

MEMBRÁNFEHÉRJÉK, RECEPTORMINTÁZATOK SZEREPE A FIZIOLÓGIÁS ÉS PATOLÓGIÁS SEJTMŰKÖDÉSBEN

Mátyus László Panyi György

az MTA doktora, tanszékvezető egyetemi tanár,
Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet Orvos- és Egészségtudományi Centrum Debreceni Egyetem
lmatyus@med.unideb.hu

az MTA doktora, tanszékvezető egyetemi tanár,
az MTA doktora, intézetvezető egyetemi tanár,
panyi@med.unideb.hu

Damjanovich Sándor Szöllösi János

az MTA rendes tagja, professor emeritus,
Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet Orvos- és Egészségtudományi Centrum Debreceni Egyetem
dami@med.unideb.hu

szollo@med.unideb.hu

Bevezetés

A különböző membránok alapszerkezetét a lipidek határozzák meg, a biológiai membránok változatos funkcióját azonban a fehérjekomponensek biztosítják. Számos fehérje vesz részt a membránon keresztül lejátszódó jelátvitelben és transzportfolyamatokban. A biológiai membránok fehérjéit csoportosítani lehet az alapján, hogy milyen kölcsönhatás tartja fenn a membrán és a fehérje közötti kapcsolatot. Az integrális vagy transzmembrán fehérjék átívelik a lipid kettősréteget, és kölcsönhatásban vannak a membrán hidrofób magjával is. A perifériális fehérjék nem lépnek kapcsolatba a lipid kettősréteg hidrofób magjával, hanem fehérjén keresztül vagy elektrostatikus kölcsönhatás révén kapcsolódnak a membránhoz. A fehérjék harmadik csoportjában lipidek kapcsolódnak kovalen-

sen közvetlenül fehérjékhez, és ezen fehérjék kihorgonyozása a membránhoz a lipidmolekulán keresztül valósul meg.

A Singer–Nicolson-membránmodell (Singer–Nicolson, 1972) kimondta a membránfehérjék véletlenszerű, folytonos eloszlását egy rendezetlen lipid környezetben, de nem vizsgálta, hogy a fent említett fehérjék vagy fehérjecsoportok (klaszterek) milyen dinamikai sajátosságokkal rendelkeznek. A Singer–Nicolson-féle folyékony mozaikmembránmodell azt hangsúlyozta, hogy a szabad diffúzió a meghatározó tényező a fehérjék laterális mobilitásában. Bár az eredeti közlemény nem hangsúlyozza, de a membránfehérjék szabad diffúziója egyértelműen része az elméletnek, hiszen a fehérjék nem véletlenszerű eloszlása korlátozott szabadságú diffúziót feltételezne. Az elmúlt három évtizedben számos kísérleti tény halmozódott fel arra

nézve, hogy gátak léteznek a membránban, és számos esetben a fehérjék szabad mozgása korlátozott. Ezek az eredmények azt sugallták, hogy a fehérjék eloszlása a sejtmembránban nem egyenletes, és a fehérjék szigetekbe, klaszterekbe szerveződnek. A membránalkotók meghatározott struktúrákba (doménekbe) történő rendeződése mai ismereteink szerint általános jelenség, amely alapvető fontosságú lehet mind az adott molekulák, mind a sejt egészének működése szempontjából.

A membránfehérjék nem véletlenszerű sejtfelszíni eloszlásának kialakításában számos tényező vehet részt. Ezek egyikét jelentik az ún. *lipidutajok*, a sejtmembrán speciális összetételű (koleszterinben és [gliko]szfingolipidekben gazdag) régiói (membrán mikrodomének) (Simons–Ikonen, 1997). A lipidutajok a fehérjék membránba illeszkedő részétől függően azok adott membránterületen történő feldúsulását, illetve külön doménekbe történő szegregációját egyaránt lehetővé teszik, elősegítve ezzel a megfelelő kölcsönhatások kialakulását. A lipidutajok összetett és dinamikus struktúrák, amelyek méretüket és összetételüket tekintve is igen változatosak lehetnek. A bennük feldúsuló fehérjék jelentős része a transzmembrán jelátvitel kulcsszereplője (receptorok, ioncsatornák, kapcsolódó jelátvivő molekulák). Komponenseik dinamikus cserélődése, valamint a kisebb méretű lipidutajok nagyobb méretű doménékké történő „összeolvadása” kitüntetett szerepet tölt be számos, a plazmamembránban lejátszódó jelátviteli folyamat tér- és időbeli szervezésében.

