

SARLÓS KATA – GYIMESI MÁTÉ – KOVÁCS MIHÁLY

Anyagmozgató és információ-továbbítás a sejtben

Biológiai motorok

Az irányított és szabályozott, aktív mozgás képessége (motilitás) a legalapvetőbb életjelenségek egyike. A sejtalkotók, sejtek, testrészek, és végső soron az élő szervezetek mozgását molekuláris motorok teszik lehetővé. Ezek a motorok olyan enzimek, amelyek leggyakrabban a sejt anyagcsere-folyamataiban általános „energiaváltóként” használt adenosin-trifoszfát- (ATP-) molekulát hasznosítják üzemanyagként az irányított mozgások létrehozásához. A motorok az anyagtranszporton kívül a sejt fő információ-tároló és -továbbító molekulái, melyek a nukleinsavak (DNS, RNS) másolásában, módosításában, karbantartásában is központi szerepet játszanak. A diverzitás (sokféleség), mint az élővilág alapvető aspektusa, a motorok világában is megnyilvánul: az evolúció során a motorenzimek változatos formái alakultak ki, amelyekben az energia-átalakító működés specifikus funkciókra finomhangolódott. A motorműködés kutatása – elméleti érdekességén túl – új utakat nyit a gyógyászatban és a nanotechnológiában.

Az élő sejtek és szervezetek nagyfokú szervezethez való kialakításához és fenntartásához elengedhetetlenül szükséges a különböző alkotóelemek térben és időben összerendezett mozgása, illetve szerkezetének átalakítása. Működőképes élő sejt ezért nem képzelhető el hatékony és szabályozható motorok hiányában. Az enzimek – a sejt anyagcsere-reakcióinak specifikus katalizátorai, amelyek leggyakrabban fehérjemolekulák – működési ciklusaik során gyakran jelentős szerkezetváltozásokon esnek át. A törzsejlődés során olyan mechanizmusok alakultak ki, amelyekben a sejt bizonyos enzimek energiatermelő kémiai reakciói által hajtott szerkezetváltozási ciklusait információ, azaz rendezettség létrehozására és továbbítására, illetve mechanikai munkavégzésre hasznosítja. Az ember alkotta motorokhoz hasonlóan, melyek a fosszilis energiahordozókban rejlő energiát alakítják mozgássá, a motorenzimek is energiaátalakító berendezésként funkcionálnak: az ATP-ben tárolt kémiai energiát mechanikai munkává alakítják. A biológiai motorok azonban más mechanizmust használnak és hatékonyabban működnek, mint a legtöbb ember alkotta gép: hatásfokuk akár 80 %-os is lehet. A hatékony kemomechanikai energiaátalakítás a természet egyik leglátványosabb „mutatványa”.

A motorenzimek már az alacsonyabb rendű szervezetekben is rendkívül változatosak. Az eukarióta (valódi sejt) sejtek citoplazmájában található „sínhálózat” (sejtváz) legfontosabb alkotóelemei, a mikrotubulusok és a mikrofilamentumok, a tubulin, illetve az aktin enzimek polimerizációja során jönnek létre. A sejtváz mozgatórendszereinek (a sínhálózatnak, valamint az azon közlekedő motoroknak) döntő szerepük van a sejt alakjának kialakításában és fenntartásában, a sejt aktív mozgásában, a sejtben belüli, illetve a sejt és a külvilág közötti anyagtranszportban és a sejtosztódásban.

A sejt genetikai információ-hordozó és -továbbító molekulái, a nukleinsavak (a sejtben található DNS, illetve az ott szintetizálódó, majd jelentős részben a citoplazmába jutó RNS) is motorenzimek komplex, szabályozott működése révén fejtik ki hatásukat; a motorműködés így az élő sejt „információs technológiájának” alapjává is szolgál. Motoraktivitásuk során a DNS-polimerázok a DNS-ről DNS-másolatot, míg az RNS-polimerázok DNS-ről RNS-másolatot készítenek. A helikázok széttekerik a kettős szálú nukleinsav-struktúrákat: ez az aktivitás elengedhetet-

lenül szükséges többek között a DNS-másolás, a genetikai átrendeződések és a hibajavítás folyamataiban.

