoproteinek fognak kapcsolatba lépni a sejtet borító plazmamembránnal. A Golgi-készülék külső membránzsákjaiból a megváltozott fehérjék és foszfolipidek szintén kis hólyagocskákba csomagolódnak, melyeket most *szekrétációs vezikulának* neveznek. Ezek tartalma a plazmamembránon át exocitózissal ürül ki a sejtből. A szekrétációs vezikula membránja már össze tud olvadni a plazmamembránnal, az összeolvadás helyén a plazmamembrán felszakad, így a belső tartalom a sejten kívülre kerül. A szekrétációs vezikula membránja teljes felszínével a plazmamembrán felületét növeli. A kijutott anyagok egy része megkötődik a plazmamembránban, ezért találunk annak külső oldalán szénhidrátláncokat hordozó gliko- és mukoproteineket, glikolipideket. A kijutott anyagok egy másik részét egyes sejtek el is engedik, így azok a sejtek közötti térbe kerülnek. A szekrétációs vezikulának a plazmamembránnal való összeolvadását (fúzióját), a vezikula tartalmának kiürülését és a plazmamembrán felületének megnagyobbodását és anyagainak eme gyarapodását nevezik *exocitózissnak*. Ezzel az aktív, membránmozgással járó folyamattal a plazmamembránon egyébként átjutni nem tudó makromolekulák és makromolekuláris oldatok is ki tudnak jutni a sejtből.

Hasonló, de ellentétes irányú folyamat az *endocitózis*, amellyel makromolekulák és oldataik is be tudnak jutni a sejtbe. Ekkor a felveendő makromolekula a plazmamembránon speciális receptorához kötődik, a plazmamembrán elkezd alatta gödörre mélyülni, majd hólyagocskát (vezikulát) formálva magába zárja a makromolekulákat, Ezt követően a membránnal körülvevett hólyagocska levál a plazmamembránról, és a keletkezett *endoszóma* vagy *fagoszóma* a citoplaz-

mába süllyed. Ez az endocitotikus folyamat természetesen csökkenti a plazmamembrán felületét.

Fehérjék szerepe a transzportfolyamatokban

A membrántranszport-fehérjék (*transzporterek*) olyan membránfehérjék, amelyeknek szerepe van ionok, kis molekulák, makromolekulák (pl. másik fehérje) szállításában a biológiai membránokon keresztül. A fehérjék az anyagszállításban facilitált diffúzió vagy aktív transzport segítségével működhetnek közre. Ezeket összefoglalóan *karriermediált transzportnak* nevezzük. A facilitált diffúziót elősegítő fehérjék energia felhasználása nélkül, csak az elektrokémiai gradiensnek megfelelő irányban hatnak közre az anyagok szállításában. Az anyagszállítás magas specifikitású pórusok vagy csatornák mentén megy végbe. A membrántranszport-fehérjék számos családját ismerjük élettani vagy betegségekhez kötődő szerepük révén (pl. karioferin, mitokondriális membrántranszport-proteinek, ATP-binding cassette transzporterek, CD36, neurotranszmittertranszporterek, iontranszporterek). A vezikuláris transzportproteinek transzmembrán vagy membránasszociált fehérjék. Elősegítik a vezikulák transzportját. Kiterjedt csoportjaik: archain, ARF-ek, klatrin, kaveolin, dinamin, Rab proteinek, nexinek, szinaptotagmin.