Damjanovich Sándor és munkatársai már 1981-ben megijóolták ezeket a nem véletlenszerű fehérjemintázatokat a transzmembrán fehérjék genetikailag meghatározott, membrán átívelő részeinek a lipid kettősréteggel való kölcsönhatása alapján (Damjanovich et

al., 1981). Hipotézisük egybecseng a lipidutaj hipotézissel, amely kimondja, hogy speciális tartalmú lipidszigetek (lipidraftok), jól meghatározott transzmembrán fehérjéket fogadhatnak be. A Debreceni Egyetem Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet munkatársai kiterjedt vizsgálatokat végeztek a sejtfelszíni fehérjék eloszlásának felderítésére. Ennek érdekében az immunológiai technikák és modern biofizikai módszerek széles tárházát alkalmazták kísérleteik során. A különböző fehérjék együttállásának meghatározására a klasszikus immunoprecipitáció mellett alkalmazták a fluoreszcencia rezonancia energia transzfer (FRET) módszert, amelynek segítségével a fehérjék dimerizációját, molekuláris asszociációját lehetett kimutatni nanométeres skálán, az 1–10 nanométeres tartományban. Konfokális lézerpasztázó mikroszkópiával (CLSM) a fehérjék együttállása (kolokalizációja), a mikroszkóp optikai feloldóképessége által meghatározott fél–egy mikrométeres szinten határozható meg. A két mérettartomány között új mikroszkópos technikákkal, mint pásztázó atomerő mikroszkópia (AFM), pásztázó közeli mező mikroszkópia (SNOM) vizsgálhatjuk a fehérjeaggregátumok, klaszterek valódi méretét. Fluoreszcencia korrelációs spektroszkópiával (FCS) egyedülálló, monomer fehérjék, illetve asszociált fehérjekomplexek dinamikai tulajdonságait lehet vizsgálni, amelyekből ismét lehet következtetni az együtt mozgó komplexek méretére. Mindezeket a kísérleti megközelítéseket az intézet munkatársai sikerrel alkalmazták sejtfelszíni fehérjék szerveződésének vizsgálatára, többek között az fő hisztokompatibilitási komplex (MHC) klaszterképző tulajdonságainak meghatározására, az emlőtumorban fontos szerepet játszó receptor tirozinkináz család (ErbB) hierarchikus szerveződésének kiderítésére és

az ioncsatornák membránban történő eloszlásának, az immunológiai szinapszisban betöltött szerepének tanulmányozására. A továbbiakban ezeket a biológiai problémákat szeretnénk tárgyalni, anélkül, hogy az információt szolgáló biofizikai módszerek részleteire kitérnénk.

Fő hisztokompatibilitási komplex (MHC) sejt felszíni eloszlása

Larry D. Frye és Michael Edidin klasszikus kísérlete bizonyította, hogy a fő hisztokompatibilitási komplex (MHC – az immunológiai védekezés egyik kulcsmolekulája) fehérjék mozognak az egér- és humán sejtek egyesítése során keletkező hibrid sejtek membránjában (Frye – Edidin, 1970). Ez a következtetés szolgált a Seymour J. Singer és Garth L. Nicolson által leírt folyékony mozaikmembrán-modell alapjául, amely hangsúlyozta a fehérjék véletlenszerű eloszlását és szabad diffúzióját. Az újabb kísérletes bizonyítékok azt sugallták, hogy a fehérjék bizonyos membránterületeken korlátozott mozgékonyssággal rendelkezhetnek. Számos fontos sejt felszíni fehérje, például a fent említett MHC két speciális fajtája, az MHC-I és MHC-II, valamint szin-

tén az immunológiai védekezésben szerepet játszó interleukin-2-receptor alegységei (IL-2R) különböző összetételű asszociációkban vesznek részt. FRET-kísérletek tanulsága szerint ezek a fehérjék 1–10 nm távolságra vannak egymástól. A fehérjék ilyen kisméretű, néhány tagból álló csoportosulásait nanoklasztereknek nevezzük. Ezen asszociációk mellett a fehérjék szerveződésének egy magasabb, második szerveződési szintje is kimutatható a konvencionális optikai mikroszkópok feloldóképességét meghaladó optikai és nem optikai mikroszkópiák, például elektronmikroszkópia, pásztázó atomerő mikroszkópia, illetve pásztázó közeli mező optikai mikroszkópia alkalmazásával. Ezek az ún. mikroklaszterek néhány száz nanométer átmérőjűek, és 10–1000 fehérje molekulát tartalmazhatnak (1. ábra).