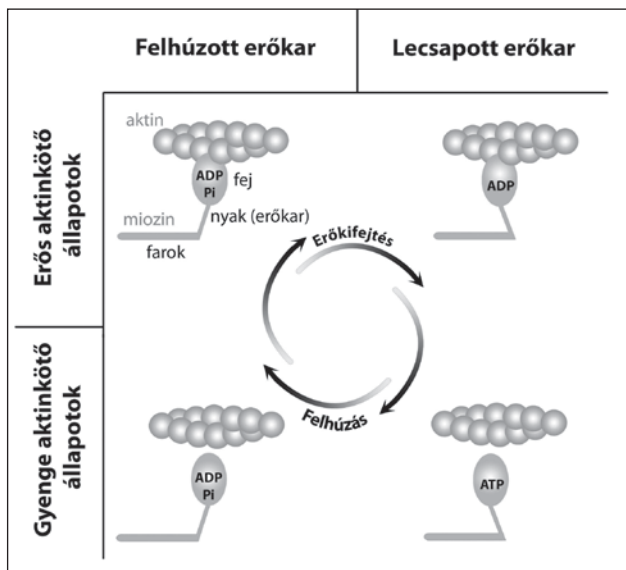
A továbbiakban két, sejtbeli elhelyezkedésében és funkciójában is jelentősen különböző rendszer (aktomiozin-rendszer, illetve DNS-helikázok) példáján keresztül mutatjuk be a motorfehérjék működésének legfontosabb jellegzetességeit, majd összefoglaljuk az ezekben fellelhető általános alapelveket. A motorműködés molekuláris szintű megértése – tudományos érdekességén túl – a motorok sejtszaporodásban és genetikai információ-feldolgozásban betöltött központi szerepe miatt a tumoros és fertőző betegségek gyógyászatában, illetve nanokapcsolókban és csipekben történő potenciális felhasználásuk révén a nanotechnológiában is kiemelkedő jelentőségű.

Az osztódástól az összehúzódságig: az aktomiozin mozgatórendszer

Az aktomiozin-rendszer a sejtváz fontos elemeként valamennyi eukarióta sejtben jelen van. A különböző miozinmotorok aktin filamentumok mentén történő mozgása a hajtóereje az izmok összehúzódsán kívül a sejtosztódás során a leánysejtek szétválásának, a differenciáció (a szöveti sejtek specializálódása) számos részfolyamatának, az anyagforgalom különböző formáinak és a magasabb rendű élőlények számos szöveti sejtjére (például immunsejtekre) is jellemző amöboid sejtmozgásnak.

A miozinmolekula szerkezetileg és funkcionálisan jól elkülönülő feji, nyaki és farki régiókból áll (1. ábra). A motorműködésben központi szerepet játszó fejből található az ATP-„üzemanyag-molekula” és az „aktin-sín” kötőhelyei, valamint az erőként funkcionáló nyak kiindulópontja. A farki régió a miozinmolekulák egymáshoz, illetve a „szállítványhoz” történő kapcsolódására szolgál.

Az energia-átalakítás a miozinfaj funkcionális egységei közötti kölcsönös kommunikáció révén jön létre (1. ábra). Az ATP- és aktinkötő helyek közötti kétirányú kapcsolat révén az ATP kötődése a miozinfaj aktinról való leválását okozza. Az ATP-molekula elhasadásához (hidrolíziséhez) kapcsolódó kis szerkezetváltozások felerősödve az erőkar „felhúzását” eredményezik, majd a fej visszaköt az aktinhoz. Az ATP hasadási termékeinek (foszfát



1. ábra. Az aktomiozin-motor működési ciklusa

(Pi) és ADP távozásához kapcsoltan megtörténik az erőkifejtés: az erőkar lecsapódik, az enzim pedig egy újabb kemomechanikai ciklus megtétele előtt áll.

A különböző miozinmotorok változatos sejtbeli funkcióinak elvégzéséhez meglehetősen különböző irányultságú és időbeosztású munkavégzésre van szükség. Az egyes miozinok ennek megfelelően az előbb vázolt általános működési ciklus különbözőképpen „finomhangolt” változatait végzik, amit e motorok biokémiai sajátosságainak változatossága tesz lehetővé.