Sejtek és fehérjék

Minden sejt önfenntartó működésre is képes. Tápanyagait energiává tudja alakítani, speciális funkciókat képes végrehajtani, ha szükséges, meg tudja önmagát ismétetni (osztódás). Őrzi magában a lehetőséget saját maga kivitelezésére és reprodukálására. A sejtek számos képességgel rendelkeznek: osztódás, anyagcsere lehetősége, beleértve a tápanyag-felhasználást, az energia átalakítását, molekulák, vegyületek létrehozását. A sejt működése függ képességeinek kihasználásától, amit a tárolt kémiai anyagok felhasználásából nyer. Ez lehet nukleinsav- és fehérjeszintézis, funkcionális sejtrészek szintézise, mint az enzimek. A tipikus emlőssejtek közel 10 000 különböző fehérjét tartalmaznak. A sejt reagál a külső és belső változásokra, mint pl. a hőmérséklet vagy a pH megválto-

zására. Transzportfolyamatai vannak, környezetével dinamikus kölcsönhatásban van. Minden sejt állít elő fehérjéket élete során. Ezekre vagy a sejt felépítéséhez van szükség (szerkezeti fehérjék), vagy pedig valamilyen biológiailag aktív funkciójuk van: enzimek, szállítómolekulák, ingerületátvivő anyagok. A fehérjék keletkezéséhez szükséges kódot a sejtmagban található örökítő anyag, a DNS hordozza. Innen az információt a hírvivő RNS (mRNS) szállítja el a fehérjeképződés helyére, a sejtmagon kívülre, a riboszómákhoz. Ide fut be az összes információ és a fehérjék képződéshez szükséges alapanyagok. A hírvivő RNS belép a „fehérjegyárba”, elfoglalja dokkolóhelyét, és várja a riboszómában dolgozó enzimeket, hogy elvégezzék feladatukat.

A sejtek anabolizmusa és katabolizmusa

Az anyagcsere (metabolizmus), bonyolult vegyi folyamat, amely minden élő állati és emberi sejtben szakadatlanul, éjjel-nappal végbemegy. Minden élő sejt táplálkozik: anyagokat vesz fel. Az egysejtű állat ezeket közvetlenül a környezetéből veszi fel. A sejtek milliárdjai, amelyek az emberi test különféle szöveteit és szerveit alkotják, a hajszálerek véréből kapják a szükséges anyagokat oldott vagy igen finoman elosztott állapotban. Keringő vérünk két helyen, a tüdőben és a vékonybélben pótolja a sejtek milliói által elfogyasztott anyagokat: a vér a tüdőben az oxigént, a vékonybél bolyhai útján pedig a különféle anyagok hosszú sorát veszi fel. A felvett anyagok nagyjából a következőképpen csoportosíthatók: oxigén, víz, sók, szénhidrátok, egyszerű és bonyolult zsírok, zsírszerű anyagok, lipoidok, egyszerű és összetett fehérjék, ill. egyéb szerves anyagok, amelyekből igen kis mennyiségekre van szükségünk. Ide tartoznak az enzimek, a hormonok, a vitaminok stb.

Anabolikus folyamatok. Építő folyamatok: a sejt a saját testét tovább építi, nő. A felvett egyszerűbb, fajidegen anyagokból a saját fajára, egyéniségére és szöveteire jellemző bonyolultabb anyagokat készít. Az állati és az emberi sejtek asszimilációs tevékenysége sokkal kisebb mértékű, mint a növényeké. A növények a föld szervetlen anyagaiból és a levegő széndioxidjából a legbonyolultabb szerves vegyületeket képesek felépíteni, miközben az állatoknak és az em-

bernek a bonyolult szerves vegyületeknek legalább is az építőtégláit készen kell kapnia. Ezeket kívülről, a táplálékkal veszik fel. A fehérjemolekula pl. 20 építőtéglából (aminosavak) van összerakva, melyek sorrendjének változtatásával sok millió különféle fehérje állítható elő.