A Singer–Nicolson-membránmodell kimondta a membránfehérjék véletlenszerű, folytonos eloszlását egy rendezetlen lipid környezetben, de nem vizsgálta, hogy a fent említett fehérjeklaszterek milyen dinamikai sajátosságokkal rendelkeznek. A Frye–Edidin-kísérlet bizonyította a plazmamembrán fehérjék újraeloszlását a mikrométeres

skálán, de nem tudott különbséget tenni az alábbi két lehetőség között: (i) a fehérjeklaszterek összetétele állandó, és a fehérjék összekeveredése az intakt mikroklaszterek mozgásának a következménye, vagy (ii) a fehérjék dinamikus disszociációs jelenségek révén a klaszterek között kicserélődnek. A második lehetőséget dinamikus összetételnek nevezzük.

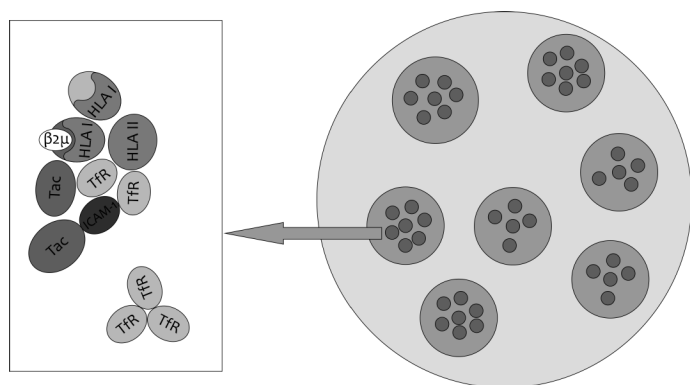
Az intézet munkatársai által végzett szisztematikus FRET-mérések azt bizonyították, hogy a rövid távú rendezettség (kisméretű fehérjeklaszterek létezése), nem szokatlan jelenség a membránfehérjék esetében. Újabb fejlettebb mikroszkópos technikákkal megerősítették ezeket a megfigyeléseket, és megállapították, hogy a rendezettség nagyobb távolságskálán is általános jelenségnek tekinthető (Vereb et al., 2003). A hagyományos fluoreszcencia mikroszkópia, melyet a Frye–Edidin-kísérletben használtak, nem képes feloldani a nano- és mikroasszociációk dinamikus változásait, azaz nem lehetséges eldönteni, hogy a nanoasszociációkban részt vevő fehérjék képesek-e kölcsönhatásaikat megszüntetni, és más összetételben újra összerendezni a plazmamembránban. Hasonlóképpen, a membránterületek összekeveredése létrejöhet a mikroklaszterek összekeveredéseként (a klaszterek összekeverednek, de a bennük levő fehérjék nem cserélődnek ki egymással), vagy másik lehetőségként a mikroklasztereken belül a jelölt fehérjék is kicserélődhetnek. A fenti kérdések megválaszolására SNOM-, konfokális és elektronmikroszkópiás kísérleteket végeztünk. Ezen technikák közül a SNOM volt megközelítésünk elsődleges eszköze. A SNOM feloldóképessége jobb, mint a konfokális mikroszkópé, és egyértelműen a felszínt vizsgáló technika, amely a sejt felszín vizsgálatát relatíve egyszerűvé teszi. Ezekkel a modern bio-

fizikai módszerekkel gyakorlatilag részletesen elemeztük a klasszikus Frye–Edidin-kísérletet.

Az MHC-I klaszterizációja igen jól karakterizált, és nagyon valószínű, hogy ennek a jelenségnek fontos szerepe van az idegen anyagok bemutatásában az immunológiai védekezés során. Eredményeink alapján az MHC-I nano- és mikro-homoasszociációi dinamikusak, azaz a klaszterek összetétele változik az után is, hogy a fehérjeszintézist követően a sejt membránjába kerülnek (Nagy et al., 2001). Az MHC-I-oligomerizáció két hierarchikus szintjének létezését Damjanovich és munkatársai már korábban kimutatták. Újabb kísérleteink azt bizonyítják, hogy ez a hierarchia a klaszterek dinamikus átrendezésében is megfigyelhető.