A farki régió keresztül történő összekapcsolódás révén a különböző miozinok akár több száz fejet tartalmazó egységekbe rendeződnek (2. ábra). A magasabb rendű állatok vázizmaiban a miozin több száz molekulából álló úgynevezett vastag filamentumokba rendeződik. Ebben az egyes fejek egymástól függetlenül, különböző fázisokban végzik működési ciklusukat; az egyes fejek erőkifejtő lépései az aktin és a miozin filamentumokat egymás mellett eltolva idézik elő az izomrost rövidülését. A miozin polimerizáció fokának szempontjából másik végletet mutat a sejtstruktúrák szállítását végző miozin-5, amely kétfejű egységként „lépeget” végig az aktinsinen (2. ábra). Az izommiozintól eltérő módon a miozin-5 két feje összehangoltan, precíz fáziseltolással végzi működési ciklusát, mégpedig oly módon, hogy a kétfejű molekula legalább egyik fejével mindig kötődik az aktinhoz, és az erőkifejtő lépések során szelektív módon a hátsó feje engedi el az aktint és lendül előre. Az előbbi két miozintípushoz képest köztes helyet foglal el az úgynevezett nem-izom miozin-2, amely néhány tíz fejet tartalmazó minifilamentumokat képez (2. ábra). Ezen enzimek a gyors mozgathatóság helyett a hosszú távú erőtartásban (a sejtek és szövetek alakjának megtartásában, sejtosztódáskor a membránbefűződés irányításában) játszanak fontos szerepet.

E három miozintípus látványos példát szolgáltat arra, hogy a motorok hatékony működését a polimerizáció foka és a biokémiai hangolás (enzimatikus működés) közötti összefüggés teszi lehetővé. Az 1. ábrán látható, hogy a miozinfej működési ciklusa során aktinhoz kötött és aktinról levált állapotok váltják egymást. Fontos működési paraméter az úgynevezett terhelési arány, amely kifejezi, hogy a motor ciklusidejének mekkora hányadában tartózkodik sinhez kötött állapotokban. Könnyen belátható, hogy ha a nagy tömegben működő vázizom miozin-2 fejei a ciklus nagy részében aktinhoz kötve tartózkodnának, akadályoznák egymás erőkifejtő tevékenységét, így ennél a miozintípusnál

	Miozin-5	Nem-izom miozin-2	Vázizom miozin-2
Fejek száma egy működési egységben	2	52	>300
Terhelési arány	70 %	10-50 %	2 %
Fejek működési ciklusainak összehangoltsága	van	nincs	nincs

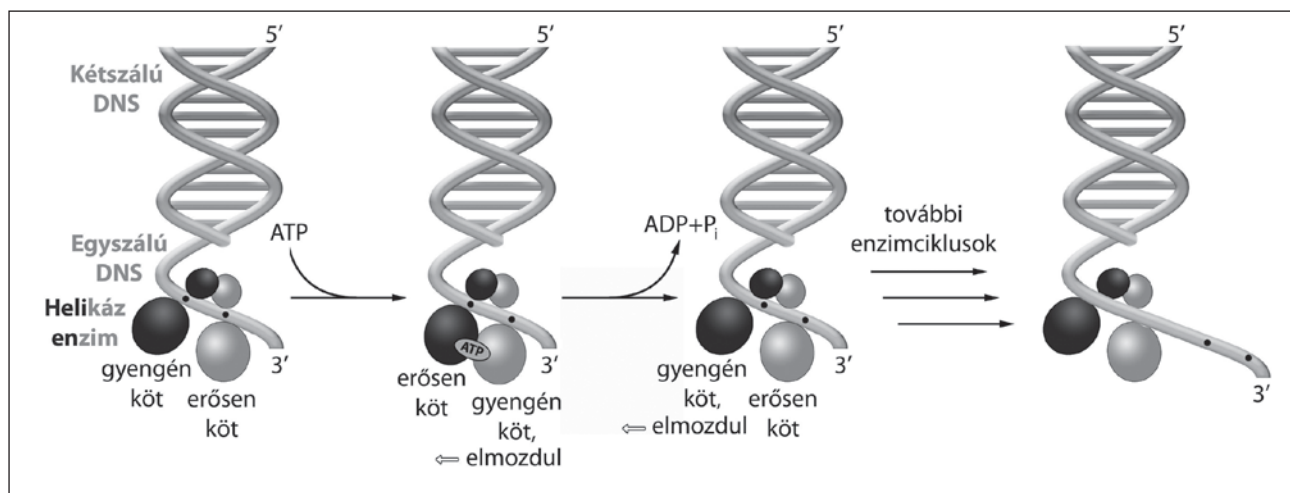
2. ábra. A miozinok szerkezeti és funkcionális sokfélesége