Katabolikus folyamatok. A katabolizmus révén a felvett anyagokat véglegesen elhasználjuk. 1 g cukor 4,1 kilokalóriát, 1 g zsír átalakulása 9,3 kilokalóriát ad. Ez az átalakulás fűti testünket és biztosítja állandó hőmérsékletünket. A katabolizmus nem csak hőt termel, de minden működésünknek energiaforrása. Ha testünket kizárólag szénhidráttal és zsírral lehetne energiával ellátni, akkor csak kétféle bontási termék volna: szénsav és víz. Az állati és az emberi testet azonban nem lehet kizárólag szénhidráttal és zsírral táplálni. Fehérje is kell hogy energiaforrásként szerepeljen. Bizonyos minimális fehérjemennyiség nélkül az ember elpusztul. A fehérjemolekulában szénen, hidrogénen, oxigénen kívül nitrogén és kén is van, valamint vannak foszfort és fémionokat is tartalmazó fehérjék is. A fehérjét a szervezetünk nem tudja tökéletesen elbontani, a különféle fehérjebontási termékek egész sora keletkezik. Ilyen az urea, a húgysav, a kén- és foszfortartalmú vegyületek stb. Ezek mind a vesén át vizelet alakjában távoznak. 1 g fehérje fűtőértéke 4,1 kg kalória, vagyis ugyanannyi, mint a szénhidráté. A bontási folyamatok végtermékeitől (szénsav, víz, vizelet-alkotórészek) a szervezetnek meg kell szabadulnia. A katabolizmus, ha nem pótoljuk az elhasznált anyagokat, a testsúly fogyására vezet. Az éhezõ ember napról napra veszít súlyából, soványodik. Az anabolizmus és a raktározás viszont súlynövekedéssel, erősödéssel, hízással jár.

Az emberi szervezet és a fehérjék

A *humán genom* első nyers szekvenciájának közzététele több szempontból is nagyon fontos eredmény volt. Az előzetesen vizsgált kisebb genomokhoz képest a humán genom körülbelül 25-ször nagyobb és hétszer több információt tartalmaz, mint az ezt megelőzően ismert összes genom együttvéve. A legmeg-

lepőbb eredmény talán az, hogy a gének számát az első adatok alapján 30–40 ezerre becsülték (ma inkább 20–22 ezernek tartják). Ez a szám jóval kisebb a vártnál, és mindössze kétszerese, mint amennyit a muslincában meghatároztak. Hol van hát a humán funkciók komplexitásának genetikai háttere? A komplexitás titka feltehetően nem a gének számában, hanem a gének által meghatározott fehérjék összerakási módjában van elrejtve. Feltehetően a gerincesekben és különösen az emberben igen fontos szerepet játszik a DNS-ről képződő és a fehérjék szintézisét meghatározó *hírvivő RNS* (mRNS) *alternatív vágása*. Ennek eredményeként egyetlen gén többféle fehérjét is meg tud határozni. A variálható komplexitás másik aspektusa a *fehérjék doménszerkezete*. A domén olyan funkcionális egység a fehérje működésében, amely egy adott funkcióhoz kapcsolható. Egy adott domén többféle fehérjében is előfordulhat, ha ezeknek a fehérjéknek van azonos jellegű funkciójuk. Az emberi fehérjék esetében körülbelül 1800 domént tételeznek fel; ez a szám közel kétszerese annak, amennyit az alacsonyabbrendűekben találtak. A doménszerkezet a fehérjék közti kölcsönhatások alapját képezi. Az egymással kapcsolódó fehérjék pedig bonyolult és magas szervezettségű információs hálózatok szerkezeti alapját adják. Hozzájárul ehhez a gének exon/intron szerkezete is (az exon a fehérjét kódoló információ, az intron kivágódik az átírás során). A nyers szekvencia adatai alapján megállapították az emberi gének exonjainak (100–200 bázispár) és intronjainak (1000–4000 bázispár) átlagos hosszát, és azt, hogy egy emberi gén átlagosan 7–9 exonból áll. Mindezek alapján a ténylegesen fehérjében megjelenő információ a genom kevesebb mint 1%-a. A viszonylag kis számú humán gén megkönnyíti a gének funkcionális azonosítását. A cél a humán gének és fehérjék teljes körű egymáshoz rendelése. Ez az eredmény feltehetően olyan mérföldkő lesz a biológiai és orvostudományok kutatásaiban, mint amilyen óriási hatást gyakorolt a kémiai periódusos rendszer elkészítése a kémiai tudományok fejlődésére. Tudjuk majd, hogy mely szerkezeti egységekből, ill. ezek milyen kombinációjából áll a testünk. Ezek közt kell keresnünk a gyógyszerek támadáspontjait és a betegségek biológiai alapjait.