Az MHC-II mikrohomoklaszterei szintén dinamikusnak bizonyultak, ám a nanohomoklaszterek az MHC-II esetén statikusnak; az MHC-II-molekulák nem cserélődtek ki. Nem tudjuk az okát annak, hogy az MHC-II-molekulák miért nem cserélődnek ki a nanoklaszterekben. Vannak olyan jelek, hogy az MHC-II-molekulák párosával állnak össze, míg az MHC-I-molekulák inkább nagyobb komplexekben, amelyek öt-tíz fehérjéből állnak. Hozzá lehet még tenni, hogy a MHC-II két membránt átívelő résszel rendelkezik, míg az MHC-I-nek csak egy transzmembrán doménje van, amiből az következik, hogy az MHC-II-molekula forgásában korlátozottabb, ezáltal kisebb valószínűséggel jön létre a szomszédos molekulákkal való kapcsolódáshoz szükséges megfelelő orientáció.

A mi kísérleteink ezt a modellt a fehérjék dinamikus kicserélődésével a kis skálájú (nanométer nagyságú) és a nagy skálájú (mikrométer nagyságú) fehérjeklaszterek között



1. ábra • Az MHC-I- és MHC-II-molekulák szerveződésének két hierarchikus szintje

terjesztették ki. Hangsúlyozni kell azonban, hogy a dinamizmus nem általános jelenség a kis skálájú fehérjeasszociációk esetén. Mind a mai napig nem ismeretesek pontosan azok a tényezők, amelyek meghatározzák, hogy egy adott fehérje nanoklaszterei dinamikusak vagy statikusak-e. Modellünk két nagyon fontos tényezőre hívja fel a figyelmet: a fehérjék koncentrációjára a mikroklaszterekben és a diffúzió jelentőségére az azonos lipidkörnyezetben levő fehérjeklaszterek esetén. Nagyon valószínűtlen, hogy a fehérjék membránban történő diffúziója klaszterizáció nélkül olyan magas lokális receptorstűrűségeket hozzon létre, ami elégséges a sejt aktiválásához. Másrésztől a statikus klaszterek létezése nehezen egyeztethető össze azokkal a gyors fehérjeátrendeződésekkel, amelyeket fiziológias folyamatok során megfigyelhetünk.

Az ErbB-tirozinkinázok sejtfelszíni szerveződése és szerepük a tumoros transzformációban

A receptor tirozinkinázok ErbB családja fontos szerepet játszik a sejt differenciációs folyamatokban, az apoptózisban, valamint a fiziológias és patológias sejtosztódásban. A család négy tagból áll, ezek az epidermális növekedési faktor receptoraként (EGFR-ként) is ismert ErbB1, az ErbB2, ErbB3 és ErbB4. A specifikus ligandum bekötődésének hatására a receptorokból homo- és heterodimerek képződnek, vagy a már létező receptor-aggregációk átrendeződnek, ami a tirozin-oldallán-cok foszforilációjához, majd ezt követően a másodlagos jelpályák beindulásához vezet. A daganatok széles skálájánál megfigyelhető az ErbB-receptorok túlzott mértékű kifejeződése. A tumorok elleni első humanizált monoklonális antitest Herceptin[®], vagy más néven a trastuzumab volt, az ErbB2-receptort célzó egyfajta „okos” gyógyszer. A választék azóta

húsznál is több ErbB-ellenes antitesttel bővült, amelyek közül sok már a klinikai tesztelés stádiumában tart. A palettán ezen kívül több kismolekulájú ErbB-kináz inhibitor is szerepel. Sajnos azonban az ezen anyagok elleni rezisztencia széles körben előfordul (beleértve a trastuzumab elleni rezisztenciát is).

Munkánk során kimutattuk, hogy hasonlóan az előző alfejezetben tárgyalt MHC-molekulákhoz, az ErbB2-receptorok asszociációja szintén két szinten szerveződik. A jól ismert direkt asszociáció (azaz dimerek) mellett nagyobb méretű, csoportonként körülbelül ezer ErbB2-molekulából álló klaszterek is képződnek (Nagy et al, 2002). Ezek a klaszterek kolokalizálódnak a lipidtutajokkal, a méretük pedig a receptorstimulálás során tovább nő. Megmutattuk, hogy az ErbB2-lipidutajon belüli elhelyezkedése fontos funkciója megfelelő betöltéséhez, valamint az ErbB2 elleni antitestek hatásához is. Továbbá, egy áramlási citometriás, fluoreszcencia-polarizáción alapuló modell segítségével megállapítottuk, hogy az ErbB1- és az ErbB2-receptorok viselkedése között alapvető eltérés van: míg a hatalmas ErbB2-klaszterek az inaktív receptorok tárházaként szolgálnak, és stimuláció hatására disszociálnak, addig a jóval kisebb méretű ErbB1-homoklaszterek a ligandum bekötődését követően csatlakoznak egymáshoz, és magasabb rendű oligomereket képeznek (Szabó et al, 2010).