az aktinról levált állapotok dominálnak a ciklus során (terhelési aránya alacsony). Ezzel ellentétben, a processzív módon működő miozin-5 esetében fontos, hogy a mindössze kétfejű egységnek bármely időpillanatban legalább az egyik feje mindig kösse az aktint, különben a miozinmolekula diffúzió révén eltávozna a sinton. Emiatt a miozin-5 enzimciklusában az erős aktinkötő állapotok dominálnak (terhelési aránya magas). A nem-izom miozin-2 terhelési aránya – akárcsak polimerizációjának foka – köztes értéket képvisel az előbbi két miozintípushoz képest. Az erőtartó szerepet a nem-izom miozin-2 rendkívül lassú enzimciklusa és az aktinhoz kötött állapot hosszú életideje biztosítja: a motor így lesz képes kis mennyiségű ATP-„üzemanyag” fogyasztása mellett tartós erőkifejtésre.

Nukleinsav adathordozók szerkezet-átalakítói: DNS és RNS helikázok

Az élő sejt legfőbb információátviteli molekulája a DNS, amely lehetővé teszi a folyamatos fejlődést, az élethez szükséges és az élet során folyamatosan kifejeződő információ nemzedékről nemzedékre történő átörökítését. A DNS információi meghatározzák az anyagcsere-folyamatokat, az egyedfejlődés szakaszait; az élőlények a DNS-ben rejlő lehetőségek alapján képesek az alkalmazkodásra.

A DNS-t alkotó nukleotid egységek sorrendjében kódolt információt sokféle enzim a kettős spirál szerkezetű DNS felszínén végighúzó árkokban le tudja olvasni. Számos létfontosságú biológiai folyamatban azonban – ilyen például a DNS másolása, a gének újrakombinálódásának és a hibák kijavításának számos mechanizmusa – szükség van a két szál szétválasztására, ami lehetővé teszi az enzimek számára az információhordozó molekularészecskékhöz történő hozzáférést, illetve azok módosítását. Ezt a feladatot helikáz enzimek végzik, amelyek ATP felhasználásával egyirányúan haladnak végig a



3. ábra. DNS-helikáz (PcrA) „araszolva lépegető” mechanizmusa. ATP-mentes állapotban az enzimnek a DNS 3'-vége felé eső része (szürke) erősen, míg a másik rész (fekete) gyengén köti a DNS-t. ATP kötésekor a két rész kötése erőssége felcserélődik, és a 3' vég felőli rész elmozdul. Az ATP hidrolízise után, a termékek (ADP és P_i) felszabadulásakor a DNS-kötés erőssége ismét megváltozik; ekkor a fekete enzimerész tesz egy lépést a DNS-en (Berg, Tymoczko, Stryer: Biochemistry nyomán)

DNS egyik szálán, miközben a másik szálát elválasztják a sint képező száztól (3. ábra).

A helikázok a miozinokhoz hasonlóan rendkívül változatos fehérjecsaládot alkotnak. Egyes helikázok a DNS másolása során cipzárhoz hasonlóan haladnak a másolást végző DNS-polimeráz (szintén motor enzim) előtt, szabaddá téve a szálakat a másolat elkészítéséhez. Más helikázok a DNS-hibajavításban töltenek be fontos szerepet.

A DNS – és az általa tárolt információ – rendkívül gyakran károsodik a sejtekben: hibák keletkezhetnek a másolás során, illetve UV-sugárzás és az anyagcserében nélkülözhetetlen oxigén származékok hatására is. Ha túl sok hiba halmozódik fel egy sejt DNS-ében, az általában sejthalálhoz vezet; ha ez az automatikus rendszer valamilyen módon sérül, akkor a hibák tumorok kialakulását idézhetik elő. A hibajavítás részfolyamataiban a DNS sokféle speciális, bonyolult szerkezetet alakít ki, melyek átalakításait az egyes helikázok specifikusan végzik. Emiatt a hibajavítási folyamatokban résztvevő helikázok kulcsfontosságúak, többek között a rákkutatás szempontjából.