A fehérjekutatás forradalma: a proteomika

A *proteom* fogalma (protein complement to a genome) az utóbbi években vált a tudományos köztudat részévé. A proteomika a proteom, vagyis az élő szervezetben előforduló összes, szerkezetében akár a legkisebb mértékben eltérő fehérje megismerésével foglalkozó tudományterület, amely a genommal kapcsolatos kutatás mintájára, annak kiegészítőjeként jött létre, de ma már a genomikától független, önálló diszciplína.

A proteomika meg kívánja ismerni a fehérjék szerkezetét, biológiai funkcióját és ezek térbeli és időbeli változását. Nem csak úgy tekinti a fehérjét, mint izolált molekulát. Figyelembe veszi a fehérje és környezete közötti kölcsönhatást. Vizsgálódási körébe tartozik a fehérje eredetének meghatározása, rendszertani besorolása, a különböző forrásból származó, de azonos biológiai funkciót ellátó proteinek szerkezetének összehasonlítása, a fehérje jelenlétének vagy hiányának igazolása egészséges, ill. patológiás körülmények között. Célja – a korszerű kémiai analitika eszközeit felhasználva – az igen kis mennyiségben, ill. koncentrációban jelen lévő fehérjék kimutatása, azonosítása, szerkezetük meghatározása; a fehérjékkel kapcsolatos ismeretek taxonómiai, szerkezeti vagy funkcionális rendszerezése, a kísérleti adatok megerősítése (validálás), valamint az így képződő adathalmazok (adatabázisok) információtartalmának elemzése. Sokak nézete szerint ide sorolhatók a proteomika módszertanával foglalkozó témakörök is (pl. nagy érzékenységű tömegspektrometriás módszerek, fluoreszcencián alapuló mikroszkópos technikák stb.). Már most jól látszik, hogy a proteomika jelentősen segíti a korszerű gyógyszerkutatást és az orvostársadalmat a mainál hatékonyabb diagnosztikai eljárások és terápiás szerek kifejlesztésében.

Összefoglalás

Amint azt az élő szervezetek esetében láthatjuk, a fehérjék szerepe kiemelkedő, mert önszerveződő molekuláris gépezetek építhetők belőlük. Az önszerveződés alatt azt értjük, hogy az egyes fehérjealegységek képesek felismerni egymást, meghatározott módon egymáshoz kapcsolódni, és minden külső beavatkozás nélkül létrehozni az adott szupramolekuláris struktúrát. Az élő szervezetekben található molekuláris gépezetek rendkívül változatos funkciók ellátására képesek. Találhatók közöttük molekuláris vegyi üzemek, energiaátalakítók, molekuláris motorok, biológiai jelfelismerők és jelátalakítók, információfeldolgozó rendszerek, multifunkcionális gépezetek és programvezérelt összeszerelő „gépsorok”. A bemutatott példák alapján láthatjuk, hogy a 4,5 milliárd éves földi evolúció eredményeként az élő rendszerekben található fehérjék fantasztikus dolgokra, rendkívül szerteágazó feladatok ellátására képesek. A természetes fehérjék szerkezetének vizsgálata során felismert összefüggések, törvényszerűségek, szerveződési elvek sokat segítenek abban, hogy egy fehérje szerkezetében vagy tulajdonságaiban célzott módosításokat idézhessünk elő. Könyvünkben áttekintést szeretnénk adni e szerteágazó funkciókról, különösen a sejt funkciójának szabályozásában betöltött szerepükről és egyre sokasodó diagnosztikai felhasználhatóságukról.