Az ErbB2 elleni antitestes terápia iránti rezisztenciában érintett egyéb járulékos molekulák is hangsúlyozott figyelmet kaptak kutatásainkban. A β 1-integrinek az ErbB2-receptorokkal asszociálódnak, és versengenek az ErbB-molekulákért más ErbB-molekulákkal, áthelyezve a hangsúlyt az ErbB-homoasszociációkról az integrin-ErbB-heteroasszociációkra, ezzel együtt pedig áthangolják a

sejt jelátviteli mechanizmusát a sejttúlélés irányába (Fazekas et al., 2008).

A JIMT-1 nevű, trastuzumab-rezisztens emlőrák sejtvonalban a MUC4-mucin túlermelődik, és expressziós szintje fordítottan arányos az egyes sejtek trastuzumab-kötő kapacitásával. A MUC4-termelés siRNS általi leszorítása fokozta a trastuzumab kötődését, igazolva ezzel, hogy a MUC4 valószínűleg sztérikus gátlással akadályozza a trastuzumab bekötődését. Ezen a trastuzumab-rezisztens sejtvonalon a CD44-transzmembrán fehérje is túlermelődik, sejtfelszíni kifejeződése a többi sejthez képest meglepően magas. A CD44 az extracelluláris mátrix egyik fontos komponensének, a polimer tulajdonságú hialuronsavnak a receptora. Ha a CD44-ligandum hialuronsav szintézisét 4-metilumbelliferon (4-MU) segítségével gátoljuk, a trastuzumab a sejtfelszíni ErbB2 molekulák nagyobb hányadához tud kötődni, ugyanakkor a 4-MU-kezelés hosszabb távon csökkentette a ErbB2-molekulák sejtfelszíni kifejeződését. A jelenség első része sztérikus gátlás csökkenésével magyarázható, hiszen kevesebb hialuronsav polimer hálózza be a sejtek felszínét. A jelenség második része a CD44 az ErbB2-molekulával összekapcsoló belső szabályozási rendszer jelenlétére utal (Pályi-Krek et al., 2008).

Váratlan felfedezésnek minősül, hogy az *in vitro* trastuzumab-rezisztens JIMT-1-sejtek a SCID- (súlyos kombinált immunhiányos) egerekbe való juttatáskor eliminálódtak a trastuzumab-mediált ADCC (antitestfüggő sejt-közvetített citotoxicitás) során, azonban kizárólag kisméretű tumorok, illetve vérben keringő vagy mikroáttétet képző tumorsejtek esetében. A trastuzumabnak ezt az ADCC-alapú gátló hatását szignifikánsan fokozta a 4-MU, alátámasztva azt az elképzelést, misze-

rint a masszív extracelluláris mátrixok nagyban hozzájárulhatnak a terápiás antitestek elleni rezisztencia kialakulásához. A kísérleti adatok arra utalnak, hogy a CD44-hialuronsav jelátviteli útvonal igen fontos lehet a tumorsejtek receptororientált terápiás kezeléseknél kibúvásában; valamint hasonlóan nagy jelentőséggel bírhat az ErbB-receptorokat célzó antitestek – mindezzel szemben figyelmen kívül hagyott, ám potenciálisan jelentős – ADCC-közvetített hatása, ami az extracelluláris mátrix mennyiségének, zsúfoltságának csökkentésével fokozható (Barok et al., 2007).

Az ioncsatornák sejtfelszíni szerveződése és szerepe az immunológia-szinapszis kialakításában

Az adaptív (szerzett) immunválasz a szervezetre potenciálisan veszélyt jelentő struktúrák (továbbiakban antigének) elleni specifikus védekezést, valamint a hosszú távú védelmet biztosító immunológiai memória kialakulását foglalja magában. Lebonyolításában központi szerepet játszanak a T-sejtek, amelyek – típustól függően – szabályozó, illetve végrehajtó funkciót egyaránt betölthetnek. Az antigén felismeréséhez az adott antigénre specifikus receptorral (T-sejt receptor komplex – TCR) rendelkező T-sejt és az antigénprezentáló sejt közvetlen kölcsönhatása szükséges. A folyamat során a TCR az antigénnek az MHC-fehérjékhez kapcsolódó kis részletét (peptid fragmentum) ismeri fel. A felismerési folyamat a két sejt között kialakuló kontaktrégióban (immunológiai szinapszis – IS) játszódik le, amelyben a TCR és az MHC/peptid komplex mellett számos egyéb, a hatékony antigén-felismeréshez, illetve az azt követő jelátviteli folyamatok kiváltásához szükséges fehérje feldúsulása tapasztalható. Más molekulák ugyanakkor kizáródnak az

immunológiai szinapsziszból. Az IS elemeinek jól szervezett, ugyanakkor dinamikus szerveződése alapvető szerepet játszik ezen molekulák együttműködésében.