A lineáris kromoszómákban a DNS végei úgynevezett telomer régiókba tömörülnek. Az eukarióta élőlények testi sejtjeiben (növények esetében a vegetatív szövetekben) ez a régió rövidül minden egyes DNS-kettőződési folyamat során. A kromoszómavégek rövidülésének folyamatát az öregedéssel társítják: részben a telomerrövidülés tehető felelőssé azért, hogy a testi sejtekből klónozott élőlények eleve „öregnek” jönnék a világra. Egyes helikázok a telomer régió másolásában játszanak fontos szerepet, hibás működésük ezért felgyorsult öregedéshez vezet.

Közös alapelvek a sejtvez- és nukleinsav-motorok működésében

Számos közös elv mutatkozik az aktinsinen mozgó miozin és a DNS-sinen mozgó helikázmotorok működési mechanizmusában. Mind a miozinok, mind a helikázok lineáris (nem forgó mozgást végző) motorok, amelyek az ATP hidrolíziséből származó energiát hasznosítják a sinjük mentén történő egyirányú továbbhaladáshoz. Az ATP hidrolízis-ciklusa során az enzim ATP-t köt, úgynevezett aktív helyén szerkezeti változások jönnek létre, melyek az enzim többi részére szétterjedve és felerősödve hozzák létre az erőkifejtést. Minden ciklusban egy ATP használódik el, periodikusan ismételve az erőgenerálást, miáltal folyamatos, haladó mozgás jön létre.

A motorműködés kulcseleme a nukleotid- és sinkötőhelyek, illetve az erőtovábbító régió közötti kommunikáció, amelyet az evolúció során megőrzött közös szerkezeti elemek tesznek lehetővé. Ez a kapcsoltsági mechanizmus még más enzimek, például G-fehérjék esetén is megfigyelhető, amelyek pedig nem transzlokációs motorként, hanem jeltovábbító molekuláris kapcsolóként működnek.

A sejtvezmotor- és helikáz-mechanizmusok másik közös sajátossága, hogy a motor aktív helye és sinkötő felszíne közötti kommunikáció az enzimaktivitás felgyorsulásához vezet, mint a miozin aktinaktivált, illetve a helikázok DNS-aktivált ATP-bontó (ATPáz) aktivitása esetében. Az enzimaktiválás elősegíti, hogy a sín távollétében a motor minél kevesebb „felesleges” ATP-fogyasztó enzimeciklust végezzen, illetve a sín jelenlétében az ATP-ből származó energia hasznos munkavégzésre fordítódik.

A sejtvez- és DNS-motor enzimmechanizmusok újabb közös eleme a processzivitás, vagyis az a képesség, hogy a sínhez történő kötődés után a motor nagyszámú enzimaktivitású ciklus és azzal járó mechanikai lépés megtételére képes a sínről való leválás nélkül. A processzivitás foka (azaz a sínhez való kötődést követően a lépések várható száma) szélesen változó mind a miozinok, mind a helikázok körében.

Szintén fontos jellemzője a motormechanizmusoknak, hogy a mozgás – ahogy a sín is – meghatározott irányultságú: az egyes motorok mindig a sín egyik vége felé mozognak. (Sejtvezfilamentumok esetében „+” és „-” végeket, nukleinsavakban pedig a cukor-foszfát gerinc irányultsága alapján 5' illetve 3' végeket különböztetünk meg.) Az egyes motorformák általában szigorúan az egyik irányba mozognak a kettő közül, ugyanakkor mindkét irányultság megtalálható mind a miozinok, mind a DNS helikáz szupercsaládok körében.

Összegzésül megállapíthatjuk, hogy – jóllehet a mechanizmusokról szóló információ gyűjtése a DNS-motorok esetében korábbi stádiumban tart, mint a sejtvezmotorok esetében – az energia-átalakítási mechanizmus fő működési elvei a két motortípusban igen hasonlóak. A sejtvezmotorok kutatásában felhalmozott elméleti és gyakorlati tudás ezért igen eredményesen hasznosítható a helikáz-mechanizmusok vizsgálatában. A sejt motorjainak és jeltovábbító rendszereinek vizsgálata a modern biológia egyik központi területe, amely mind az energia-átalakítás elméletében, mind pedig a motorműködés élettani és patológiai vonatkozásaiban még számos titkot rejtget a kutatók számára. (Kutatásainkról további információk a www.mk-lab.org webhelyen olvashatók.)