Bár az IS végső szerkezetének kialakulása a két sejt kapcsolódását követően történik meg, az IS több elemének nem véletlenszerű sejt felszíni elrendeződése egyedülálló sejteken is kimutatható. Az MHC-I és -II korábban említett homo- és heteroklasztereit, valamint a sejtek kapcsolódását elősegítő ICAM-1-molekulákkal való kölcsönhatásukat számos sejttípus felszínén kimutatták. Logikusnak tűnik a feltételezés, hogy a fenti molekulák által kialakított asszociációs mintázatok fontos szerepet játszhatnak az antigén-prezentáció hatékonyságának szabályozásában: a klaszterek jelenléte megkönnyítheti a T-sejttel kialakított kapcsolatok létrejöttét, elősegítve ezzel a kontaktrégió kialakítását, azaz végső soron befolyásolhatja az immunválasz hatékonyságát. Ezt a hipotézist erősítik meg azok az adatok, amelyek szerint a T-sejtben kiváltott válasz függ az MHC-I-oligomerizációtól (Bodnár et al., 2003).

Az antigén-felismerés által kiváltott T-sejt-aktivációhoz nélkülözhetetlenek a membránpotenciál- (a sejtmembrán két oldala között mérhető feszültségkülönbség) és kalciumfüggő jelátviteli útvonalak. A T-sejtek ioncsatornái, így a K_v1.3 elvezetésű, feszültségkapuzott káliumcsatorna, kulcsfontosságú szerepet játszanak mind a membránpotenciál, mind pedig a kalciumfüggő jelátviteli folyamatok szabályozásában. A K_v1.3 csatornák gátlása gyengítheti a T-sejtek antigénre adott választ, vagy akár annak teljes elmaradását is eredményezheti, azaz immunszuppresszió (csökkentett immunválasz) érhető el. Ennek megfelelően a K_v1.3-csatorna fontos célpontot jelent-

het a T-sejtekhez köthető autoimmun betegségek terápiájában.

Kolloidális aranygömbbel megjelölt csatornákat tartalmazó sejtekről készült elektronmikroszkópiás felvételek analízisa során megmutattuk, hogy – hasonlóan a korábban említett fehérjékhez – a K_v1.3-csatorna eloszlása sem véletlenszerű a sejtek plazmamembránjában. CLSM és FRET méréseink feltárták, hogy a K_v1.3-csatornák a TCR integráns részét képező CD3-fehérje fizikai közelségében található T-sejteken (Panyi et al., 2003). Emellett immunológiai szinapszist kialakító T-sejteken – a T-sejt-receptorhoz hasonlóan – megfigyelhető a K_v1.3-csatorna feldúsulása a T-sejt és a célsejt közötti kontaktrégióban (Panyi et al., 2004).

A K_v1.3-csatornák aktivitásának szabályozásában fontos szerepet játszik a membrán összetétele: a membrán koleszterintartalmának csökkentése megváltoztatja a csatornák biofizikai paramétereit. Emellett számos adat utal arra, hogy a K_v1.3-csatornák lipidtutajokban helyezkednek el, ezeket saját eredményeink is megerősítették (Panyi et al., 2003). A csatornákat tartalmazó kisméretű tutajok nagyobb méretű, ceramidokban gazdag membrándoménokba történő dinamikus átrendeződése figyelhető meg T-sejtek apoptózisa során. Mindezek alapján feltételezhető, hogy a K_v1.3-csatornák immunológiai szinapsziszba történő átrendeződése szintén a lipidtutajok közreműködésével történik.

A K_v1.3-csatornák immunológiai szinapsziszba történő átrendeződése felveti az IS funkciójának és a csatornák aktivitásának kölcsönös szabályozási lehetőségét (Panyi et al., 2004). A csatornák IS-ba történő akkumulációja során jelentősen megváltoznak a K_v1.3 működését jellemző kinetikai paraméterek, amelyet az átrendeződés következmé-

nyeként a K_v1.3-csatornák közelségébe kerülő szabályozó fehérjék okozhatnak. A K_v1.3-csatornák aktivitásának változása a membránpotenciál és a káliumfluxus szabályozásán keresztül módosíthatja az IS fehérjéinek térbeli elrendeződését, így működését. Kimutatták, hogy bizonyos autoimmun betegségekben megváltozik a K_v1.3 immunológiai szinapsziszba való átrendeződésének dinamikája.

Zárszó

A fenti három rendszer bemutatásával illusztrálni szerettük volna a sejt felszínén található

mintázatok fiziológiai és patológiai jelentőségét. Számos részlet még feltárára vár, de meggyőződésünk, hogy a molekuláris kölcsönhatások részleteinek megismerése hamarosan segítséget nyújt hatékony biológiai terápiák tervezésében, és a kissé távolabbi jövőben pedig akár a személyre szabott orvoslásban is.

Kulcsszavak: *receptormintázat, nanoklaszter, mikroklaszter, fő hisztokompatibilitási komplex, receptor tirozinkinázok, ioncsatorna, immunológiai szinapszisz*

IRODALOM

- Barok Márk – Isola, J. – Pályi-Krek Z. et al. (2007): Trastuzumab Causes Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity-Mediated Growth Inhibition of Submacroscopic JIMT-1 Breast Cancer Xenografts Despite Intrinsic Drug Resistance. *Molecular Cancer Therapy*. 6, 7, 2065–2072. DOI:10.1158/1535-7163.MCT-06-0766 • <http://mct.aacrjournals.org/content/6/7/2065.full.pdf>
- Bodnár Andrea – Bacsó Z. – Jenei A. et al. (2003): Class I HLA Oligomerization at the Surface of B Cells Is Controlled by Exogenous Beta(2)-Microglobulin: Implications in Activation of Cytotoxic T Lymphocytes. *International Immunology*. 15, 3, 331–339. DOI: 10.1093/intimm/dxgo42 • <http://intimm.oxfordjournals.org/content/15/3/331.full>
- Damjanovich Sándor – Somogyi B. – Trón L. (1981): Macromolecular Dynamics and Information Transfer. *Advances in Physiological Sciences*. 30, 7.
- Fazekas Zsolt – Petrás M. – Fábrián Á. et al. (2008): Two-Sided Fluorescence Resonance Energy Transfer for Assessing Molecular Interactions of up to Three Distinct Species in Confocal Microscopy. *Cytometry A*. 73, 3, 209–219. DOI:10.1002/cyto.a.20489 • <http://onlinelibrary.wiley.com/DOI/10.1002/cyto.a.20489/pdf>
- Frye, Larry D. – Edidin, Michael (1970): The Rapid Intermixing of Cell Surface Antigens after Formation of Mouse-Human Heterokaryons. *Journal of Cell Science*. 7, 2, 319–335. • <http://jcs.biologists.org/content/7/2/319.full.pdf>

- Nagy Péter – Mátyus L. – Jenei A. et al. (2001): Cell Fusion Experiments Reveal Distinctly Different Association Characteristics of Cell-Surface Receptors. *Journal of Cell Science*. 114, Pt 22, 4063–4071. • <http://jcs.biologists.org/content/114/22/4063.long>
- Nagy Péter – Vereb G. – Sebestyén Z. et al. (2002): Lipid Rafts and The Local Density of ErbB Proteins Influence The Biological Role of Homo- and Heteroassociations of ErbB2. *Journal of Cell Science*. 115, 22, 4251–4262. DOI: 10.1242/jcs.00118 • <http://jcs.biologists.org/content/115/22/4251.long>
- Pályi-Krek Zsuzsanna – Barok M. – Kovács T. et al. (2008): EGFR and ErbB2 Are Functionally Coupled to CD44 and Regulate Shedding, Internalization and Motogenic Effect of CD44. *Cancer Letters*. 263, 2, 231–242. DOI:10.1016/j.canlet.2008.01.014
- Panyi György – Bagdány M. – Bodnár A. et al. (2003): Colocalization and Nonrandom Distribution of K_v1.3 Potassium Channels and CD3 Molecules in The Plasma Membrane of Human T Lymphocytes. *Proceedings of The National Academy of Sciences USA*. 100, 5, 2592–2597. DOI:10.1073/pnas.0438057100 • <http://www.pnas.org/content/100/5/2592.long>
- Panyi György – Vámosi G. – Bacsó Z. et al. (2004): K_v1.3 Potassium Channels Are Localized in the Immunological Synapse Formed between Cytotoxic and Target Cells. *Proceedings of The National Academy of Sciences USA*. 101, 5, 1285–1290. DOI:10.1073/pnas.0307421100 • <http://www.pnas.org/content/101/5/1285.full>

Simons, Kai – Ikonen, Elina (1997): Functional Rafts in Cell Membranes. *Nature*. 387, 6633, 569–572. DOI:10.1038/42408

Singer, Seymour J. – Nicolson, Garth L. (1972): The Fluid Mosaic Model of The Structure of Cell Membranes. *Science*. 175, 4023, 720–731. DOI:10.1126/science.175.4023.720 • <http://web.as.uky.edu/Biology/faculty/cooper/bio350/Bio350%20Labs/WK1-Circuit%20board%20Lab/lipids.pdf>

Szabó Ágnes – Szöllősi J. – Nagy P. (2010): Coclustering of ErbB1 and ErbB2 Revealed by FRET-Sensi-

tized Acceptor Bleaching. *Biophysical Journal*. 99, 1, 105–114. DOI: 10.1016/j.bpj.2010.03.061 • http://ac.els-cdn.com/S0006349510004285/1-s2.0-S0006349510004285-main.pdf?_tid=e9bf0114e30bbf81754885f250d61aa7&acdnat=1344086406_7397d75aa1351558831938fdffb28887

Vereb György – Szöllősi J. – Matkó J. et al. (2003): Dynamic, Yet Structured: The Cell Membrane Three Decades after the Singer-Nicolson Model. *Proceedings of The National Academy of Sciences USA*. 100, 14, 8053–8058. DOI:10.1073/pnas.1332550100 • <http://www.pnas.org/content/100/14/8053.long>



EGYMOLEKULA BIOFIZIKA

Kellermayer Miklós

az MTA doktora, egyetemi tanár,
Semmelweis Egyetem Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet
kellermayer.miklos@med.semmelweis-univ.hu

„Hiszem, ha látom”, tartja a hétköznapi logika. Valóban, a látható érvek mintha mindenél meggyőzőbbek volnának. Nincs ez máshogy a természettudományokban sem. Egyedi molekulák közvetlen megfigyelése, továbbá manipulálása és mozgása tudományos elméletek egyértelmű bizonyítékául szolgál, de egyúttal olyan jelenségek és folyamatok felfedezését is lehetővé teszi, amelyek a molekulásokaságban rejtve maradnak. A hagyományosan alkalmazott biokémiai és szerkezeti eljárásokban ugyanis molekulásokaságot vizsgálunk, melyek a vizsgált tulajdonság vagy kísérleti paraméter átlagértékéről adnak információt. Ezzel szemben egyedi molekulák vizsgálata lehetőséget ad a vizsgált paraméter molekulák szerinti eloszlásának megismerésére. A módszerrel eddig soha nem tapasztalt bepillantást nyerhetünk a biomolekuláris szerkezet és működés különböző aspektusaiba, és bizonyos tulajdonságok, például a mechanikai jellemzők, csupán ilyen módszerekkel vizsgálhatók. Az utóbbi két évtizedben egyrészt a technikai fejlődésnek, másrészt izgalmas, újonnan felmerülő és különösen biológiai jellegű problémáknak köszönhetően az egyedi molekulakutatás fejlődése nagy sebességgel történt. Egy új diszciplína jött létre, amely *egymolekula biofizikaként* vált ismertté. Az alábbi összefoglalóban első-

sorban saját eredményeken keresztül mutatjuk be az egymolekula biofizikát, ezen belül is koncentrálván az egymolekula mechanikára.

Az egymolekula biofizika rövid története

A molekulák megragadása és egyenként történő manipulálása alig egy emberöltővel ezelőtt még szinte a tudományos fantasztikum világába tartozó, hihetetlennek tűnő álom volt. Bár egyedi DNS- és fehérjemolekulákról már az 1960-as években is készültek képek elektronmikroszkóp segítségével, ezekben az esetekben a molekulák vizualizálása kémiai fixálás, dehidráció, és festés vagy más kontrasztnövelő eljárás után történt. Ezzel szemben az egymolekula biofizikai módszerekben a molekulákat vizes közegben, lehetőség szerint a fiziológias viszonyoknak leginkább megfelelő körülmények között vizsgáljuk. Néhány mérföldkő az egymolekula biofizika történetéből (Kellermayer, 2005): 1976-ban egyetlen antitest-molekuláról készítettek fluoreszcencia mikroszkópos felvételt; 1986-ban egyedi, fluoreszcensen jelölt aktin filamentumok motilitását követték miozinnal borított felületen; 1991-ben sikerült megmérni egyetlen miozinmolekula mechanikai lépését, majd 1994-ben egyetlen kinezinmolekuláét; 1996-ban a DNS rugalmasságát írták le egyedi molekulák manipulációja alapján; 1997-